

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:**  
**GASTROENTEROLOGIA**

**EFEITO DA ERRADICAÇÃO DO *Helicobacter pylori***  
**NAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DA VITAMINA B<sub>12</sub>**  
**E DA HOMOCISTEÍNA EM IDOSOS**

**MARÍLIA CAMPOS ABREU MARINO**



**BELO HORIZONTE**  
**2004**

**MARÍLIA CAMPOS ABREU MARINO**

**EFEITO DA ERRADICAÇÃO DO *Helicobacter pylori*  
NAS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DA VITAMINA B<sub>12</sub>  
E DA HOMOCISTEÍNA EM IDOSOS**

Tese apresentada ao programa de Pós Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Medicina, área de concentração em Gastroenterologia.

Orientador: Prof. Celso Affonso de Oliveira.

Co-orientadores: Prof. Almir de Souza Martins e Profa. Nelma Cristina Diogo Clementino.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE MEDICINA - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MEDICINA  
BELO HORIZONTE  
2004**

Marino, Marília Campos Abreu

M339e Efeito da erradicação do *Helicobacter pylori* nas concentrações sanguíneas da vitamina B<sub>12</sub> e da homocisteína em idosos/ Marília Campos Abreu Marino. Belo Horizonte, 2004.

302p. ilus.

Tese.(Doutorado).Gastroenterologia.Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais.

1.Infecções por helicobacter/terapia 2.Infecções por helicobacter/ complicações 3.Deficiência de vitamina B<sub>12</sub>/ complicações 4..Gastrite/complicações 5.Homocisteína 6.*Helicobacter pylori*/patogenicidade 7.Resultado de tratamento 8.Idoso 9.Terapêutica/ tendências I.Título

NLM: WI 300

CDU: 616.33

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA:**  
**GASTROENTEROLOGIA**

REITORA

Prof<sup>a</sup>. Ana Lúcia Gazolla

VICE-REITOR

Prof. Marcos Borato Viana

PRÓ-REITOR

Prof. Jaime Arturo Ramires

COORDENADOR DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA FACULDADE DE MEDICINA

Prof. Francisco José Penna

COORDENADOR DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO - ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM  
GASTROENTEROLOGIA

Prof. Marco Túlio da Costa Diniz

DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

Prof. Dirceu Bartholomeu Greco

MEMBROS DO COLEGIADO

Prof<sup>a</sup>. Andréia Maria Camargo Rocha

Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Prof<sup>a</sup>. Luciana Dias Moretzsohn

Prof<sup>a</sup>. Tereza Cristina Abreu Ferrari

REPRESENTANTE DISCENTE

Ivan René Viana Omonte

## DEDICATÓRIAS

*Ao professor Celso Affonso de Oliveira*

que, "a tudo que é transitório soubeste  
dar... a densidade do eterno"

Soneto em louvor de Augusto Frederico Schmidt

Manuel Bandeira

...

olha, repara, ausculta: essa riqueza  
sobrante a toda pérola, essa ciência  
sublime e formidável, mas hermética

essa total explicação da vida,  
esse nexo primeiro e singular  
que nem concebes mais, pois tão esquivo

se revelou ante a pesquisa ardente  
em que te consumiste...

A máquina do mundo  
Carlos Drummond de Andrade

*Ao Enio,*

*que, com despreendimento e generosidade, acreditou neste trabalho*

Quantos caminhos não fizemos juntos

.....

Mas este encontro súbito, entre muitos

Não foi ele o mais belo e verdadeiro?

Soneto a Pablo Neruda

Vinicius de Moraes

*À Dulciene e Andreia*

*que, dentre as colegas, tornaram-se amigas*

*Ao meu marido Roberto,*

*Aos meus filhos Roberto e Bárbara,*

O que eu adoro em ti  
.....  
não é tua inteligência.  
.....  
não é o teu espírito sutil.  
.....  
não é a tua graça musical  
.....  
nem é a tua ciência  
.....  
o que eu adoro em ti, é a Vida...

Madrigal Melancólico  
Manuel Bandeira

*À minha mãe, Clélia Campos Abreu*

"mãe não tem limite  
 é tempo sem hora,  
 luz que não apaga  
 quando sopra o vento  
 e chuva desaba,  
 veludo escondido  
 na pele enrugada..."

Para sempre

Carlos Drummond de Andrade

À memória do meu pai, Geraldo de Paiva Abreu,  
 do meu irmão, Geraldo Ronald Campos e Abreu  
 e da tia Niça, Eunice Adjuncto Campos

"Você não morreu: ausentou-se..

.....

Para outra vida? A vida é uma só.

A sua vida continua

Na vida que você viveu."

A Mário de Andrade Ausente

Manuel Bandeira

## AGRADECIMENTOS

“Para isso fomos feitos:  
para lembrar e ser lembrados

.....

Por isso temos braços longos para os adeuses  
Mãos para colher o que foi dado

.....

Não há muito que dizer

.....

mas que esta hora não esqueça  
e por ela os nossos corações  
se deixem, graves e simples”

Poema de Natal  
Vinícius de Moraes

Nenhum de nós pode fazer as coisas mais importantes sozinho. Parceria e colaboração são os caminhos para enfrentar todos os desafios. O presente trabalho, devo-o em grande parte à colaboração direta ou indireta de inúmeras pessoas.

Agradeço, especialmente:

pela orientação, estímulo, carinho, espírito de pesquisa e exemplo de amor à profissão, ao professor CELSO AFFONSO DE OLIVEIRA;

pelo presente da sua amizade, acrescida de incentivo e entusiasmo na orientação e execução deste trabalho, aos professores ALMIR DE SOUSA MARTINS e NELMA CRISTINA DIOGO CLEMENTINO;

pelo acolhimento, amizade, sugestões e críticas extremamente valiosas, sempre acompanhada de palavras e ações de estímulo e apoio, fundamentais para o

desenvolvimento e término deste trabalho, às professoras DULCIENE MARIA DE MAGALHÃES QUEIROZ e ANDREIA MARIA CAMARGOS ROCHA;

pela obtenção do auxílio financeiro junto à FAPEMIG para a realização deste trabalho, acrescida de amizade e estímulo, ao professor ÊNIO ROBERTO PIETRA PEDROSO;

pela colaboração direta e indireta, traduzida em amizade, sugestões, estímulo e cooperação, principalmente nas minhas atividades didáticas e, portanto, essenciais para o desenvolvimento e conclusão deste projeto, aos professores ANIELO GRECO RODRIGUES DOS SANTOS e EDGAR NUNES DE MORAES;

pelo encaminhamento de pacientes elegíveis para a realização deste trabalho, aos colegas ADRIANA LETÍCIA ANDRADE SILVA, ADRIANA KAKEHASI, ANA LÚCIA CÂNDIDO, ANIELO GRECO RODRIGUES DOS SANTOS, ANNELISE IMPELLIZIERI NOGUEIRA, CARLOS JOSÉ ARANTES JUNQUEIRA, DANIEL FREITAS, DÉBORA CERQUEIRA, EDGAR NUNES DE MORAES, FERNANDO BOTTONI, FLÁVIA PATRÍCIA SENA TEIXEIRA SANTOS, GELSON RUBEM ALVES ALMEIDA, MARIA DE FÁTIMA SANDER HAUEISEIN DINIZ, MARIA MÔNICA FREITAS RIBEIRO, MARCELLE CARNEIRO, MARCO POLO DIAS FREITAS, MARGARIDA MARIA SMITH MAIA, MARLISE VIDON ALVARENGA, MAURA APARECIDA MEIRA MAIA, NELMA CRISTINA DIOGO CLEMENTINO, ROSÁLIA MORAES TORRES, RENATO ALMEIDA MAGALHÃES, ROGÉRIO GERSPARCHER, RODRIGO RIBEIRO SANTOS, VALÉRIA MARIA PASSOS e, aos demais médicos-residentes e especialistas do Serviço de Geriatria do Hospital das Clínicas da UFMG;

pela realização dos exames histopatológicos essenciais para o desenvolvimento deste estudo, às professoras MARIA MÔNICA DEMAS ALVARES CABRAL e ANA MARGARIDA MIGUEL NOGUEIRA;

pela amizade, boa vontade e disponibilidade e, também, pela realização das fotografias das lâminas que ilustraram este trabalho, à professora MARIA MÔNICA DEMAS ALVARES CABRAL;

pela realização dos exames neurológicos necessários neste estudo, cuja participação foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho, ao amigo DR. ROGÉRIO LOPES BEATO;

pela realização dos exames neuropsicológicos dos pacientes selecionados, sempre acompanhada de palavras de estímulo e apoio, à professora e amiga CLIMENE MENDONÇA;

pela realização dos exames laboratoriais específicos para *H. pylori*, sempre acompanhada de boa vontade, amizade e receptividade, aos profissionais do Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina/ UFMG, especialmente ao Prof. GIFONE AGUIAR ROCHA;

pelo apoio na preparação e colheita do material, fundamentais para a execução deste trabalho, acrescida de amizade durante todo o período de execução deste projeto, à mestranda HELEN LIMA DELPUERTO e acadêmica LUARA ISABEL SANTOS;

pela colaboração direta e indireta neste trabalho, à equipe do Laboratório de Biofísica do ICB e ao professor JORGE LUIS PESQUERO;

pela realização das dosagens da homocisteína, cuja participação foi decisiva para o desenvolvimento deste projeto, sempre acompanhada de boa-vontade e disponibilidade, à professora VÂNIA D'ALMEIDA, LUCIANO GALDIERI, FERNANDA GONÇALVES DE SOUZA e demais membros do Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Escola Paulista de Medicina;

pela boa-vontade e prorrogação do auxílio financeiro da FAPEMIG, que permitiu a conclusão deste trabalho com êxito, ao professor NAFTALE KATZ, diretor científico da FAPEMIG;

pela compreensão dos motivos e, conseqüente prorrogação do prazo de entrega deste projeto, essencial para a análise dos dados e conclusão deste estudo, ao professor MARCO TÚLIO COSTA DINIZ, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia e demais membros do Colegiado do Curso;

pelo auxílio na colheita de dados e ajuda durante toda a execução deste trabalho, aos acadêmicos LEONARDO ANTUNES, RICARDO OLIVEIRA e JANIZE LEITE;

pelo inestimável apoio, disponibilidade e carinho, cuja participação foi fundamental para a realização deste estudo, às sras. NEUZA BEATO ALMEIDA NUNES, MEYRE DE SOUZA, LUÍZA SILVA e ADRIANA SILVA;

pela amizade, confidências, incentivo e sugestões valiosas durante todo o período deste estudo, às professoras ROSÁLIA MORAES TORRES e VALÉRIA MARIA PASSOS;

pela ajuda na seleção de pacientes elegíveis ao estudo, com disponibilidade e boa vontade sempre presente, às amigas MARLISE VIDON ALVARENGA, MAURA APARECIDA MEIRA MAIA, ADRIANA LETÍCIA ANDRADE SILVA e CLÁUDIA PACHECO CACIQUINHO VIEIRA;

pela realização de exames laboratoriais especiais à Dra. REGINA PARDINI e sra. PATRÍCIA JUNQUEIRA;

pela boa vontade e colaboração na execução de exames especiais, à amiga DRA. VANNY FERRAZ e membros do Laboratório de Espectometria e Cromatografia Líquida e Gasosa do Departamento de Química do ICEX/ UFMG;

pela compreensão e apoio durante as diferentes fases deste trabalho aos professores WALTER DOS REIS CAIXETA BRAGA e DIRCEU BARTOLOMEU GRECO, chefes do departamento de Clínica Médica;

pela realização da colheita dos exames laboratoriais, necessários para o desenvolvimento deste trabalho, à sra. MARIA PEDRELINA APARECIDA DE OLIVEIRA e funcionários do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG;

pela gentileza do empréstimo de suas teses que contribuíram para este estudo, às professoras ANDRÉIA MARIA CAMARGOS ROCHA, LUCIANA DINIZ SILVA URSINO, MARIA DE FÁTIMA HAUEISEN SANDER DINIZ, NELMA CRISTINA DIOGO CLEMENTINO e ROSÁLIA MORAES TORRES;

pela amizade e disponibilidade, sempre presente, aos professores JOANA DARC BERNARDES SILVA, MARGARIDA SMITH MAIA, MARIA MÔNICA FREITAS RIBEIRO, LEONARDO MAURÍCIO DINIZ, ANNELISE IMPELLIZIERE NOGUEIRA, CAIO MOREIRA e CRISTINA LANNA;

pela boa vontade e ajuda de grande valia na realização de gráficos estatísticos necessários ao trabalho, ao professor ADRIANO SÉRGIO DA GAMA CERQUEIRA;

pela acolhida e amizade, aos professores ANILTON CÉSAR VASCONCELOS, LUCIANA MORO e PEDRO ALVES CAMPOS;

pela amizade e ajuda na seleção das referências bibliográficas, às bibliotecárias da FM-UFMG, MARÍLIA DE FÁTIMA BITENCOURT CARVALHO, VERA LÚCIA QUARESMA CHAVES, MARIA DE FÁTIMA PEREIRA GOULART e NANCY BALDELLI;

pela amizade e disponibilidade, sempre presente, à sra. CLÁUDIA GALINKEN;

pelo competente trabalho de apresentação e envolvimento com este trabalho, ao sr. MARCOS BISPO;

pelo apoio e presença constante nos momentos mais difíceis, acompanhadas de compreensão, estímulo e carinho, à minha família, especialmente à minha irmã MARIA EUGÊNIA;

pela compreensão nas ausências necessárias à realização deste trabalho e apoio constante durante toda sua execução, ao meu marido ROBERTO;

pela participação neste estudo AOS 108 PACIENTES e dentre esses, os 62 acompanhados durante seis meses, e que o tratamento tenha contribuído para a melhora da qualidade de suas vidas;

Obrigada.

*“Valeu a pena? Tudo vale a pena  
Se a alma não é pequena.  
Quem quer passar além do Bojador  
Tem que passar além da dor.  
Deus ao mar o perigo deu,  
Mas nele é que espelhou o céu”.*

*Mar Português  
Fernando Pessoa*

**EPÍGRAFE**

Verdade

A porta da verdade estava aberta,  
mas só deixava passar  
meia pessoa de cada vez.

Assim não era possível atingir toda a verdade,  
porque a meia pessoa que entrava  
só trazia o perfil de meia verdade.  
E sua segunda metade  
voltava igualmente com meio perfil.  
E os meios perfis não coincidiam.

Arrebentaram a porta. Derrubaram a porta.  
Chegaram ao lugar luminoso  
onde a verdade esplendia seus fogos.  
Era dividida em metades  
diferentes uma da outra.

Chegou-se a discutir qual a metade mais bela.  
Nenhuma das duas era totalmente bela.  
E carecia optar. Cada um optou conforme  
seu capricho, sua ilusão, sua miopia.

Carlos Drummond de Andrade

**LISTA DE ABREVIATURAS**

5-MeTHF / 5-MTHF	metiltetraidrofolato
ADA	<i>American Diabetes Association</i>
AdoCbl- 5	deoxiadenosilcobalamina
anti-IgG	anti-imunoglobulina G
apo-TC	apo-transcobalamina
AVC	acidente vascular periférico
BHM/ BHMT	betaina-homocisteína-metiltransferase
<i>bid</i>	<i>bis in die</i>
Bzm-5,6	dimetilbenzimidazole
<i>CagA</i>	<i>cytotoxin associated gene A</i>
CagA	proteína CagA
Cbl	cobalamina
CBS	cistationina- $\beta$ -sintase
CN	ciano
Complexo B <sub>12</sub> -FI	complexo vitamina B <sub>12</sub> -fator intrínseco
CTT	cistationina
CYS	cisteína
DAC	doença arterial coronariana
DOB	<i>delta over baseline</i>
DP	desvio padrão
DAOP	doença arterial obstrutiva periférica
EDTA	<i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
F	sexo feminino
FI	fator intrínseco
g	grama

g/dl	grama por decilitro
g/ml	grama por mililitro
GNMT	glicina-N-metiltransferase
H <sup>+</sup> / K <sup>+</sup> -ATPase	hidrogênio/potássio-adenosiltrifosfatase
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HoloTC	holotranscobalamina
HPLC	<i>high performance liquid cromotography</i>
IceA	gene induced by contact with epithelium
IC	Intervalo de confiança
ICEX	Instituto de Ciências Exatas
IgG anti- <i>H. pylori</i>	imunoglobulina G anti- <i>H. pylori</i>
IgG	imunoglobulina G
IL-1 $\alpha$	interleucina –1 alfa
IL-1 $\beta$	interleucina –1 beta
IL-8	interleucina 8
IMC	índice massa corpórea
kDa	quiloDalton
kg	quilograma
M	sexo masculino
m <sup>2</sup>	metro ao quadrado
Mcmol	micromol
Me	metil
MeCbl	metilcobalamina
mg	miligrama
mg/dl	miligrama por decilitro
MI	média de idade
<i>mid</i>	<i>mono in die</i>
ml	mililitro
ml/min	mililitro por minuto

mm	milímetro
Mmol	micromol
MTHFR- 5	metiltetraidrofolato-redutase
N, n	número de pacientes
ng/ml	nanograma por mililitro
nm	nanômetro
°C	grau Celsius
OH	hidroxi
ONU	Organização das Nações Unidas
Pac	paciente
PG I	pepsinogênio I
PG II	pepsinogênio II
pg/ml	picogramas por mililitro
pH	potencial hidrogênio
$^{125}\text{I}$	<i>radioactive iodine 125</i>
r	correlação de Pearson
R-ligadoras	<i>rapid</i> -ligadoras
RNA	ácido ribonucléico
S	sim
SAH	S-adenosilhomocisteína
SAM	S-adenosilmetionina
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
t	teste t <i>Student</i>
TCI	transcobalamina I
TCII	transcobalamina II
TCIII	transcobalamina III
THF	tetraidrofolato
<i>tid</i>	<i>ter in die</i>
TM	tratamento medicamentoso

TSH	<i>thyroid stimulating hormone</i>
U/ml	Unidade por mililitro
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCM	volume corpuscular médio
WHO	<i>World Health Organization</i>
μ	micro
μg/ml	micrograma por mililitro
μmol	micromol
μIU	<i>micro international unit</i>
μmol/l	micromol por litro

## LISTA DE NOTAÇÕES

‰	porcento por mil
%V	porcentagem válida
+	mais, positivo
-	menos, negativo
±	mais ou menos
≅	aproximadamente
α	alfa
β	beta
χ <sup>2</sup>	teste do Qui quadrado
<sup>13</sup> C	carbono treze
<sup>14</sup> C	carbono quatorze
I	um
II	dois
III	três
↑	aumentado
↓	reduzido
↓↓	muito reduzido

## LISTA DE FIGURAS E QUADROS

Figura 2.1: Estrutura química da vitamina B <sub>12</sub> .....	9
Figura 2.2: Aspectos fisiológicos e principais afecções associadas à deficiência da vitamina B <sub>12</sub> (moficada de ANDRÈS <i>et al.</i> , 2004) .....	22
Figura 2.3: Metabolismo da homocisteína e vitamina B <sub>12</sub> – metilcobalamina (modificado de MAYER <i>et al.</i> , 1996) .....	29
Figura 2.4: Metabolismo da adenosilcobalamina e ácido metilmalônico (modificado de KAPADIA , 1995) .....	38
Figura 2.5: Microfotografia eletrônica do <i>H. pylori</i> na superfície da célula gástrica (LOGAN & WALKER, 2001) .....	53
Figura 5.1: Fluxograma: Processo de seleção dos pacientes e composição do Grupo Total .....	93
Gráfico 5.8: Correlação entre concentração de pepsinogênio II e relação pepsinogênio I (PG I) e pepsinogênio II (PG II) .....	104
Figura 5.2: Análise histopatológica. ....	107
Figura 9.1: Resultados de exames endoscópicos. ....	232
Quadro 9.1: Quadro de resultados inividuais de 7 pacientes estudados. ....	241

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1: Correlação entre idade dos pacientes e creatinina sérica. ....	97
Gráfico 5.2: Correlação entre idade dos pacientes e <i>clearance</i> de creatinina. ....	97
Gráfico 5.3: Presença de amostras CagA positivas e negativas nos pacientes estudados.....	98
Gráfico 5.4: Correlação entre os valores do VCM e a concentração sérica da vitamina B <sub>12</sub> .....	99
Gráfico 5.5: Correlação entre a concentração plasmática da homocisteína e o VCM.....	101
Gráfico 5.6: Correlação entre a concentração plasmática da homocisteína e concentração sérica do pepsinogênio I.....	101
Gráfico 5.7: Correlação entre a concentração sérica do pepsinogênio II e concentração sérica do pepsinogênio I.....	103
Gráfico 5.9: Correlação entre o grau de inflamação do antro e concentração sérica de pepsinogênio II.....	109
Gráfico 5.10: Correlação entre o grau de inflamação do antro e a relação pepsinogênio I (PG I) e pepsinogênio II (PG II).....	109
Gráfico 5.11: Correlação entre o grau de atividade do antro e a concentração sérica do pepsinogênio I.....	110

Gráfico 5.12: Correlação entre o grau de atividade do antro e a concentração sérica do pepsinogênio II.....	111
Gráfico 5.13: Correlação entre o grau de inflamação do corpo gástrico e a concentração sérica do pepsinogênio II.....	112
Gráfico 5.14: Correlação entre o grau de inflamação do corpo gástrico e a relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II. ....	113
Gráfico 5.15- Correlação entre o grau de atividade do corpo gástrico e a concentração sérica de pepsinogênio II.....	114
Gráfico 5.16: Correlação entre o grau de atividade do corpo gástrico e a relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II (PGI/ PGII) .....	114
Gráfico 5.17: Resultados individuais da concentração sérica da vitamina B <sub>12</sub> antes e depois do tratamento (três e seis meses).....	119
Gráfico 5.18: Comparação entre as concentrações da vitamina B <sub>12</sub> antes e depois do tratamento (três e seis meses). ....	120
Gráfico 5.19: Resultados individuais da concentração plasmática da homocisteína antes e depois do tratamento (três e seis meses). ....	121
Gráfico 5.20: Comparação entre as concentrações da homocisteína antes e depois do tratamento (três e seis meses). ....	121
Gráfico 5.21: Concentrações plasmáticas individuais da homocisteína antes e depois da erradicação do <i>H. pylori</i> (três e seis meses).....	122
Gráfico 5.22: Resultados individuais do VCM antes e depois do tratamento (três e seis meses).....	123

Gráfico 5.23: Comparação entre os índices do VCM antes e depois do tratamento (três e seis meses).....	124
Gráfico 5.24: Resultados individuais do pepsinogênio I antes e depois do tratamento (seis meses). ....	125
Gráfico 5.25: Comparação entre as concentrações do pepsinogênio I antes e depois do tratamento (seis meses). ....	126
Gráfico 5.26: Resultados individuais da gastrina antes e depois do tratamento (seis meses).....	127
Gráfico 5.27: Comparação entre as concentrações da gastrina antes e depois do tratamento (seis meses). ....	127
Gráfico 5.28: Correlação entre os níveis séricos da vitamina B <sub>12</sub> e o VCM depois do tratamento medicamentoso.....	129
Gráfico 5.29: Correlação entre as concentrações da homocisteína e vitamina B <sub>12</sub> depois do tratamento. ....	129
Gráfico 5.30: Correlação entre a concentração da homocisteína e o VCM depois do tratamento. ....	131
Gráfico 5.31: Correlação entre as concentrações da homocisteína e da creatinina depois do tratamento. ....	131
Gráfico 5.32: Correlação entre a concentração do pepsinogênio I e valores do <i>clearance</i> de creatinina depois do tratamento.....	132
Gráfico 9.1: Comparação entre as concentrações médias do VCM antes e depois do tratamento (três e seis meses). ....	242

Gráfico 9.2 Comparação entre as concentrações médias da Vitamina B <sub>12</sub> antes e depois do tratamento (três e seis meses). .....	242
Gráfico 9.3: Comparação entre as concentrações médias da Homocisteína antes e depois do tratamento (três e seis meses). .....	243
Gráfico 9.4: Comparação entre as concentrações médias da Gastrina antes e depois do tratamento (seis meses). .....	243
Gráfico 9.5: Comparação entre as concentrações médias do Pepsinogênio 1 antes e depois do tratamento (seis meses). .....	244

## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Comparação entre as deficiências clínica e sub-clínica da vitamina B <sub>12</sub> (CARMEL, 2003).....	48
Tabela 5.1: Características dos pacientes com vitamina B <sub>12</sub> ≤ 350 pg/ml.....	94
Tabela 5.2: Dados laboratoriais dos pacientes <i>H. pylori</i> positivos (n=62). .....	95
Tabela 5.3: Correlações entre os níveis da vitamina B <sub>12</sub> e variáveis selecionadas antes do tratamento .....	99
Tabela 5.4: Correlação entre os níveis de homocisteína e variáveis selecionadas antes do tratamento .....	100
Tabela 5.5: Correlação entre os níveis de pepsinogênio I e as variáveis selecionadas antes do tratamento .....	102
Tabela 5.6: Correlação entre os níveis de pepsinogênio II e variáveis selecionadas antes do tratamento .....	104
Tabela 5.7: Correlação entre a relação PG I/ PG II e as variáveis selecionadas antes do tratamento .....	105
Tabela 5.8: Análise histopatológica do antro gástrico de acordo com os critérios de Sidney modificados .....	106
Tabela 5.9: Análise histopatológica do corpo gástrico de acordo com os critérios de Sidney modificados .....	106

Tabela 5.10: Correlação entre o grau de inflamação do antro e variáveis selecionadas antes do tratamento .....	108
Tabela 5.11: Correlação entre o grau de atividade do antro e variáveis selecionadas antes do tratamento .....	110
Tabela 5.12: Correlação entre o grau de inflamação do corpo e variáveis selecionadas antes do tratamento. ....	112
Tabela 5.13: Correlação entre o grau de atividade do corpo e as variáveis selecionadas antes do tratamento .....	113
Tabela 5.14 Presença e ausência de atrofia do corpo gástrico e médias de variáveis selecionadas .....	115
Tabela 5.15: Presença e ausência de metaplasia intestinal do corpo gástrico e médias de variáveis estudadas .....	116
Tabela 5.16: Comparação das médias das variáveis selecionadas entre os grupos colonizados por amostras CagA positivas e CagA negativas .....	117
Tabela 5.17: Comparação do <i>status</i> CagA e estudo histopatológico da mucosa do antro e corpo gástrico. ....	118
Tabela 5.18: Correlação entre os níveis séricos da vitamina B <sub>12</sub> e variáveis selecionadas depois do tratamento. ....	128
Tabela 5.19: Correlação entre os níveis da homocisteína plasmática e variáveis selecionadas depois do tratamento .....	130
Tabela 5.20: Correlação entre a concentração do pepsinogênio I e variáveis selecionadas depois do tratamento .....	132

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>XXXIV</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XXXVII</b>
<b>1.INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>2.REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>8</b>
2.1 VITAMINA B <sub>12</sub> .....	8
2.1.1 Aspectos Conceituais e Químicos.....	8
2.1.2 Aspectos Históricos .....	11
2.1.3 Aspectos Fisiológicos (absorção, distribuição, utilização e excreção) .....	21
2.1.3.1 Aspectos Bioquímicos da Deficiência da Vitamina B <sub>12</sub> : Homocisteína e Ácido Metilmalônico .....	28
2.1.4 Causas da deficiência da vitamina B <sub>12</sub> .....	40
2.1.5 Aspectos Clínicos e Laboratoriais.....	45
2.2 H. pylori .....	49
2.2.1 Aspectos Históricos e Taxonômicos.....	49
2.2.2 Características do H. pylori.....	52
2.2.3 A infecção por H. pylori.....	55
2.2.4 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo H. pylori .....	57
2.2.4.1 Prevalência e incidência da infecção pelo H. pylori .....	58
2.2.4.2 Fatores de risco associados à infecção. ....	59
2.3 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO H. PYLORI.....	59
2.3.1 Cultura .....	60
2.3.2 Teste da urease pré-formada.....	61

2.3.3 Exame direto .....	62
2.3.4 Pesquisa de <i>H. pylori</i> em cortes histopatológicos .....	62
2.3.5 Reação de polimerização em cadeia (PCR).....	63
2.3.6 Pesquisa de anticorpos anti- <i>H. pylori</i> .....	63
2.3.7 Teste respiratório com uréia marcada .....	64
2.3.8 Detecção de antígenos de <i>H. pylori</i> em amostras de fezes.....	65
2.4 TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO <i>H. PYLORI</i> .....	66
<b>3.OBJETIVOS .....</b>	<b>72</b>
<b>4.PACIENTES E MÉTODOS .....</b>	<b>74</b>
4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES.....	74
4.2 SEGUIMENTO DOS PACIENTES INCLUÍDOS .....	77
4.3 MÉTODOS .....	78
4.3.1 Avaliação clínica .....	78
4.3.2 Esquema de tratamento para a erradicação do <i>H. pylori</i> .....	78
4.3.3 Esofagogastroduodenoscopia .....	79
4.3.4 Diagnóstico da infecção pelo <i>H. pylori</i> .....	79
4.3.4.1 Pesquisa de <i>H. pylori</i> em fragmentos de mucosa gástrica .....	79
Cultura.....	80
Teste da urease pré-formada.....	80
Exame histopatológico .....	81
Teste respiratório.....	81
Pesquisa de anticorpos séricos anti- <i>H. pylori</i> .....	82
Critérios diagnósticos .....	83
Pesquisa de anticorpos anti-CagA .....	83
4.3.5 Análises laboratoriais diversas.....	84
4.3.5.1 Vitamina B <sub>12</sub> e ácido fólico.....	85
4.3.5.2 Hemograma; albumina; glicemia; creatinina e TSH.....	85
4.3.5.3 Homocisteína .....	86

4.3.5.4 Pepsinogênio I .....	87
4.3.5.5 Pepsinogênio II .....	88
4.3.5.6 Relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II.....	89
4.3.5.7 Gastrina .....	89
4.3.5.8 Pesquisa de Anticorpo Anti-Célula Parietal.....	89
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	89
<b>5.RESULTADOS .....</b>	<b>92</b>
5.1 RESULTADOS GERAIS .....	92
5.1.1 <i>Características do grupo total de participantes</i> .....	92
5.1.2 <i>Características do grupo incluído no estudo</i> .....	94
5.1.3 <i>Resultados antes da erradicação do H. pylori.</i> .....	98
Vitamina B <sub>12</sub> .....	99
Homocisteína .....	100
Pepsinogênio I.....	102
Pepsinogênio II .....	104
Relação PG I / PG II.....	105
5.2 RESULTADOS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO PARA ERRADICAÇÃO DO <i>H. PYLORI</i> . .....	105
5.4 ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE O ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DO ANTRO GÁSTRICO E AS VARIÁVEIS SELECIONADAS ANTES DO TRATAMENTO. ....	108
5.4.1 <i>Correlação entre o grau de inflamação da mucosa antral e as variáveis selecionadas.</i> .....	108
5.4.2 <i>Correlação entre o grau de atividade da mucosa antral e as variáveis selecionadas.</i> .....	110
5.5 ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE O ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DO CORPO GÁSTRICO E AS VARIÁVEIS SELECIONADAS ANTES DO TRATAMENTO. ....	111
5.5.1 <i>Correlação entre o grau de inflamação da mucosa do corpo gástrico e variáveis selecionadas.</i> .....	111
5.5.2 <i>Correlação entre o grau de atividade da mucosa do corpo gástrico e variáveis selecionadas.</i> .....	113

5.6 COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS NOS GRUPOS DE PACIENTES COM E SEM ATROFIA DO CORPO GÁSTRICO À HISTOPATOLOGIA ANTES DO TRATAMENTO .....	115
5.7 COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS NOS GRUPOS DE PACIENTES COM E SEM METAPLASIA DO CORPO GÁSTRICO ANTES DO TRATAMENTO .....	116
5.8 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS ENTRE OS GRUPOS DE PACIENTES DE ACORDO COM <i>STATUS CAGA</i> .....	117
5.9 ANÁLISE DO <i>STATUS CAGA</i> E ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DAS MUCOSAS DO ANTRO E CORPO GÁSTRICO .....	118
5.10 COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS LABORATORIAIS ANTES E DEPOIS DA ERRADICAÇÃO DO <i>H. PYLORI</i> (TRÊS E SEIS MESES).....	119
5.10.1 <i>Vitamina B<sub>12</sub></i> .....	119
5.10.2 <i>Homocisteína</i> .....	120
5.10.3 <i>VCM</i> .....	123
5.10.4 <i>Pepsinogênio I</i> .....	125
5.10.5 <i>Gastrina</i> .....	126
5.11 ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS SELECIONADAS DEPOIS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO. ....	128
5.12 RESULTADOS QUALITATIVOS DE PACIENTES ESPECÍFICOS. ....	133
<b>6.DISSCUSSÃO.....</b>	<b>136</b>
6.1 SELEÇÃO DE PACIENTES.....	136
6.2 CARACTERÍSTICAS DO GRUPO INCLUÍDO NO ESTUDO .....	139
6.3 RESULTADOS ANTES DA ERRADICAÇÃO DO <i>H. PYLORI</i> .....	145
6.4 RESULTADOS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO .....	159
6.5 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	161
6.6 RESULTADOS DAS CORRELAÇÕES ENTRE ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E VARIÁVEIS SELECIONADAS ANTES DO TRATAMENTO. ....	163
6.6.1 <i>Resultados depois da erradicação da bactéria</i> .....	166
6.7 RELAÇÃO ENTRE INFECÇÃO POR <i>H. PYLORI</i> E MALABSORÇÃO DA VITAMINA <i>B<sub>12</sub></i> .....	171

<b>7.CONCLUSÕES.....</b>	<b>177</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>180</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>226</b>
ANEXO A: ESOFAGOGASTRODUODENOSCOPIA.....	226
Material .....	226
Preparo psicológico dos pacientes e recomendações dietéticas antes do exame .....	226
Preparo medicamentoso e anestesia da orofaringe .....	226
Técnica do exame endoscópico .....	227
Dados endoscópicos sucintos para os diagnósticos da mucosa esofágica normal e de esofagite por refluxo: .....	228
Dados endoscópicos sucintos para diagnóstico da mucosa oxíntica normal e das suas alterações:.....	229
Dados endoscópicos sucintos para diagnóstico da mucosa do antro normal e das suas alterações:.....	230
Dados endoscópicos sucintos para diagnóstico da mucosa da região angular e suas alterações .....	231
ANEXO B: RESULTADOS DE EXAMES ENDOSCÓPICOS.....	232
ANEXO C: PROTOCOLOS PARA TRATAMENTO DE B <sub>12</sub> E <i>H. PYLORI</i> .....	234
ANEXO D: PROTOCOLO DE CONTROLE DO TRATAMENTO .....	235
ANEXO E: CRITÉRIOS DE ATROFIA DO CORPO GÁSTRICO .....	237
ANEXO F: AVALIAÇÃO FUNCIONAL DOS PACIENTES.....	238
ANEXO G: CONVERSÃO DE VALORES DA VITAMINA B <sub>12</sub> .....	240
ANEXO H: RESULTADOS INDIVIDUAIS DE PACIENTES ESTUDADOS.....	241
ANEXO I: RESULTADOS GERAIS ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO: GRÁFICOS, FIGURAS E TABELAS. ....	242

Lutar com palavras  
é a luta mais vã.  
Enquanto lutamos  
mal rompe a manhã.

...

Palavra, palavra  
(digo exasperado),  
se me desafia  
aceito o combate.

...

O ciclo do dia  
Ora se consuma  
E o inútil duelo  
Jamais se resolve.

...

O lutador - Carlos Drummond de Andrade

**RESUMO**

## RESUMO

No idoso, a associação entre a infecção pelo *Helicobacter pylori* e a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> apresenta implicações clínicas relevantes como o aumento da homocisteína, fator de risco para aterosclerose, declínio cognitivo e redução da qualidade de vida. O presente estudo foi desenvolvido prospectivamente, entre fevereiro de 2002 e junho de 2004, para avaliar o efeito da erradicação do *H. pylori* nas concentrações sanguíneas da vitamina B<sub>12</sub> e da homocisteína em idosos ( $\geq 60$  anos) sem anemia perniciosa ou outras afecções associadas com o aumento da homocisteína. Estudou-se 108 pacientes, 72,6 anos ( $\pm 7,93$ ), 79 mulheres (73,1%) e 29 homens (26,9%), com vitamina B<sub>12</sub>  $\leq 350$  pg/ml, ácido fólico normal e sem tratamento prévio com cobalamina. Dentre esses, 87 dos pacientes selecionados inicialmente eram *H. pylori* positivos e 21 *H. pylori* negativos. Foram excluídos do estudo 25 pacientes com infecção pelo *H. pylori* devido a presença de afecções graves e o grupo *H. pylori* negativo. Os 62 pacientes *H. pylori* positivos (média de idade 71,1 anos, variação 60 a 86 anos, 11 homens, 51 mulheres) foram incluídos no trabalho. O diagnóstico de infecção pelo *H. pylori* foi baseado no resultado positivo da cultura ou na presença de dois resultados positivos dos seguintes exames: teste da urease, esfregaço corado com carbolfucsina, exame histopatológico, teste respiratório marcado com <sup>13</sup>C, anticorpos séricos anti-*H. pylori*. A gastrite foi classificada de acordo com os critérios de Sidney modificados. Os pacientes foram tratados com omeprazol mais claritromicina e furazolidona por sete dias. Aqueles pacientes nos quais a bactéria não foi

erradicada tiveram um novo tratamento. O critério de erradicação da bactéria foi o resultado negativo do teste respiratório marcado com  $^{13}\text{C}$  três e seis meses depois do tratamento medicamentoso. A taxa de erradicação do *H. pylori* foi de 95,2% na avaliação de três meses e 100% depois de seis meses. Os níveis séricos iniciais da vitamina  $\text{B}_{12}$  aumentaram de 196,2 pg/ml ( $\pm 66,0$ ) para 256,6 pg/ml ( $\pm 98,5$ ) e 284,4 pg/ml ( $\pm 118,2$ ), três e seis meses depois do tratamento, respectivamente ( $p < 0,001$  para ambos). Inversamente, os níveis plasmáticos iniciais da homocisteína decresceram significativamente ( $p < 10^{-3}$ ) depois do tratamento (três meses,  $16,5 \mu\text{mol/l} \pm 6,71$ ; seis meses,  $21,6 \mu\text{mol/l} \pm 10,11$ ) quando comparados com os níveis antes do tratamento ( $40,3 \mu\text{mol/l} \pm 26,64$ ). Também, foi observado um decréscimo significativo ( $p=0,02$ ) no VCM seis meses depois da erradicação do *H. pylori*. Antes do tratamento foi vista correlação inversa entre os níveis séricos da vitamina  $\text{B}_{12}$  e o VCM ( $r=-0,27$ ,  $p=0,03$ ), assim como entre os níveis plasmáticos de homocisteína e os níveis séricos do pepsinogênio I ( $r=-0,317$ ;  $p=0,01$ ), mas não entre os níveis de vitamina  $\text{B}_{12}$  e homocisteína ( $p=0,13$ ). Entretanto, três ( $r=-0,37$ ,  $p=0,004$ ) e seis ( $r=-0,31$ ,  $p=0,02$ ) meses depois da erradicação do *H. pylori*, os níveis da vitamina  $\text{B}_{12}$  e homocisteína apresentaram correlação negativa. Os resultados do presente estudo mostraram que no idoso a infecção pelo *H. pylori* está associada com a deficiência da vitamina  $\text{B}_{12}$  e hiperhomocisteinemia. Assim, estes pacientes podem ter benefício com a erradicação do *H. pylori* melhorando a qualidade de vida e reduzindo o risco de afecções associadas à hiperhomocisteinemia.

Se procurar bem, você acaba encontrando  
não a explicação (duvidosa) da vida,  
mas a poesia (inexplicável) da vida.

Lembrete

Carlos Drummond de Andrade

**ABSTRACT**

## ABSTRACT

The interest in the association of *Helicobacter pylori* infection with cobalamin status is further triggered by the association of low cobalamin status with hyperhomocysteinemia which is a widely acknowledged risk factor of atherosclerosis, cognitive disorders and reduced quality of life. We aimed to evaluate the effect of *H. pylori* eradication on plasma vitamin B<sub>12</sub> and homocysteine in elderly patients without pernicious anemia or other diseases associated with increased homocysteinemia. Among 108 consecutive patients whose vitamin B<sub>12</sub> levels were  $\leq 350$  pg/mL, 72.6 years ( $\pm 7.93$ ), 79 female (73.1%) and 29 male (26.9%), and who had normal folate level and had not previously been treated with cobalamin, 87 of initially selected patients were *H. pylori* positive and 21 were *H. pylori* negative. The negative group and 25 *H. pylori* infected patients were excluded from the study due to severe diseases. 62 *H. pylori* positive (11 male, 51 female, mean age 71.1 years, range 60-86 years) were included in the study. *H. pylori* positivity was based on a positive result of culture or two positive results among the other tests (performed urease test, carbolfuchsin stained smear or histological section, antibody anti-*H. pylori*-ELISA and <sup>13</sup>C-urea breath test). Gastritis was classified according to revised Sydney system. They were treated with omeprazole plus clarithromycin and furazolidone for 7 days. Those patients who remained *H. pylori* infected were retreated. *H. pylori* eradication was defined as a negative <sup>13</sup>C-urea breath test performed 3 and 6 months after the treatment. The 3-month eradication rate was 95.2% and 6-month was 100%. The initial B<sub>12</sub> plasma

levels increased from 196.2 pg/mL ( $\pm$  66.0) to 256.6 pg/mL ( $\pm$  98.5) and 284.4 pg/mL ( $\pm$  118.2), 3 and 6 months after treatment, respectively ( $p < 0.001$  for both). Conversely, the initial homocysteine plasma levels decreased significantly ( $p < 10^{-3}$ ) after treatment (3 month, 16.5  $\mu$ mol/L  $\pm$  6.71; 6 month 21.6  $\mu$ mol/L  $\pm$  10.11) when compared with levels before treatment (40.3  $\mu$ mol/L  $\pm$  26.64). A significant decrease ( $p=0.02$ ) in MCV was also observed 6 months after *H. pylori* eradication. Before treatment an inverse correlation was observed between B<sub>12</sub> levels and MCV ( $r=-0.27$ ,  $p=0.03$ ), as well as between homocysteine and pepsinogen I ( $r=-0.317$ ;  $p=0.01$ ), but not between B<sub>12</sub> and homocysteine levels ( $p=0.13$ ). However, 3 ( $r=-0.37$ ,  $p=0.004$ ) and 6 ( $r=-0.31$ ,  $p=0.02$ ) months after *H. pylori* eradication, B<sub>12</sub> and homocysteine levels were negatively correlated. Our results demonstrated that in elderly, *H. pylori* infection is associated with B<sub>12</sub> deficiency and hyperhomocysteinemia. Also these patients may have a benefit with *H. pylori* eradication by improving their quality of life and decreasing risk of diseases associated with hyperhomocysteinemia.

A vastidão desses campos  
A alta muralha das serras  
As lavras inchadas de ouro.  
Os diamantes entre as pedras.

...

Gente que chega e que passa.  
E as idéias.

...

As verdades e as quimeras.  
Outras leis, outras pessoas.  
Novo mundo que começa  
Nova raça. Outro destino  
Plano de melhores eras

...

E as idéias...

Das Idéias  
Cecília Meireles

## 1. INTRODUÇÃO

## 1.INTRODUÇÃO

A deficiência da vitamina B<sub>12</sub> é problema comum em idosos\* com prevalência variável de 5 a 43% nesta faixa etária (WOLTERS *et al.*, 2004; ANDRES *et al.*, 2004; CARMEL *et al.*, 2003; DHARMARAJAN *et al.*, 2003; OH *et al.*, 2003; CARMEL, 2000; BAIK & RUSSEL, 1999). Para vários autores esta deficiência é problema de saúde pública (CARMEL *et al.*, 2003; STABLER & ALLEN, 2004).

Pesquisas sobre a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> iniciaram há aproximadamente 150 anos e resultaram em prêmios NOBEL nas áreas de Química, Medicina & Fisiologia (CHANARIN, 2000; OKUDA, 1999). Entretanto, todos estes anos de estudos e pesquisas relacionados ao assunto, ainda surpreendem com a existência de problemas não esclarecidos, tais como: falta de diagnóstico da deficiência dessa vitamina devido a presença de sintomas vagos e inespecíficos; definição de valores de referência para a vitamina B<sub>12</sub> não totalmente estabelecidos; presença de estádios sub-clínicos com manuseio clínico incerto; orientações variadas, muitas divergentes, nas estratégias de diagnóstico e tratamento (ANDRÈS *et al.*, 2004; CARMEL *et al.*, 2003; LÖKK *et al.*, 2001; SCHNEEDE, 2003; WICKRAMASINGHE, 1999; ZITTOUN & ZITTOUN, 1999).

A deficiência da vitamina B<sub>12</sub> constitui-se em afecção polimorfa com apresentações clínicas extremamente diversificadas (PENNYPACKER *et al.*, 1992). Assim, sua

---

\* Idoso: ≥ 60 anos para países em desenvolvimento; ≥ 65 anos para países desenvolvidos (ONU, 1982 *apud* CANÇADO, 1994; CAMARANO, 2002).

definição clínica é baseada em vários critérios os quais podem variar consideravelmente entre as diferentes áreas médicas (SCHNEEDE, 2003).

O seu quadro clássico é anemia megaloblástica, porém está presente apenas na metade dos pacientes e constitui manifestação tardia vista na depleção tecidual grave (NEXO *et al.*, 1994; WICKRAMASINGHE, 1999).

Atualmente o diagnóstico da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> é feito antes da exaustão dos estoques (ZITTOUN & ZITTOUN, 1999; CARMEL *et al.*, 2003).

Os achados hematológicos são discretos e podem ser limitados ao aumento do VCM (volume corpuscular médio) e ou poucos neutrófilos hipersegmentados no esfregaço sem a presença de anemia que aparece nos estádios finais dessa deficiência (LINDENBAUM *et al.*, 1994).

Outros sinais e sintomas, frequentemente subestimados, são manifestações neuropsiquiátricas, caracterizadas por neuropatia periférica, depressão, alterações cognitivas e demências (NEXO *et al.*, 1994). Os pacientes que se beneficiam do tratamento são aqueles que apresentam ampla variedade de anormalidades neurocognitivas e podem ter ou não alterações hematológicas (macrocitose e ou anemia) (LINDENBAUM *et al.*, 1988). A presença de co-morbidades, associada à deficiência, pode dificultar o diagnóstico no paciente idoso.

No idoso há ampla variedade de causas para a deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, porém a mais frequente é a síndrome de malabsorção da vitamina B<sub>12</sub> ligada ao alimento. É responsável por 30 a 40% dos casos nesta faixa etária e tem diversos mecanismos, tais como: cirurgia gástrica (gastrectomia parcial), medicamentos inibidores da secreção ácida e gastrite atrófica (CARMEL, 1997; CARMEL, 2000).

A gastrite crônica atrófica é a principal alteração na fisiologia gastrointestinal, associada com o envelhecimento dos pacientes, e que afeta a biodisponibilidade dos nutrientes.

A prevalência média da gastrite crônica no idoso é estimada em aproximadamente 20%, podendo afetar a biodisponibilidade de nutrientes específicos, cuja absorção é pH dependente, em considerável segmento dessa população (RUSSELL, 2001). É causada principalmente por gastrite crônica atrófica multifocal ou gastrite crônica atrófica tipo B que afeta de 20 a 50% dos idosos e está associada à infecção pelo *Helicobacter pylori* (KRASINSKI *et al.*, 1986; TOH *et al.*, 1997; KUIPERS, 1998; RUSSELL, 2001). Essa gastrite resulta em declínio da produção de ácido clorídrico gástrico e da secreção de pepsinogênios com redução da biodisponibilidade da vitamina B<sub>12</sub> ligada à proteína do alimento e, conseqüentemente, sua menor absorção na parte final do íleo.

A infecção causada pelo *H. pylori* é extremamente frequente, acometendo mais da metade da população mundial e, países em desenvolvimento, como o Brasil, apresentam maior prevalência da infecção em relação aos países desenvolvidos (FRENCH & CLEMENS, 2003). No Brasil, dados de estudos relacionados à prevalência da infecção por *H. pylori* variam de 62 a 86,2% com maiores taxas em regiões com piores condições sócio-econômicas (ROCHA *et al.*, 1993; ROCHA *et al.*, 1998; OLIVEIRA, 1999).

No idoso, a associação entre a infecção pelo *H. pylori* e a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> apresenta implicações de grande alcance, tanto para a prática clínica como para o desenvolvimento de pesquisas (DIERKES *et al.*, 2003; GASBARRINI *et al.*, 2003; GASBARRINI *et al.*, 2004). A detecção e tratamento precoces desta deficiência são

fundamentais para prevenção das diversas alterações. Dentre essas, a elevação da concentração plasmática da homocisteína que é fator de risco independente para aterosclerose, declínio cognitivo, demências e redução da qualidade de vida (JENSEN *et al.*, 1998; WALD *et al.*, 2002; SESHADI *et al.*, 2002; McCADDON *et al.*, 2001; KADO *et al.*, 2002; ARONOW, 2003; BRIDDON, 2003; NAGGA *et al.*, 2003; MARENGONI *et al.*, 2004; MERKEL, 2004).

A elevação da concentração da homocisteína de intensidade leve (15-20  $\mu\text{mol/l}$ ) e moderada (25-30  $\mu\text{mol/l}$ ) é fator independente para ocorrência de AVC (acidente vascular cerebral), DAC (doença arterial coronariana) ou DAOP (doença arterial obstrutiva periférica) (REFSUM *et al.*, 1998; WALD *et al.*, 2002; ARONOW, 2003). Dados de estudos recentes mostram que o aumento de 5  $\mu\text{mol/l}$  na sua concentração produz a elevação correspondente do risco para desenvolvimento de DAC (40%) e para todas as causas de mortalidade (49%) entre pessoas de 65 a 72 anos (VOLLSET *et al.*, 2001).

Portanto, dentro deste contexto, é de suma importância identificar a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> no idoso para minimizar ou prevenir manifestações graves de uma doença potencialmente tratável.

O presente estudo iniciou-se a partir de observações de pacientes atendidos no Ambulatório de Geriatria do Hospital das Clínicas da UFMG, quanto aos valores das dosagens séricas da vitamina B<sub>12</sub> e a busca das causas das alterações identificadas. A grande maioria desses pacientes apresentava infecção pelo *H. pylori* diagnosticados por exames histopatológicos obtidos por endoscopia digestiva alta.

Com a somatória dessas observações e de dados existentes na literatura planejou-se a realização do presente trabalho: avaliação do efeito da erradicação da infecção causada pelo *H. Pylori*, concomitantemente, sobre as concentrações plasmáticas da homocisteína e as concentrações séricas da vitamina B<sub>12</sub> em idosos, que, até a presente data, foi realizada pela primeira vez nesta faixa etária.

No momento, somos levados a crer que a infecção crônica pelo *H. pylori* possa produzir alterações histopatológicas responsáveis pela deficiência da vitamina B<sub>12</sub> e, conseqüentemente, aumento na concentração plasmática da homocisteína.

Assim, a erradicação da infecção pelo *H. pylori* pode produzir mudança de paradigma na deficiência da vitamina B<sub>12</sub> em idosos, onde um tratamento específico da infecção, poderá aumentar a concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> e reduzir a concentração plasmática da homocisteína sem necessidade de reposição da vitamina B<sub>12</sub> oral ou injetável.

É possível, portanto, que esse trabalho possa contribuir para o estudo da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> neste segmento específico, na causa dessa deficiência e no papel da homocisteína, tanto no diagnóstico da deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, como na infecção pelo *H. pylori*.

Muitas velas. Muitos remos.

Âncora é outro falar....

Tempo que navegaremos

não se pode calcular.

....

Muitas velas. Muitos remos.

Curta vida. Longo mar.

Por água brava ou serena

Deixamos o nosso cantar,

Vendo como a voz é pequena

Sobre o comprimento do ar.

...

Nem tormenta nem tormento

nos poderia parar.

Muitas velas. Muitos remos

Âncora é outro falar....

Andamos entre água e vento

procurando o Rei do Mar.

O Rei do Mar

Cecília Meireles

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

## 2.REVISÃO DA LITERATURA

A literatura existente sobre os diferentes temas, vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína e *Helicobacter pylori*, por si só, é extremamente ampla e diversificada. Engloba desde quadros clínicos até estudos com uso da biologia molecular. Portanto, nesta revisão, serão selecionados, de cada assunto, os aspectos mais relevantes para a compreensão do tema em discussão. A homocisteína será abordada dentro do contexto da vitamina B<sub>12</sub>.

Com relação ao ácido fólico, apesar das inter-relações entre as substâncias, não será objeto de estudo neste trabalho.

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

#### 2.1.1 Aspectos Conceituais e Químicos

O termo “vitamina B<sub>12</sub>” tem dois significados, dependendo do contexto a ser utilizado. Para o químico significa somente cianocobalamina, a primeira forma de cobalamina purificada. Entretanto, para a nutrição e farmacologia é o termo genérico para todos os corrinóides que exercem atividade biológica no homem (HERBERT, 1996). Neste trabalho serão empregadas ambas as definições, dependendo do contexto.

A vitamina B<sub>12</sub> é a maior das vitaminas do complexo B com peso molecular de 1365 daltons. A familiaridade com a estrutura química e o metabolismo bioquímico

dessa vitamina é essencial para a compreensão dos seus mecanismos fisiopatológicos (GLUSKER, 1995; KAPADIA, 1995; CHAMPE & HARVEY, 2000).

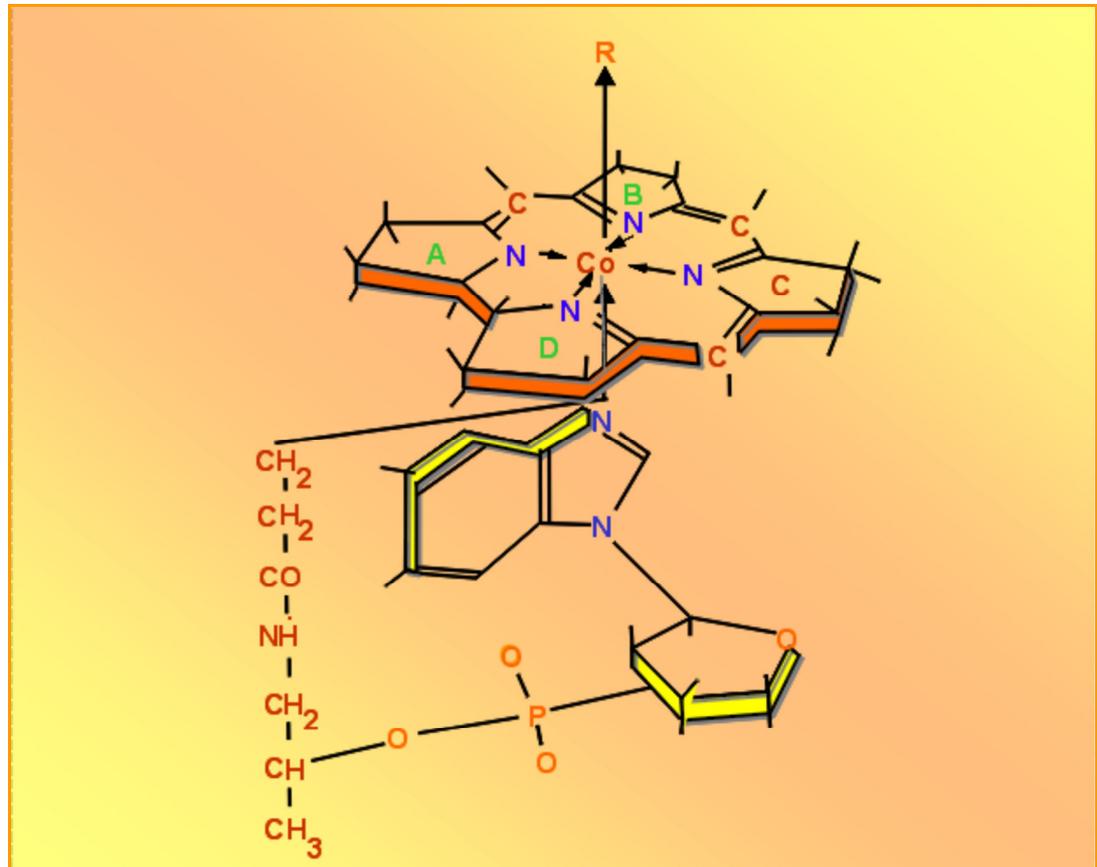


Figura 2.1: Estrutura química da vitamina B<sub>12</sub>.

A vitamina B<sub>12</sub> tem estrutura química complexa constituída dos seguintes elementos, localizados em planos distintos (KAPADIA, 1995) (Figura 2.1):

1-Um grupo planar ou núcleo de corrina ou *corrin* - Localizado no plano ou camada média, é uma estrutura em anel semelhante à porfirina, com quatro anéis pirrólicos reduzidos (designados por A a D), ligados a um átomo central de cobalto e extensamente substituídos por resíduos metil, acetamida e propionamida. O nome corrínicico é derivado da palavra inglesa *core* (centro) da vitamina B<sub>12</sub> e não se relaciona a palavra cobalto (GLUSKER, 1995). Todos os compostos que contem esse

anel são designados de corrinóides. Parte da modificação da molécula necessária para a atividade é a redução do átomo de cobalto para estado de oxidação ( $3^+$ ). Qualquer modificação na estrutura desse anel corínico resulta em perda das propriedades biológicas da vitamina.

2-Um nucleotídeo 5,6-dimetilbenzimidazolil, localizado no plano inferior, que se liga quase perpendicularmente ao núcleo de corrina com ligações ao átomo de cobalto e à cadeia lateral de proprianato do anel D. Qualquer alteração na parte inferior da estrutura, também, resulta em perda das propriedades biológicas da vitamina.

3-Um grupo R variável, tal como: ciano-(CN-), hidroxí (OH-), metil-(Me-) ou 5'-deoxiadenosil (Ado-), localizados no plano acima do anel corínico. São encontrados nos compostos estáveis cianocobalamina (CN-), hidroxicobalamina (OH) e nas co-enzimas ativas metilcobalamina ( $\text{CH}_3$ ) e 5'-desoxiadenosilcobalamina (Ado-). O termo "cobalamina" (Cbl) é usado para a maioria dos compostos da vitamina  $\text{B}_{12}$  nos quais a base heterocíclica é 5,6-dimetilbenzimidazole (Bzm).

A vitamina  $\text{B}_{12}$  não é ativa no corpo. É convertida em co-enzimas, 5-dexosiadenosilcobalamina ou metilcobalamina, que são biologicamente ativas. As duas co-enzimas tem, respectivamente, um grupo 5-deoxiadenosil ou metil substituindo o grupo cianido axial na vitamina  $\text{B}_{12}$  e são ativadores essenciais para a ação de certas enzimas. No homem participam de duas reações: isomerização do metilmalonato para succinato (catalizado pela enzima metilmalonil-CoA onde a 5-deoxiadenosilcobalamina é co-fator) e metilação da homocisteína para metionina (catalizado pela reação da metiltransferase), (ver ítem 2.1.3.1).

Há muitas formas de vitamina B<sub>12</sub> que são inativas em seres humanos. Coletivamente são chamados de “análogos da vitamina B<sub>12</sub>” e constituídos por outros corrinóides: cobinamidas e cobamidas. São sintetizados por microorganismos presentes na flora intestinal. Biologicamente são inativos ou porque perdem a parte da molécula abaixo do plano do anel corrínic (cobinamidas) ou porque contêm outras bases tais como benzimidazole ou adenina substituindo a 5,6-dimetilbenzimidazole (cobamidas). A investigação dessas estruturas constitui objeto de pesquisa no contexto das alterações da vitamina B<sub>12</sub> (HERBERT, 1996).

### 2.1.2 Aspectos Históricos

A descoberta da vitamina B<sub>12</sub> iniciou-se há mais de 150 anos. Foi uma das mais importantes na área do conhecimento humano resultando em vários prêmios NOBEL. A cura da anemia perniciosa e o esclarecimento da anemia megaloblástica como uma síndrome causada pela deficiência da vitamina B<sub>12</sub> foi uma das grandes vitórias da Medicina no início do século vinte. Entretanto, no final do século XX e início do século XXI, pesquisas envolvendo esta vitamina continuam a ser objeto de estudo com novos enfoques e propostas de tratamento (MARKLE, 1996; HOFFBRAND & HERBERT, 1999).

O estudo da doença teve início em 1820 com COMBE (COMBE *apud* HERBERT, 1996) que descreveu pela primeira vez uma anemia fatal devido a “alguma desordem dos órgãos digestivos e assimilativos”. Há relatos de casos registrados em 1823 por COMBE & ANDRAL e MARSHALL em 1837 (COMBE & ANDRAL, MARSHALL *apud* LEE, 1995).

Porém, em 1855, THOMAS ADDISON publicou a primeira descrição clínica da anemia perniciosa na monografia “*Disease of the Supra-Renal Capsules*”. Nesta publicação utilizou o termo “anemia idiopática” indicando que o diagnóstico foi feito pela exclusão de outras causas conhecidas de anemia (ADDISON *apud* LEE, 1995). Em sequência, essa anemia passou a ser conhecida como “anemia addisoniana”. BIERMAN, em 1872, utilizou o termo alemão “*pernicioser*” para essa anemia, invariavelmente fatal, que foi aceito e incorporado à literatura médica (BIERMAN *apud* GLUSKER, 1995).

Pesquisadores como AUSTIN FLINT, FARBER e outros observaram que o estômago, também, estava comprometido nesta anemia. AUSTIN FLINT, em 1860, utilizando estudos em autópsias, fez a primeira sugestão que a “anemia addisoniana” podia ser devida a desordem dos túbulos gástricos com secreções gástricas deficientes e, conseqüentemente, assimilação inadequada de alimento (FLINT *apud* LEE, 1995).

Porém, em 1870, FENWICH tornou este conceito mais plausível com a primeira descrição da gastrite atrófica e documentação fisiológica de acloridria utilizando pedaços de estômago obtidos em autópsias (FENWICK *apud* OKUDA, 1999).

Em 1886, CAHN & VON MERING fizeram a primeira análise gástrica em pacientes com anemia grave e observação da acloridria associar-se frequentemente à anemia grave (CAHN & VON MERING *apud* OKUDA, 1999).

Embora, a aquilia gástrica se tornasse reconhecida como achado consistente, precedendo o aparecimento da anemia, o significado patogenético dessa observação continuava um mistério (OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

A perspectiva para o paciente com anemia perniciosa no século XIX e início do século XX era desalentadora porque o tratamento disponível constituía de repouso, alimentação e administração de arsênico contido na solução de Fowler, acontecendo, em poucos anos, a morte do paciente (GLUSKER, 1995).

No início do século vinte, o progresso na ciência nutricional com a utilização de animais (ratos) para pesquisa, o desenvolvimento do conceito de vitaminas por FUNK em 1911 e outros estudos relacionados, permitiram que as propriedades dos alimentos fossem entendidas como importantes fatores na formação do sangue (fatores anti-anêmicos) (ROSENFELD, 1997; OKUDA, 1999).

WHIPPLE & ROBSCHEIT-ROBBINS, em 1925 e, posteriormente em 1929, determinando a efetividade anti-anêmica de vários alimentos, mostraram o valor dietético do fígado como potente substância hematopoiética em cães deficientes em ferro (WHIPPLE & ROBSCHEIT-ROBBINS *apud* CHANARIN, 2000).

Baseado neste trabalho, GEORGE MINOT & WILLIAM MURPHY, em 1926, utilizaram uma dieta especial (fígado, músculo, vegetais e frutas) em pacientes com anemia perniciosa que foram avaliados pelo rápido aumento na contagem de reticulócitos, seguido do aumento na contagem de hemácias e nível de hemoglobina. Foram tratados quarenta e cinco pacientes que toleraram a dieta durante dois anos e todos eles responderam ao tratamento (MINOT & MURPHY, 1926).

A descoberta de MINOT & MURPHY, em 1926, que um fator obtido extrinsecamente do fígado poderia reverter a anemia perniciosa em cães e seres humanos pode ser considerada a marca da descoberta da vitamina B<sub>12</sub>. MINOT,

MURPHY & WHIPPLE foram agraciados com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1934 (OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

WILLIAM CASTLE e colaboradores, no período de 1928 a 1930, por meio de várias experimentações bem conduzidas, utilizaram bife de músculo e suco gástrico em pacientes normais e com anemia perniciosa avaliados, posteriormente, pela contagem de reticulócitos. Os pesquisadores concluíram que houve reação entre um fator intrínseco desconhecido, presente no suco gástrico e um fator extrínseco, também desconhecido, existente no bife de músculo, e necessários para a restauração da hematopoiese em pacientes com anemia perniciosa. Essa afecção foi caracterizada pela perda de um ou ambos dos componentes essenciais denominados de fator intrínseco (presente no suco gástrico) e fator extrínseco (presente no bife) (CASTLE *apud* CHANARIN, 2000).

Paralela e rapidamente, o concentrado de fígado foi desenvolvido em 1928 por COHEN e colaboradores. Podia ser administrado pela boca e, posteriormente por injeções. Entretanto, a sensibilidade à proteína animal presente no extrato de fígado administrada por meio de de injeções, motivou a busca pelo isolamento do fator anti-anêmico puro (COHEN *et al.* *apud* OKUDA, 1999).

A procura pelo “fator protéico animal”, “fator extrínseco de Castle” ou “fator anti-anêmico” iniciou-se em 1940. Foi uma tarefa árdua e lenta. As frações isoladas do fígado tinham de ser testadas quanto a sua atividade e potência em pacientes com anemia perniciosa não tratada e acrescidas das dificuldades dos estudos realizados em animais. A utilização do *Lactobacillus lactis*, nos estádios finais do procedimento, mostrou-se apropriado como método microbiológico para análise do

fator anti-anêmico o que acelerou a sua identificação (GLUSKER, 1995; OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

Em 1948 o princípio ativo no extrato de fígado foi identificado na sua forma pura, utilizando técnicas cromatográficas e de cristalização. Foi realizado, independentemente, por FOLKER e colaboradores nos Estados Unidos e SMITH e colaboradores na Grã-Bretanha, com diferença favorável de três semanas para os americanos. A publicação ocorreu, respectivamente, nas revistas *Nature* e *Science* de abril de 1948. Esse princípio foi denominado “vitamina B<sub>12</sub>” (o número seguinte não utilizado na lista de vitaminas B). Posteriormente, foi dado o nome químico de cianocobalamina. Na mesma ocasião, o grupo americano encontrou o *Streptomyces griseus* que produzia B<sub>12</sub> no meio de cultura facilitando o modo de produção em massa (OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

Em 1955, DOROTHY HODGKING determinou a estrutura química tridimensional da cianocobalamina por cristalografia com uso de raio X. Recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1964 por seu trabalho sobre a vitamina B<sub>12</sub>, penicilina e insulina (GLUSKER, 1995; OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

Em 1958, BARKER e colaboradores identificaram a primeira forma da coenzima da vitamina B<sub>12</sub>, a 5-deoxiadenosil-cobalamina, cuja estrutura foi determinada por HODGKING com utilização da cristalografia com difração por meio de raios X (GLUSKER, 1995; CHANARIN, 2000).

GUEST, em 1962, mostrou que a metilcobalamina, segunda coenzima da vitamina B<sub>12</sub>, poderia servir como intermediária na conversão da homocisteína para metionina (via transmetilação) em certos microorganismos. Ela foi sintetizada no

mesmo ano por LESTER SMITH, porém a estrutura tri-dimensional da metilcobalamina foi realizada por ROSSI e colaboradores em 1985 (GLUSKER, 1995; CHANARIN, 2000).

A síntese completa da vitamina B<sub>12</sub> ocorreu em 1960, depois de 11 anos de trabalho e colaboração de mais de cem químicos dirigidos por WOODWARD, em Harvard e ESCHENMOSER em Zurich. WOODWARD recebeu o Prêmio Nobel de Química em 1965 pelos estudos importantes realizados na síntese orgânica de substâncias complexas (quinino, colesterol, cortisona e vitamina B<sub>12</sub>) (OKUDA, 1999).

Os estudos continuaram abordando os diversos aspectos da anemia perniciosa. A partir da proposta de CASTLE do “fator intrínseco”, como fator hematopoiético, foi encontrado no estômago de porco o fator intrínseco ativo (GLUSKER, 1995; OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

A utilização da marcação isotópica do cobalto da vitamina B<sub>12</sub> (<sup>60</sup>Co) por ROSENBAUN ajudou substancialmente nas investigações posteriores. Em estudos humanos, o emprego de outros radiocobaltos com meia-vida mais curta (<sup>56</sup>Co, <sup>57</sup>Co, <sup>58</sup>Co) foram extremamente úteis para determinação da absorção, distribuição tecidual e *turnover* da vitamina B<sub>12</sub> (ROSENBAUN *apud* OKUDA, 1999).

SCHILLING, em 1953, desenvolveu um teste de excreção urinária, onde uma grande dose de vitamina B<sub>12</sub> não radioativa é injetada duas horas depois da administração oral de vitamina B<sub>12</sub> marcada radioativamente, com realização da dosagem da radioatividade urinária (SCHILLING *apud* CHANARIN, 2000).

Vários pesquisadores, utilizando diversos procedimentos, buscavam a purificação do fator intrínseco, porém poucos trabalhavam com suco gástrico humano.

GARSBECK, em 1956, mostrou que o suco gástrico humano continha duas proteínas ligadoras da vitamina B<sub>12</sub> com mobilidade diferente na eletroforese. A mais lenta tinha atividade com fator intrínseco, enquanto a mais rápida não apresentava essa qualidade. Denominou a mais rápida de “*R (Rapidily Moving) Binder*” ou *R-binder*”. Também, encontrou grande quantidade de “*R-binder*” na saliva humana e a maioria da “*R-binder*” encontrada no suco gástrico tinha origem da saliva (GRASBECK *apud* OKUDA, 1999).

O estudo de HOEDEMAEKER e colaboradores, em 1964, feito na Holanda, usando autoradiografia em cortes de estômagos humanos congelados incubados com <sup>57</sup>Co-Cbl, mostrou que o fator intrínseco foi produzido pelas células gástricas parietais. A ligação da cobalamina com a célula parietal foi abolida por meio da incubação inicial do corte com soro contendo anticorpos para o fator intrínseco (OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

Em 1960, OKUDA desenvolveu, em ratos, uma técnica para quantificar a atividade do fator intrínseco com uso de intestino delgado desses animais e dosagem da absorção de B<sub>12</sub> radioativa. Com a utilização desse procedimento demonstrou dois mecanismos de absorção: fisiológico (requer fator intrínseco) e não-fisiológico (difusão passiva) (OKUDA, 1999). Em 1972, ALLEN & MAJERUS, purificaram as transcobalaminas I, II, III e fator intrínseco pela primeira vez. Posteriormente, as funções das transcobalaminas foram esclarecidas (OKUDA, 1999; CHANARIN, 2000).

Foram realizados vários estudos para o esclarecimento do papel do fator intrínseco na absorção da vitamina B<sub>12</sub>. Em 1981, SEETHARAM e colaboradores conseguiram a caracterização bioquímica do receptor ileal para o complexo B<sub>12</sub>-FI (SEETHARAM

*et al.*, 1981). Em 1988, KARLSSON e colaboradores encontraram que o maior antígeno para a célula parietal na gastrite auto-imune da anemia perniciosa é a subunidade-alfa da enzima ATP-ase na membrana celular (KARLSSON *et al.*, 1988).

Paralelamente, foram desenvolvidos estudos sobre a homocisteína a partir de 1920 e, em número crescente, até a presente data (FINKELSTEIN, 2000; PODELL, 2003). Os aspectos envolvidos na análise dessa substância são complexos e multifacetados com interação entre pesquisas realizadas em áreas diversificadas, como, básicas e clínicas.

Recentemente, a homocisteína, um aminoácido descoberto em 1932 por DuVIGNEAUD, adquiriu papel importante na doença cardiovascular (LANGMAN & COLE, 1999; FINKELSTEIN, 2000; FINKELSTEIN & MARTIN, 2000; AUER *et al.*, 2001; KONING *et al.*, 2003). Além da aterosclerose e doenças cardíacas, o estudo da substância atingiu áreas diversificadas como o envelhecimento e qualidade de vida, embriologia e reprodução humana, neoplasias, transmissão neural e doenças neurodegenerativas, endocrinologia e outras afecções (FINKELSTEIN, 2000; McCULLY, 2001). O precursor da homocisteína é a metionina que é encontrada em todas as proteínas como aminoácido inicial de todos os polipeptídeos. A metionina foi descoberta em 1922 por MUELLER e estudos posteriores, realizados em animais durante a década de 1930, mostraram que a substância era essencial para o crescimento (MUELLER *apud* McCULLY, 2001). DuVIGNEAUD, também, descobriu que a homocisteína era convertida, no metabolismo celular, para cisteína por meio da formação intermediária da cistationina, e que, a cisteína não era essencial para o crescimento se a metionina estivesse presente na dieta (DuVIGNEAUD *apud* McCULLY, 2001). Conheciam-se muito pouco sobre a homocisteína entre o período

de 1940 e 1950 e a substância foi relegada a segundo plano na medicina clínica. Em 1962, pesquisadores da Irlanda do Norte iniciaram o rastreamento de aminoácidos na urina de crianças com retardo mental usando novas técnicas de cromatografia por coluna. Em muitas crianças foi encontrado homocisteína na urina e a doença foi denominada de homocistinúria. Além do retardo mental, elas apresentavam deslocamento do cristalino, osteoporose e tendência para desenvolvimento de trombos em artérias e veias. Assim, a associação entre níveis elevados de homocisteína e doenças humanas foi sugerido pela primeira vez em 1962 por CARSON & NEIL (CARSON & NEIL *apud* McCULLY, 2001). Nestes pacientes, os níveis elevados de homocisteína foram causados por defeitos em enzimas que bloqueavam o metabolismo da homocisteína.

Simultaneamente, casos semelhantes foram encontrados nos Estados Unidos, onde MUDD e colaboradores descobriram a cistationina-sintase, enzima dependente da vitamina B6 (MUDD *et al.*, 1983). A homocistinúria foi associada com doença oclusiva cardiovascular prematura, mesmo na infância, e 25% desses pacientes morriam antes dos 30 anos de eventos cardiovasculares. Em 1969, KILMER McCULLY, a partir de estudos em crianças com homocistinúria causada por diferentes alterações enzimáticas, foi o primeiro a sugerir que níveis aumentados de homocisteína constituíam fator de risco para aterosclerose, independentemente da causa subjacente (genética, dietética, tóxica ou hormonal) (McCULLY, 1969). Assim, propôs a “Teoria da Homocisteína na Aterosclerose” que relaciona a patogênese da doença na população geral às deficiências dietéticas da vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico e vitamina B<sub>6</sub> e, o uso dessas vitaminas, co-fatores do metabolismo da homocisteína, poderia reduzir o risco de doença cardíaca (McCULLY, 1998 , 2001). Entretanto, tanto o autor como a sua teoria foram amplamente rejeitados,

principalmente pelo conflito com a visão tradicional do papel do colesterol e das gorduras saturadas na aterogênese (McCULLY, 2001; PODELL, 2003). Por esta razão, a teoria da homocisteína foi ignorada e suprimida na década de 70, e o autor condenado ao ostracismo, inclusive com perda de local de trabalho e bolsas de pesquisa (LARKIN, 1998; PODELL, 2003).

WILCKEN & WILCKEN (1976) encontraram, em um estudo retrospectivo feito na Austrália, jovens e pessoas de meia-idade com infarto do miocárdio e níveis aumentados de homocisteína quando comparados com controles. Entretanto, apesar destes resultados, nenhum estudo epidemiológico foi realizado até o final dos anos 80. Neste período, BRATTSTROM e colaboradores, da Universidade de LUND, foram os que mais publicaram sobre homocisteína (PODELL, 2003). Em 1992, um grande estudo prospectivo, *Physicians Health Study*, mostrou que homens com níveis basais de homocisteína > 15,8 nmol/ml tiveram o triplo do risco para predizer o risco de desenvolver infarto do miocárdio, quando comparados com homens com homocisteína < 14,1 nmol/ml. A habilidade da homocisteína para predizer o risco continuou forte depois do ajustamento para outros fatores de risco (STAMPLER *et al.*, 1992). Depois da publicação do trabalho de STAMPLER *et al.* (1992), o número de citações sobre homocisteína, nos Estados Unidos, aumentou de modo significativo: de 12 em 1990 para 286 em 1999 (PODELL, 2003).

Segundo PODELL (2003), uma das explicações do longo intervalo para o início da pesquisa epidemiológica sobre homocisteína, foi a inexistência de métodos adequados para dosagem da substância em grande escala. Também, para o mesmo autor, o interesse de RENE MALINOW sobre a homocisteína contribuiu decisivamente para a sua inserção na pesquisa médica.

### 2.1.3 Aspectos Fisiológicos (absorção, distribuição, utilização e excreção)

Existe uma perda completa de enzimas para a biossíntese da vitamina B<sub>12</sub>, tanto nos animais como nas plantas. Assim, toda vitamina B<sub>12</sub> é produzida por síntese, pelas bactérias e outros microorganismos presentes no rumen, intestino, solo ou água (KAPADIA, 1995; HERBERT, 1996; SCOTT, 1997). Apesar de todos os animais apresentarem bactérias sintetizadoras de B<sub>12</sub> nos seus tratos gastrintestinais, principalmente cólons, não há absorção da vitamina B<sub>12</sub> através desse órgão (HERBERT, 2002). Nos mamíferos, a vitamina B<sub>12</sub> sintetizada pelas bactérias no rumen dos herbívoros entra na cadeia alimentar ao ser incorporada aos vários tecidos do animal, principalmente o fígado.

Foi desenvolvido um processo complexo, mas eficiente, que envolve várias fases, para extrair quantidades diminutas dessa vitamina presente nos alimentos (carne, fígado, ovos, produtos derivados do leite, peixe e mariscos) (KAPADIA, 1995; MARKLE, 1996; SCOTT, 1997; SEETHARAM & YAMMANI, 2003).

Na literatura há diversas revisões sobre o assunto (NEXO, 1994; KAPADIA, 1995; MARKLE, 1996; SCOTT, 1997; HERBERT, 2002; SEETHARAM & YAMMANI, 2003).

Há duas vias para a absorção da vitamina B<sub>12</sub>: processo ativo associado ao fator intrínseco e difusão passiva (KAPADIA, 1995; MARKLE, 1996; HERBERT, 1996; SCOTT, 1997; BAIK & RUSSEL, 1999; SEETHARAM & YAMMANI, 2003).

A primeira via é um processo ativo que requer um estômago intacto, fator intrínseco, enzimas pancreáticas e função normal do íleo terminal (BAIK & RUSSEL, 1999; ANDRES *et al.*, 2004).

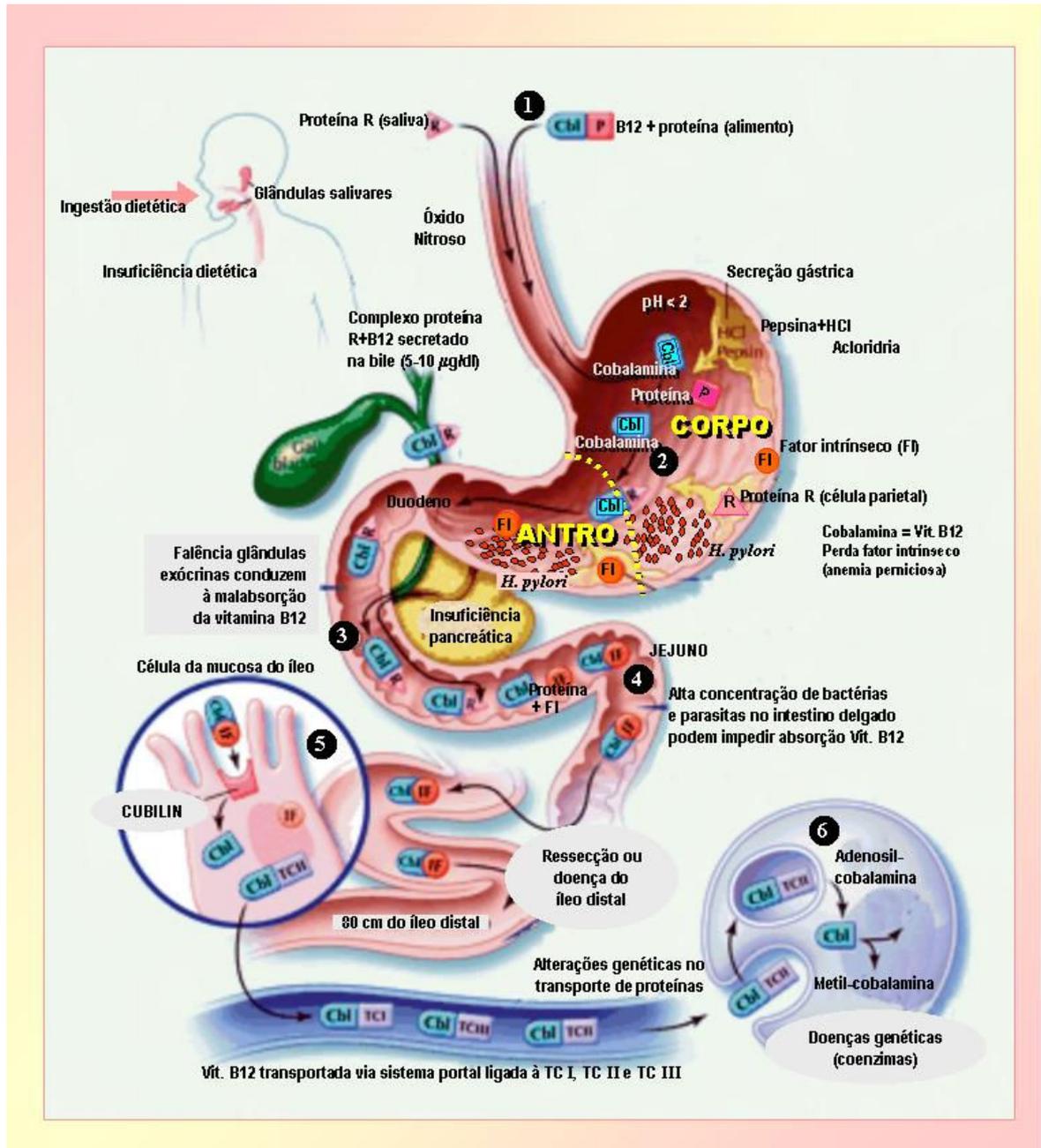


Figura 2.2: Aspectos fisiológicos e principais afecções associadas à deficiência da vitamina B<sub>12</sub> (moficada de ANDRÈS *et al.*, 2004)

- 1, Ingestão da vitamina B<sub>12</sub> ligada ao alimento; 2, Liberação da vit. B<sub>12</sub> do alimento e ligação com as proteínas R (complexo B<sub>12</sub> e R-proteínas); 3, Formação do complexo B<sub>12</sub>-FI; 4, Progressão do complexo B<sub>12</sub>-FI pelo jejuno; 5, Absorção do complexo B<sub>12</sub>-FI no íleo terminal (*Cubilin*); 6, Metabolismo intracelular da vitamina B<sub>12</sub>.

O mecanismo de separação da vitamina B<sub>12</sub> do alimento ainda não está totalmente explicado, em parte pela complexidade da molécula e sua concentração reduzida nos alimentos (HERBERT, 1996).

Inicialmente, no estômago, há liberação da vitamina B<sub>12</sub> das suas ligações das proteínas da dieta facilitada pela ação da pepsina, ácido clorídrico e agentes redutores como ácido ascórbico (KITANG & SCHJONSBY, 1987; SCOTT,1997). Ainda no estômago, a vitamina B<sub>12</sub> livre sofre competição para sua ligação entre duas proteínas que são o fator intrínseco e as proteínas R-ligadoras ou haptocorrinas (“R” significa rápida mobilidade eletroforética, distinguível do fator intrínseco) (SCOTT, 1997; BAIK & RUSSEL,1999; HERBERT, 2002; ERMENS *et al.*, 2003; SEETHARAM & YAMMANI, 2003).

Preferencialmente a vitamina B<sub>12</sub> livre é capturada e imediatamente ligada as proteínas R-ligadoras, R-proteínas ou haptocorrinas. Essas substâncias são uma mistura de glicoproteínas secretadas em grande quantidade pelas glândulas salivares e mucosa gástrica. Estão presente em maior concentração no estômago e tem alta afinidade pela vitamina B<sub>12</sub> no pH ácido desse órgão. Protegem a vitamina B<sub>12</sub> da desnaturação química no estômago com a formação de um complexo vitamina B<sub>12</sub>-R-ligadoras, também denominado complexo cobalamina-haptocorrina (MARKLE, 1996; HERRMANN & GEISEL, 2002; ERMENS *et al.*, 2003; SEETHARAM & YAMMANI, 2003).

O complexo cobalamina-haptocorrina é degradado no duodeno pela ação das enzimas pancreáticas e do pH alcalino com liberação da vitamina B<sub>12</sub>.

A vitamina B<sub>12</sub> livre é transferida exclusivamente para o fator intrínseco (FI) devido a sua alta afinidade no pH alcalino. O fator intrínseco é uma glicoproteína, com peso molecular de 43 a 60 kDa, secretada pelas células parietais da mucosa gástrica depois da estimulação pelo alimento (FESTEN, 1991; TOH *et al.*, 1997 SEETHARAM & YAMMANI, 2003).

Há formação de um complexo B<sub>12</sub>-FI, altamente estável, que é transportado até o íleo terminal. Neste local, ocorre a ligação do complexo-vitamina B<sub>12</sub>-FI com receptores específicos na membrana do íleo, *cubilin* e *megalín*, para ser absorvido por endocitose. Nesse processo, há necessidade de íons cálcio e pH neutro (SEETHARAM *et al.*, 1999; SEETHARAM & YAMMANI, 2003). Existe uma ampla circulação êntero-hepática da vitamina B12 com a reabsorção intestinal dependente do FI. Na ausência do fator intrínseco menos de 2% da vitamina B<sub>12</sub> ingerida é absorvida quando comparada com 70% de absorção na presença do FI (SCOTT, 1997).

A absorção da vitamina B<sub>12</sub>, por meio desse processo, é limitada. Uma série de estudos indica que a capacidade normal deste sistema é para absorver de 1,5 µg a 2,0 µg de vitamina B<sub>12</sub> por refeição, no máximo 3 µg por refeição. O sistema leva poucas horas para recuperar e pode absorver quantidade semelhante de vitamina B<sub>12</sub> como evento subsequente (HERBERT, 1996; SCOTT, 1997).

A vitamina B<sub>12</sub> pode ser absorvida no intestino delgado por difusão passiva independente da presença do fator intrínseco ou mesmo do íleo terminal íntegro (BERLIN *et al.*, 1968; ELIA, 1998; KUZMINSKI *et al.*, 1998). Quando há ingestão de grande quantidade de vitamina B<sub>12</sub> ou depois da saturação do sistema dependente

do FI, parte da vitamina B<sub>12</sub> pode ser absorvida através desse processo, a difusão passiva. Os valores variam, mas, aproximadamente, a taxa de absorção nesse processo é de 1% da quantidade ingerida (BERLIN *et al.*, 1968; SCOTT, 1997; BAIK & RUSSEL, 1999).

Depois da absorção do complexo vitamina B<sub>12</sub>-fator intrínseco dentro do enterócito, esse é degradado e a vitamina B<sub>12</sub> transferida para uma proteína ligadora, a transcobalamina II (TC II). Os eventos dentro do enterócito responsáveis por esse processo não estão totalmente esclarecidos (SEETHARAM, 1999; SEETHARAM & LI, 2000, BRADA *et al.*, 2001; SEETHARAM & YAMMANI, 2003). Depois da endocitose, o complexo FI-vitamina B<sub>12</sub> é processado nos lisossomos, com liberação da vitamina B<sub>12</sub> e fator intrínseco. A vitamina B<sub>12</sub> livre é transportada para fora dos lisossomos. Ainda há dúvidas sobre como acontece a entrada da vitamina B<sub>12</sub> na vesícula secretória que contém transcobalamina II para transporte. A transcobalamina II-cobalamina é secretada via membrana baso-lateral e entra na circulação portal aproximadamente depois de quatro horas. Existem diversas causas genéticas e adquiridas da malabsorção e consequente deficiência da vitamina B<sub>12</sub> durante esse trajeto (SEETHARAM & YAMMANI, 2003).

As proteínas de ligação plasmática para a vitamina B<sub>12</sub> são: transcobalamina II (TCII) e haptocorrinas ou R-ligadoras (transcobalamina I (TCI) e transcobalamina III (TCIII)). Entretanto, a ligação ocorre principalmente com a TCI e TCII. Na eletroforese uma parte do ponto isoelétrico do espectro da TC I foi denominada de transcobalamina III (TCIII) porém, a base para essa diferenciação é incerta e pode não constituir uma entidade real (MARKLE, 1996; CARMEL *et al.*, 2001; SEETHARAM & YAMMANI, 2003; ERMENS *et al.*, 2003).

A transcobalamina II (TCII) é a proteína de transporte fisiológico da vitamina B<sub>12</sub> reconhecida por receptores específicos em todos os tipos de células (SEETHARAM & LI, 2000). Tem peso molecular de 38kDa e meia-vida plasmática de 40 minutos a cinco horas. A forma saturada vitamina B<sub>12</sub> ligada a transcobalamina II é chamada de holotranscobalamina II, holotranscobalamina ou holoTC e a apotranscobalamina (apo-TC) é a proteína não saturada com cobalamina. É uma β-globulina plasmática sintetizada nas células endoteliais, hepatócitos e enterócitos (QUADROS *et al.*, 1999). Porém, somente 6 a 20% da vitamina B<sub>12</sub> plasmática total é ligada a transcobalamina II (holoTC). A maior parte da vitamina B<sub>12</sub> no sangue, cerca de 80%, é ligada a transcobalamina I (MARKLE, 1996; ROSENBLATT & WHITEHEAD, 1999; SEETHARAM & LI, 2000; CARMEL, 2003).

A transcobalamina I (TCI) é representante plasmática das glicoproteínas R-ligadoras da cobalamina. Essa glicoproteína tem peso molecular de 60 kDa e meia vida plasmática de 6 a 9 dias. A sua nomenclatura é confusa com denominações tais como: haptocorrina, cobalofilina, R-ligadora ou transcobalamina I/III. Sintetizada predominantemente pelas células mielóides, apresenta duas formas: rica em ácido siálico (produzida pelas células precursoras mielóides) e pobre em ácido siálico (produzida pelos granulócitos maduros). A maior parte da cobalamina no sangue é ligada na haptocorrina rica em ácido siálico devido a sua maior meia-vida. A sua forma saturada com cobalamina é indicada como holo-HC I e forma não saturada como apo-HC I (MARKLE, 1996; CARMEL, 1999, 2003; ERMERS *et al.*, 2003). É uma proteína circulante de armazenamento para vitamina B<sub>12</sub>, ligando-se a receptores de superfície celulares no fígado e outras células retículo-endoteliais. O seu papel não está claro, mas acredita-se que pode servir como “limpeza” para análogos da

cobalamina, potencialmente danosos, ao transportá-los para o fígado e secretá-los na bile (MARKLE, 1996; ERMERS *et al.*, 2003).

A absorção do complexo vitamina B<sub>12</sub>-transcobalamina II pelos tecidos é mediada por receptores nas superfícies celulares. O número de receptores da superfície celular varia e depende da necessidade intracelular dos tecidos (LINDEMANS *et al.*, 1989).

Depois da endocitose do complexo B<sub>12</sub>-transcobalamina II, a vitamina B<sub>12</sub> é liberada por proteólise e, no processo final, convertida nas formas ativas dessa vitamina, metilcobalamina e adenosilcobalamina. O metabolismo intracelular da cobalamina abrange uma sequência de eventos que incluem internalização, interconversão nas várias formas de cobalamina, distribuição entre citosol e mitocôndria e saída da cobalamina da célula (SEETHARAM & YAMMANI, 2003). Este tópico será abordado, com maiores detalhes, no item 2.1.3.1.

O complexo B<sub>12</sub>-transcobalamina é quase completamente removido depois da sua primeira passagem através dos tecidos, em particular o fígado. Os hepatócitos não contêm receptores para TCII e absorção da cobalamina no fígado é mediada pelas células endoteliais (ERMENS *et al.*, 2003). O fígado contém o maior conteúdo de vitamina B<sub>12</sub> do organismo com cerca de 2 a 3 mg armazenados no órgão (BAIK & RUSSEL, 1999; HERRMANN & GEISEL, 2002).

São necessários vários anos de carência dessa vitamina na dieta para o aparecimento de deficiência, considerando como 2,4 µg/dia a dose diária recomendada pela dieta de vitamina B<sub>12</sub> (CARMEL, 1997; HO *et al.*, 1999; BAIK & RUSSEL, 1999; HERRMANN & GEISEL, 2002).

A vitamina B<sub>12</sub> e análogos da vitamina B<sub>12</sub> são secretados pelo fígado na bile na taxa de 1,4-9,0 µg/dia (SCOTT, 1997; BAIK & RUSSEL, 1999). Cerca de dois terços da vitamina B<sub>12</sub> secretada na bile é reabsorvida pelo intestino. Esse processo é dependente da presença do fator intrínseco. Na ausência do fator intrínseco toda a vitamina B<sub>12</sub> da bile é excretada nas fezes não sendo reciclada. Na anemia perniciosa (ausência do fator intrínseco), o desenvolvimento da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> ocorre rapidamente (dois a três anos) quando se compara com o tempo necessário para as outras causas de deficiências dessa vitamina (FESTEN, 1991; CARMEL, 1997; HEERMANN & GEISEL, 2002).

Há perda de 0,1 a 0,2% da vitamina B<sub>12</sub> por dia, dependente do tamanho das reservas corporais. As perdas fecal e urinária diminuem quando há redução no estoque de B<sub>12</sub>. Essa perda ocorre principalmente por meio das fezes. As fontes de vitamina B<sub>12</sub> fecal são: vitamina B<sub>12</sub> não absorvida do alimento ou bile, descamação de células, secreções gástricas e intestinais e a vitamina B<sub>12</sub> sintetizada por bactérias do cólon (SCOTT, 1997; BAIK & RUSSEL, 1999).

Quando a vitamina B<sub>12</sub> circulante excede a capacidade de sua ligação no sangue, o excesso é excretado na urina, como ocorre depois de uma injeção dessa vitamina (SCOTT, 1997; BAIK & RUSSEL, 1999).

### ***2.1.3.1 Aspectos Bioquímicos da Deficiência da Vitamina B<sub>12</sub> : Homocisteína e Ácido Metilmalônico***

A vitamina B<sub>12</sub> funciona como coenzima em duas importantes reações bioquímicas nos mamíferos: (1) conversão da homocisteína para metionina (enzima: metionina-sintase e coenzima: metilcobalamina (MeCbl) e (2) conversão da metilmalonil-CoA para succinil-CoA (enzima: metilmalonil-CoA-mutase e coenzima:

5-deoxiadenosilcobalamina (AdoCbl) (KAPADIA, 1995; MARKLE, 1996; MAYER *et al.*, 1996; REFSUM *et al.*, 1998; SCOTT & WEIR, 1998; SELHUB, 1999; FONSECA *et al.*, 1999; HERRMANN *et al.*, 2002 ; MEDINA *et al.*, 2001; DURAND *et al.*, 2001; FENECH, 2001; BRIDDON, 2003; KONING *et al.*, 2003; MASON, 2003; STANGER *et al.*, 2003; REFSUM *et al.*, 2004).

Não é objetivo dessa revisão o detalhamento bioquímico das reações, porém serão citados os seus principais aspectos.

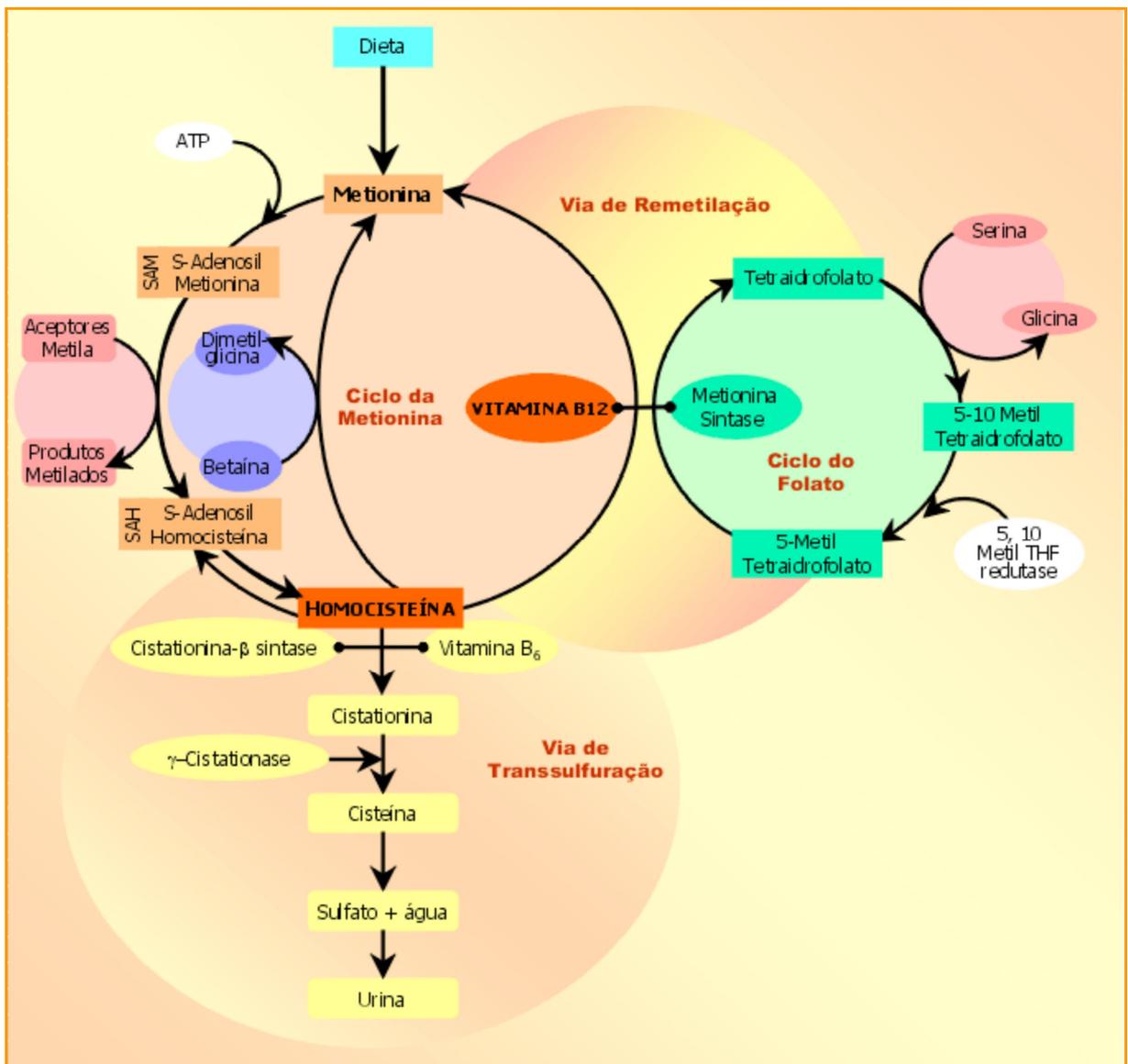


Figura 2.3: Metabolismo da homocisteína e vitamina B<sub>12</sub> – metilcobalamina (modificado de MAYER *et al.*, 1996)

A primeira reação com participação da vitamina B<sub>12</sub> (Figura 2.3) é a conversão da homocisteína para metionina (aminoácido essencial proveniente das proteínas da dieta) que ocorre no citosol (KAPADIA, 1995; MARKLE, 1996).

Na etapa inicial, a metionina, por meio da ação da enzima metionina-adenosiltransferase e do ATP, é convertida para o composto intermediário S-adenosilmetionina (SAM), que é importante e eficiente doador metil para várias reações essenciais de metilação catalizadas pelas metiltransferases presentes em todas as células (FINKELSTEIN, 1990; FINKELSTEIN & MARTIN, 2000). Essas reações de metilação são essenciais para formação e ativação de muitas biomoléculas tais como: creatina, fosfatilcolina, ácidos nucleicos, proteínas, fosfolípedes e neurotransmissores (BRIDDON, 2003; REFSUM *et al.*, 1998; SELHUB, 1999).

A S-adenosilmetionina (SAM) é demetilada para S-adenosilhomocisteína (SAH) como produto dessas reações de transmetilação (SELHUB, 1999). A S-adenosilhomocisteína (SAH) é hidrolizada pela ação da S-adenosilhomocisteína-hidrolase com a formação da homocisteína (Hcy) e adenosina (BRIDDON, 2003, SELHUB, 1999; REFSUM *et al.*, 1998).

A homocisteína (Hcy) formada, produto intermediário do metabolismo da metionina, está presente no plasma em concentrações reduzidas (5 a 15 µmol/l) (REFSUM *et al.*, 1998).

Essa substância possui dois caminhos relacionados à sua metabolização: ciclo de remetilação para fazer a síntese da metionina novamente ou a via de transsulfuração para excreção da cisteína e sulfato na urina (MAYER *et al.*, 1996;

REFSUM *et al.*, 1998; SELHUB, 1999; SCOTT & WEIR, 1998; SIPANUK, 2004). Recentemente, foi proposto uma via alternativa para a conversão da homocisteína com a formação da homocisteína-tiolactona. Esse produto é formado quando não funciona adequadamente a metilação da homocisteína-tRNA para metionina-tRNA, como na presença de células malignas defectivas no metabolismo da metionina. A homocisteína-tiolactona é quimicamente reativa e pode induzir lesão nas proteínas através da homocisteinilação dessas substâncias. Dados de estudos experimentais sugerem que essa conversão metabólica pode ter participação na lesão vascular induzida pela homocisteína (MEDINA *et al.*, 2001; JAKUBOWSKI *et al.*, 2000; JAKUBOWSKI, 2004).

No organismo há um balanço estrito entre a formação e excreção da homocisteína (Hcy), porque seu metabolismo é a intercessão dessas duas vias. Aproximadamente metade da homocisteína disponível é metabolizada através da remetilação (REFSUM *et al.*, 1998; GREEN & MILLER, 1999). Porém, na presença de sobrecarga de metionina, como após abundante ingestão protéica, predomina a via de transsulfuração sobre a remetilação. Ao contrário, no jejum ou redução de ingestão protéica, predomina o ciclo de remetilação sobre a transsulfuração (REFSUM *et al.*, 1998; FONSECA *et al.*, 1999).

O ciclo de remetilação da homocisteína para a síntese da metionina novamente pode ocorrer por meio de duas reações alternativas, porém prevalece aquela que requer vitamina B<sub>12</sub> e folato (GREEN & MILLER, 1999).

A remetilação da homocisteína é catalizada pela metionina-sintase que necessita do substrato 5-metiltetraidrofolato (5-MeTHF ou MTHF) para doador metil e da

metilcobalamina (MeCbl) como co-fator. Há a formação de metionina e tetraidrofolato (THF) uma reação que ocorre em todos os tecidos. O metiltetraidrofolato (MTHF), forma circulante do folato, é fornecido pelo ciclo do folato por meio da ação da enzima 5-metiltetraidrofolato-redutase (MTHFR) sobre o 5,10-metilenetetraidrofolato.

A metionina-sintase representa o ponto de convergência entre folato, vitamina B<sub>12</sub> e homocisteína, assim as complexidades da interação entre vitamina B<sub>12</sub> e folato são uma consequência da participação comum na reação da metionina-sintase (SCOTT & WEIR, 1998; HOFFBRAND & HERBERT, 1999).

A outra reação de remetilação, geralmente menor e independente da vitamina B<sub>12</sub>, ocorre principalmente no fígado, onde a betaína serve como doador metil para a reação catalizada pela enzima betaina-homocisteína-metiltransferase (BHM) formando dimetilglicina e metionina (SIPANUCK, 2004).

A via de transsulfuração (Figura 2.3) é responsável pelo catabolismo e excreção da homocisteína. A homocisteína é condensada irreversivelmente com a serina para formar cistationina (CTT). Essa reação é catalizada pela cistationina-β-sintase (CBS) e, também é dependente da piridoxal-5'-fosfato (metabólito ativo da vitamina B<sub>6</sub>) como co-fator. A cistationina (CTT) é hidrolizada para cisteína (CYS) e α-acetobutirato pela enzima γ-cistationase, também, dependente da vitamina B<sub>6</sub>. Finalmente, a cisteína (CYS) é convertida em sulfato e excretado na urina. Excesso de cisteína é oxidado para taurina, fosfato inorgânico excretado na urina (SIPANUCK, 2004).

A capacidade do corpo para discriminar entre as vias de remetilação e transsulfuração, uma maneira de adaptação às quantidades variáveis de metionina na dieta, implica na existência de uma coordenação integrada entre elas (SELHUB, 1999). As evidências experimentais sugerem que essa coordenação é obtida com a utilização de dois mecanismos: S-adenosilmetionina (SAM) como efetor enzimático e a regulação da concentração intracelular do próprio composto S-adenosilmetionina (SAM).

Como efetor enzimático, o S-adenosilmetionina (SAM) age como inibidor alostérico da metilenetetraidrofolato-redutase (MTHFR) e um ativador da cistationina- $\beta$ -sintase (CBS). Assim, suprime a síntese do substrato N-5-metiltetraidrofolato necessário para a remetilação e, também, promove a reação inicial da transsulfuração sintetizando a cistationina. Esse produto, SAM, é importante determinante para a homocisteína por meio de mecanismo de *feed-back* regulador para 5,10-metilenetetraidrofolato-redutase (MTHFR) e cistationina- $\beta$ -sintase (CBS) (SELHUB, 1999; SIPANUCK, 2004).

Na regulação intracelular da concentração de S-adenosilmetionina (SAM) há participação da metionina. Na presença de alteração da metionina intracelular, particularmente devido a ingestão dietética, a taxa de síntese do SAM será afetada baseada na atividade das enzimas sintetases do SAM (SAM-sintase e SAH-hidrolase). O excesso dos grupos metil do SAM são removidos via glicina-metil-transferase, abundante no fígado, com a conversão da glicina para sarcosina. Praticamente, a glicina-metil transferase não é afetada pela inibição do SAH, mas é inibida pelos níveis aumentados de N-5-metiltetraidrofolato (SELHUB, 1999; SIPANUCK, 2004).

Quando a dieta é rica em metionina ou existe uma sobrecarga desse aminoácido, a SAM-sintetase rapidamente converte a metionina para SAM. O aumento da concentração intracelular da S-adenosilmetionina (SAM) está associado com a inibição da metilenetetraidrofolato-redutase (MTHFR) resultando em supressão da síntese do 5-metiltetraidrofolato e permitindo a ação da enzima glicina-N-metiltransferase (GNMT) e ativação da cistationina- $\beta$ - sintase (CBS). Como consequência há aumento da taxa de catabolismo da homocisteína devido ao direcionamento do metabolismo para a via de transsulfuração. Quando existe redução no suprimento dietético da metionina, a concentração da S-adenosilmetionina (SAM) é insuficiente para inibição da metilenetetraidrofolato-redutase (MTHFR) resultando em elevação na taxa de produção do 5-metiltetraidrofolato. O aumento da concentração dessa substância produz maior disponibilidade do substrato para a remetilação da homocisteína. Há inibição da glicina-N-metiltransferase (GNMT) no fígado promovendo a conservação da S-adenosilmetionina (SAM). Também, no fígado, uma proporção substancial de homocisteína é remetilada pela betaína-homocisteína-metiltransferase (BHMT) (SELHUB, 1999; SIPANUCK, 2004).

Na deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, uma das consequências bioquímicas é a insuficiência da metilcobalamina (MeCbl) produzindo inibição da remetilação da homocisteína e indução da “armadilha” para o 5-metiltetrahidrofolato ou retenção do 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF), também denominado de “armadilha do folato”. A concentração aumentada do folato inibe a reação de transmetilação produzindo aumento dos níveis do s-adenosilmetionina (SAM). Assim, as

concentrações elevadas do SAM ativam a via de transsulfuração e, finalmente são excretados na urina (BRIDDON, 2003).

O aumento da concentração intracelular da homocisteína promove alterações, ainda não totalmente esclarecidas, tais como: na morfologia vascular, perda da função endotelial antitrombótica e indução de substâncias favoráveis à coagulação. Também, o estresse oxidativo da substância colabora com as alterações nos vasos e na coagulação (STANGER *et al.*, 2003; PERNA *et al.*, 2003; KONING *et al.*, 2003; STANGER *et al.*, 2003; JAKUBOWSKI, 2004).

A elevação da homocisteína é um indicador sensível da deficiência clínica da cobalamina (ALLEN *et al.*, 1990; LINDEBAUM *et al.*, 1990; SAVAGE *et al.*, 1994). Há aumento precoce dos seus níveis precedendo os sintomas, e com acentuação da deficiência, também, maior concentração plasmática da substância. Porém, a normalização dos níveis plasmáticos só acontece com utilização da cobalamina ou vitamina B<sub>12</sub> (CARMEL, 2003). Assim, como indicador da deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, a homocisteína tem, como desvantagem, pouca especificidade porque no idoso pode estar aumentada nas deficiências do ácido fólico, vitamina B<sub>6</sub> e em outras condições (alteração renal, determinados medicamentos, hábitos de vida não saudáveis e algumas afecções, como hipotireoidismo) (DIEKMAN *et al.*, 2001; INGENBLEEK *et al.*, 2002; ARONOW, 2003; BRIDDON, 2003; ROGERS *et al.*, 2003; CARMEL *et al.*, 2003; STRANGER *et al.*, 2003, PANAGIOTAKOS *et al.*, 2004; MINA *et al.*, 2004; REFSUM *et al.*, 2004).

Ingestões inadequadas das vitaminas B<sub>12</sub> e do ácido fólico podem ser responsáveis por dois terços de todos os casos de aumento da homocisteína (SELHUB *et al.*,

1993). Diversos países, como Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, Chile, dentre outros, vem fortificando os alimentos com ácido fólico, desde 1998, inicialmente para redução de defeitos do tubo neural (STANGER *et al.*, 2003; JOHNSON *et al.*, 2003; LUCOCK, 2004; MOAT *et al.*, 2004). Posteriormente, houve extensão do uso do folato em alimentos fortificados para outros problemas, como o aumento da homocisteína (LUCOCK, 2004). A homocisteína plasmática total (tHcy) é um marcador sensível das deficiências vitaminas B<sub>12</sub> e do ácido fólico (SAVAGE *et al.* 1994; KLEE, 2000) .

Contudo, resultados de estudos recentes, em populações utilizando alimentos fortificados com ácido fólico, mostraram deficiência de vitamina B<sub>12</sub> e insuficiência renal como os maiores determinantes para o aumento da concentração da homocisteína (JOHNSON *et al.*, 2003). Existe significativa correlação inversa entre concentrações de homocisteína e as vitaminas B<sub>12</sub>, ácido fólico e B<sub>6</sub>.

A homocisteína é fator de risco independente para doença cardiovascular (REFSUM *et al.*, 1998; GRIEND *et al.*, 2000; ALEMAN *et al.*, 2001; DE BREE *et al.*, 2002; ARONOW, 2003; KONING *et al.*, 2003; MERKEL, 2004). Como citado anteriormente, para 5 µmol/l de aumento na concentração plasmática da homocisteína há um aumento correspondente de aproximadamente 40% para desenvolvimento de doença arterial coronariana e 49% de aumento de todas as causas de mortalidade em pessoas de 65 a 72 anos (BOUSHEY *et al.*, 1995; VOLLSET *et al.*, 2001). Elevação nas concentrações de homocisteína de intensidade leve (15-20 µmol/l) e moderada (25-30 µmol/l) são fatores independentes para acidente vascular, doença coronariana ou arterial periférica (REFSUM *et al.*, 1998; ARONOW, 2003).

O aumento na concentração de homocisteína, em um estudo, constituiu-se num forte fator de risco independente para o desenvolvimento de demência e doença de Alzheimer (SESDARHI *et al.*, 2002)

Em outras faixas etárias a homocisteína plasmática total (tHcy) pode estar aumentada, como nos defeitos congênitos, gravidez e alterações psiquiátricas (STRANGER *et al.*, 2003; REFSUM *et al.*, 2004).

Outra consequência da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> é a anemia macrocítica, com alterações megaloblásticas na medula óssea. Essas anormalidades morfológicas são encontradas na depleção tecidual grave dessa vitamina e são idênticas às da deficiência de ácido fólico (ZITOUN & ZITOUN, 1999). Os mecanismos bioquímicos envolvidos neste processo ainda não estão completamente compreendidos (HOFFBRAND & HERBERT, 1999).

A segunda reação com a participação da vitamina B<sub>12</sub> consiste na conversão da metilmalonil-CoA para succinil-CoA (KAPADIA, 1995; MARKLE, 1996; ELIN & WINTER, 2001). É uma etapa crítica no metabolismo do propionato. (Figura 2.4) e ocorre dentro da mitocôndria.

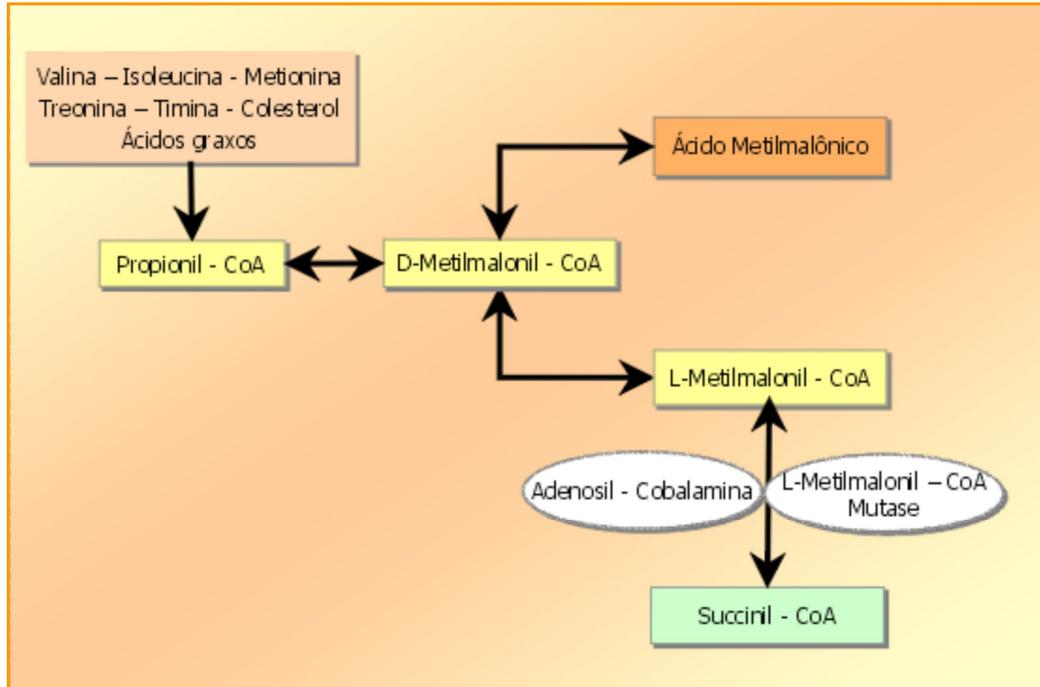


Figura 2.4: Metabolismo da adenosilcobalamina e ácido metilmalônico (modificado de KAPADIA , 1995)

Vários compostos como aminoácidos essenciais (isoleucina, valina, metionina, treonina), colesterol e ácidos graxos são metabolizados formando o propionil-CoA. O propionil-CoA é convertido para D-metilmalonil-CoA através da ação da propionil-CoA carboxilase, ATP,  $Mg^{++}$  e biotina. O D-metilmalonil-CoA é isomerizado para L-metilmalonil-CoA via metilmalonil-CoA racemase. A adenosilcobalamina é essencial para a conversão do L-metilmalonil-CoA para succinil-CoA, catalizada pela enzima metilmalonil-CoA mutase. O succinil-CoA, produto final da via do ácido propiônico e do metabolismo do ácido metilmalônico entra no ciclo de Krebs e, via piruvato, pode ser glucogênico. Juntamente com a glicina, o succinil-CoA é um integrante da síntese do heme (KAPADIA, 1995). Em indivíduos saudáveis, 70% do ácido metilmalônico (MMA) é metabolizado em produtos desconhecidos e, aproximadamente, 30% do MMA é excretado na urina (MARCELL *et al.*, 1985).

Na deficiência da vitamina B<sub>12</sub> há decréscimo da conversão do L-metilmalonil-CoA para succinil-CoA. A elevação do L-metilmalonil-CoA aumenta a concentração do D- metilmalonil-CoA e, subsequentemente, a hidrolase converte o D-metilmalonil-CoA para ácido metilmalônico (MMA) que tem as suas concentrações elevadas nessa deficiência. O acúmulo do ácido metilmalônico e do ácido propiônico produzem substratos anormais para a síntese de ácidos graxos resultando em substâncias anormais que podem ser incorporadas dentro da bainha de mielina (GREEN & KINSELLA, 1995).

A elevação do ácido metilmalônico (MMA) é um marcador sensível para a deficiência clínica da cobalamina como a homocisteína, porém é mais específico o que favorece a sua utilização no diagnóstico da deficiência da cobalamina (SAVAGE *et al.*,1994). Entretanto, há outras causas, algumas ainda não bem compreendidas para a elevação do ácido metilmalônico (MMA). A alteração do funcionamento renal tem influência importante na sua concentração (CARMEL *et al.*, 2003; SCHNEEDE *et al.*, 2003).

Existem limitações para a sua utilização rotineira e as maiores são de ordem prática: complexidade da metodologia, alto custo, disponibilidade limitada e intervalos de referência ainda não bem definidos para os níveis séricos do ácido metilmalônico. Além do mais, continuam a ser controversos e necessitam cautela quando da interpretação dos dados, principalmente em publicações antigas (CARMEL *et al.*, 2003; SCHNEEDE, 2003; BRIDDON, 2003).

### 2.1.4 Causas da deficiência da vitamina B<sub>12</sub>

As deficiências de vitamina B<sub>12</sub>, no idoso, são devidas em grande parte, à síndrome de malabsorção da vitamina B<sub>12</sub> ligada ao alimento e anemia perniciosa (GOOR *et al.*, 1995; LOEW *et al.*, 1999; HERBERT, 2002; DHARMARAJAN *et al.*, 2003; OH & BROWN, 2003; MARKLE, 2004; ANDRES *et al.*, 2004).

A anemia perniciosa já foi considerada como a manifestação mais comum da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> (PRUTHI & TEFFERI, 1994). Atualmente é responsável por pequena porcentagem dos casos (CARMEL, 1997; CARMEL *et al.*, 1997, ANDRES *et al.*, 2004).

Em um estudo realizado por CARMEL (1996), foi encontrada prevalência de 1,9% casos de anemia perniciosa sem prévio diagnóstico, em 729 pessoas com mais de 60, anos residindo em uma comunidade. Em diversos estudos sobre a deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, realizados por ANDRES *et al.* (2004), a anemia perniciosa foi responsável por 15 a 20% dos casos.

Para CARMEL *et al.* (1997), essa afecção é responsável por 10% dos todos os casos de níveis reduzidos de cobalamina. Tem aumento da incidência com a idade e, quando do seu diagnóstico, a média de idade é 60 anos. Apresenta maior proporção de mulheres acometidas em relação aos homens, respectivamente, de 5:1 (BAIK & RUSSEL, 1999).

A anemia perniciosa é o estágio final da gastrite auto-imune (gastrite crônica atrófica tipo A) com comprometimento do fundo e corpo do estômago (DIXON *et al.*, 1996; TOH *et al.*, 1997). Nessa afecção, a deficiência da vitamina desenvolve-se por

meio de mecanismos, tais como: auto-anticorpos para célula parietal e fator intrínseco. Na patogênese da gastrite tipo A foi demonstrado que  $H^+ / K^+ -ATPase$  é o antígeno reconhecido pelos auto-anticorpos para células parietais que causam a sua perda. A destruição progressiva dessas células produz alteração na produção do fator intrínseco. Também, existem anticorpos bloqueadores no suco gástrico que podem se fixar no sítio de ligação da vitamina  $B_{12}$  com fator intrínseco e impedir a formação do complexo FI-vitamina  $B_{12}$ . Os mecanismos imunológicos que permitem o início e progressão da resposta da célula T para a  $H^+ / K^+ -ATPase$  ainda não estão esclarecidos (TOH *et al.*, 1997; JAMES, 2003).

A presença de autoanticorpos para células parietais ocorre em 90% dos pacientes com anemia perniciosa, também em 30% de parentes de primeiro grau desses com anemia perniciosa e, em pacientes com outras doenças auto-imunes (tiroidite de Hashimoto, doença de Graves, doença de Addison, síndrome de Sjogren, vitiligo, *diabetes mellitus* tipo 1, miastenia gravis, síndrome de Lambert-Eaton) (CARETHERS, 1988; TOH *et al.*, 1997; ANDRES *et al.*, 2004).

Existem dois tipos de anticorpos para o fator intrínseco, respectivamente, I e II. O tipo I bloqueia a ligação do fator intrínseco com a vitamina  $B_{12}$  e ocorre em 70% dos pacientes com anemia perniciosa. O tipo II liga-se ao complexo FI-vitamina  $B_{12}$  e impede sua fixação no receptor da mucosa do íleo. Está presente em 35 a 40% dos pacientes com anemia perniciosa, porém raramente ocorre na ausência do tipo I (TOH *et al.*, 1997). Os anticorpos para fator intrínseco são mais específicos do que os anticorpos para célula parietal (TOH *et al.*, 1997).

Na ausência do fator intrínseco, menos de 2% da vitamina B<sub>12</sub> ingerida é absorvida, comparada com 70% de absorção quando esse está presente (STOPECK, 2000).

Existem outros achados na anemia perniciosa como, acloridria, redução sérica do pepsinogênio I, da relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II e hipergastrinemia devido a hiperplasia das células produtoras de gastrina (TOH *et al.*, 1997; BAIK & RUSSEL, 1999).

Vários estudos mostraram que a anemia perniciosa é a maior causa de anemia megaloblástica (STABLER & ALLEN, 2004).

A síndrome de malabsorção da vitamina B<sub>12</sub> ligada ao alimento é a causa mais frequente de deficiência de vitamina B<sub>12</sub> no idoso, com prevalência de aproximadamente 40% nessa faixa etária (CARMEL,1995; CARMEL,1997; CARMEL *et al.*, 1997). Caracteriza-se pela inabilidade da liberação da vitamina B<sub>12</sub> das suas ligações com as proteínas do alimento, tornando a vitamina B<sub>12</sub> (cobalamina), proveniente do alimento, indisponível para o mecanismo de absorção ligado ao fator intrínseco. Porém, a forma livre dessa vitamina é totalmente absorvida (CARMEL, 1995, CARMEL, 1997; CARMEL, 2000; STOPECK, 2000). O teste de Schilling e outros testes não são capazes de identificá-la porque medem somente a habilidade de absorver a vitamina B<sub>12</sub> livre (CARMEL, 1997). Foi definida inicialmente por DORCHERHOLMEN & SWAIN (1973) e, posteriormente, CARMEL (1995) caracterizou melhor essa afecção. São causas bem documentadas da malabsorção ligada à proteína: gastrectomia parcial, vagotomia, gastrite atrófica e drogas supressoras da secreção ácida usadas por tempo prolongado (mais de 12 meses) (DORCHERHOLMEN & SWAIN, 1973; STREETER *et al.*, 1974; RUSCIN *et al.*, 2002; VALUCK & RUSCIN, 2004).

O *H. pylori* é causa reconhecida de gastrite atrófica tipo B. Estudos recentes tem sugerido que o tratamento da infecção pode melhorar os níveis reduzidos de cobalamina (KAPTAN *et al.*, 2000; AVCU *et al.*, 2001; SERIN *et al.*, 2002).

Também, a presença de super-população bacteriana no estômago e intestino delgado é causa importante de deficiência de cobalamina no idoso. A acloridria está frequentemente associada com o aumento de bactérias no estômago e intestino delgado assim como a redução da motilidade intestinal (SUTER, 1991; LEWIS *et al.*, 1999).

A malabsorção da vitamina B<sub>12</sub> ligada ao alimento apresenta diversos mecanismos não totalmente compreendidos, porém a disfunção gástrica é vista, por vários autores, como o ponto principal (CARMEL, 1995; CARMEL, 1997; CARMEL *et al.*, 1997; CARMEL, 2000; COHEN *et al.*, 2000; CARMEL *et al.* 2001; ANDRES *et al.*, 2003; ANDRES *et al.*, 2004). Entretanto, a malabsorção da cobalamina alimentar pode ocorrer em pacientes com função gástrica aparentemente normal, com ênfase naqueles com infecção por *H. pylori* (COHEN *et al.*, 2000).

Determinados medicamentos, de classes farmacológicas distintas, podem produzir redução dos níveis séricos de cobalamina por meio de mecanismos diversos. O óxido nitroso inibe a metionina-sintase e L-metilmalonil-CoA mutase e pode produzir muitos dos achados clínicos da deficiência aguda da vitamina B<sub>12</sub> resultante da sua inativação (WEIMANN, 2003).

Há evidências da redução da absorção de vitamina B<sub>12</sub> e nos níveis séricos dessa vitamina em aproximadamente 10% dos pacientes com *diabetes mellitus* tipo 2 usando metformin regularmente (CARLSEN *et al.*, 1997). O cálcio iônico é

obrigatório para a ligação do complexo B<sub>12</sub>-fator intrínseco com receptores de superfície da mucosa ileal e, o metformin compete com cálcio para a membrana celular da mucosa. Essa forma de redução da vitamina B<sub>12</sub> pode ser revertida com a administração de suplemento oral de cálcio (BAUMAN *et al.*, 2000).

As drogas anti-epilépticas, ácido valpróico e carbamazepina, aumentam os níveis séricos de homocisteína por meio da ação sobre ácido fólico e, possivelmente, por ação, também sobre a vitamina B<sub>12</sub>. Porém, os mecanismos dessas alterações ainda são desconhecidos (TAMURA *et al.*, 2000). Assim, os dados da literatura sobre os níveis séricos da vitamina B<sub>12</sub>, em pacientes utilizando drogas anticonvulsivantes, são controversos: podem estar reduzidos, normais ou aumentados (KARABIBER *et al.*, 2003). Com relação ao fenobarbital existe decréscimo das vitaminas B<sub>12</sub> e B<sub>6</sub>, além da elevação dos níveis de homocisteína e, a carbamazepina pode reduzir a vitamina B<sub>12</sub> (SCHWANINGER *et al.*, 1999).

Por intermédio de diversos mecanismos, determinados medicamentos produzem alterações na absorção da vitamina B<sub>12</sub>, tais como: neomicina, ácido para-aminosalicílico, colestiramina, clofibrato, colchicina e tetraciclina (JACOBSON, 1960; HEIMVAARA & PALVA, 1964; WEBB *et al.*, 1968; WATKINS *et al.*, 1985; KUNCL & GEORGE, 1987).

Outras causas menos frequentes da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> no idoso incluem: doença de Crohn, doença celíaca, pancreatite crônica, enterite por radiação, linfoma, doença de Whipple, síndrome de Zollinger-Ellison e tuberculose intestinal (LAMBERT *et al.*, 1996; DAHELE & GHOSH, 2001; BAIK & RUSSEL, 1999; OH & BROWN, 2003; DHARMARAJAN *et al.*, 2003).

A deficiência de vitamina B<sub>12</sub> devida a dieta inadequada não é frequente, principalmente em idosos de países desenvolvidos (BAIK & RUSSEL, 1999). Alguns estudos relataram que a ingestão da vitamina B<sub>12</sub> não está reduzida nessa população (HANGER *et al.*, 1991; HOWARD *et al.*, 1998; STABLER & ALLEN, 2004). Entretanto, foi evidenciado níveis elevados de ácido metilmalônico associado a baixa ingestão de alimentos de origem animal em idosos fragilizados que recebiam alimentos por intermédio de serviços de nutrição (JOHNSON *et al.*, 2003).

São citados como responsáveis por uma dieta insatisfatória e pobre, em grupos específicos, alguns dos seguintes fatores: proventos insatisfatórios, isolamento social, condições precárias de saúde (dentição insatisfatória, alterações cognitivas) e preparo dos alimentos (HALLER, 1999). Há poucas informações disponíveis sobre a deficiência de B<sub>12</sub> nas áreas em desenvolvimento no mundo (TUCKER & BURANAPIN, 2001; STABLER & ALLEN, 2004). Também, a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> pode acontecer em vegetarianos estritos (HERRMANN & GEISEL, 2002).

As causas, com menor frequência, incluem: deficiência da transcobalamina I e infestação por *Diphyllobothrium latum* (ADCOCK & McKNIGHT, 2002; BAIK & RUSSEL, 1999).

### **2.1.5 Aspectos Clínicos e Laboratoriais.**

O espectro de alterações causadas pela deficiência da vitamina B<sub>12</sub> é amplo, variável e complexo (CARETHERS, 1988; CARMEL, 1988; NEXO *et al.*, 1994; MARKLE, 1996; BAIK & RUSSEL, 1999; WARD, 2002; OH & BROWN, 2003; DHARMARAJAN *et al.*, 2003; BRIDDON, 2003; CARMEL, 2003; ANDRÈS *et al.*, 2004).

Inclui apresentações clínicas extremamente diversificadas, tais como: alterações hematológicas, neuropsiquiátricas, vasculares, na imunidade humoral de idosos imunocompetentes e até mesmo influência na estrutura óssea de idosas fragilizadas (LINDENBAUM *et al.*, 1988; STABLER *et al.*, 1990; HEALTON *et al.*, 1991; FATA *et al.*, 1996; DHNOUKSHE-RUTTEN *et al.*, 2003).

Assim, quadros típicos, tanto da anemia perniciosa como das alterações neurológicas, como a degeneração combinada sub-aguda da medula espinhal, tornaram-se cada vez mais raros (STABLER *et al.*, 1990; FINE & SORIA, 1991; HEALTON *et al.*, 1991; ZITOUN & ZITOUN, 1999; SAPERSTEIN *et al.*, 2003).

Devido ao fato do diagnóstico da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> ser realizado antes da exaustão do estoque, seu reconhecimento tornou-se complexo, principalmente pela existência dos estados sub-clínicos, leves ou atípicos nessa deficiência (CARMEL, 1990; CARMEL, 1995; CARMEL, 1997; CARMEL, 2000; CARMEL *et al.*, 2003).

HERBERT (1987) propôs um modelo composto de quatro estádios para a deficiência da vitamina B<sub>12</sub>. Os estádios I e II estão associados somente com alterações bioquímicas, porém os estádios III e IV são caracterizados por manifestações clínicas e metabólicas. No estágio I a depleção sérica é indicada pela vitamina B<sub>12</sub> reduzida na transcobalamina II (holoTC II); no estágio II acontece a depleção celular: decréscimo da holo TC II e da holo-haptocorrina e concentrações reduzidas de vitamina B<sub>12</sub> no eritrócito. No estágio III há redução da síntese do DNA com aumento das concentrações séricas da homocisteína e do ácido metilmalônico. No estágio IV existe presença da anemia megaloblástica.

Atualmente, aceita-se a existência de cinco estádios para essa afecção, sendo normal o estágio I e os demais, estádios II a V, balanço negativo da vitamina B<sub>12</sub> até a deficiência grave; todavia, ainda não está estabelecido o estágio onde surgem as alterações neurológicas (SWAIN, 2002).

A definição clínica da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> é baseada em diversos critérios, que podem variar muito entre as diferentes especialidades médicas. O mais simples utiliza a dosagem séria da vitamina B<sub>12</sub>, pressupondo que essa reflita o *status* intracelular da vitamina B<sub>12</sub> nos diferentes órgãos, porém isso nem sempre ocorre, como visto no sistema nervoso (SCHNEEDE, 2003). Na prática clínica o diagnóstico é baseado na combinação de sintomas clínicos típicos e acompanhados de testes bioquímicos (CARETHERS, 1988; HOLLELAND *et al.*, 1999; OH & BROWN, 2003; DHARMARAJAN *et al.*, 2003; WOLTERS *et al.*, 2004; ANDRES *et al.*, 2004).

CARMEL (1990, 2000) estabeleceu critérios para a deficiência sub-clínica da vitamina B<sub>12</sub> e fez a comparação entre esse quadro e a deficiência clínica (CARMEL *et al.*, 2003) (Tabela 2.1).

Para NEXO *et al.* (1994), a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> ilustra o complexo inter-relacionamento entre quadro clínico, mecanismos fisiopatológicos e testes laboratoriais empregados para o diagnóstico dessa afecção.

Os achados hematológicos são discretos e podem ser limitados ao aumento do VCM e poucos neutrófilos hipersegmentados no esfregaço sem a presença de anemia que aparece nos estádios finais dessas deficiências vitamínicas (LINDENBAUM *et al.*, 1994; METZ *et al.*, 1996; CARMEL *et al.*, 2003).

Tabela 2.1: Comparação entre as deficiências clínica e sub-clínica da vitamina B<sub>12</sub> (CARMEL, 2003)

	<b>Deficiência “Clínica”</b>	<b>Deficiência “Sub-clínica”</b>
Sinais Clínicos e Sintomas	Presentes (por definição), mas - nem toda manifestação (neurológica ou hematológica) aparece em cada paciente - manifestações podem ser leves	Ausentes (por definição), mas: - alguns pacientes podem ter alterações na eletrofisiologia neurológica
Níveis de vitamina B <sub>12</sub>	↓ em 97% dos casos: < 200 pg/ml ↓↓ : < 100 pg/ml	-Usualmente ↓ - Presença da faixa normal-reduzida: 250-350 pg/ml
Anormalidades metabólicas	- Presente em 99% dos casos ↑ tHcy em 96% : > 50 μmol/l ↑ MMA em 98%: > 1,0μmol/l	- Presença de pelo menos uma alteração (por definição): ↑ tHcy: 15 a 25 μmol/l ou ↑MMA: 0,3-0,8 μmol/l
Causas da deficiência	- Identificadas na maioria dos casos: malabsorção da vitamina B <sub>12</sub> livre	- Não identificadas em aproximadamente 50% dos casos -malabsorção da vitamina B <sub>12</sub> ligada ao alimento (30-40% dos casos)
Evolução	-Progressiva em todos os casos: leva anos para aparecer -progressão mais rápida quando sintomas surgem	-Desconhecida; lenta (muitos anos) -assintomática em alguns pacientes por > 10 anos, até aparecimento das alterações bioquímicas -progressão mais rápida com malabsorção da vitamina B <sub>12</sub> livre
Manuseio	- Avaliação diagnóstica  - Intervenção terapêutica	- Avaliação diagnóstica - Intervenção terapêutica individual
Frequência	- Infrequente, mesmo no idoso: < 10% dos níveis reduzidos de vitamina B <sub>12</sub> são associados com sinais clínicos da deficiência	- Presente em 10-20% dos idosos: - 70% com níveis reduzidos de B <sub>12</sub> - 30% com níveis normal-reduzidos de B <sub>12</sub>

↓, reduzida; ↓↓, muito reduzida; tHcy, homocisteína total; MMA, ácido metilmalônico; ↑, aumentada

Nos últimos anos, a utilização de testes funcionais, como dosagens da homocisteína e do ácido metilmalônico, tornaram possível a avaliação do *status* intracelular da vitamina B<sub>12</sub>.

Dentre os testes funcionais, o teste de supressão da deoxiuridina (*DUST*), apesar de sensível e específico, não é adotado rotineiramente devido às suas dificuldades técnicas (necessidade de mielograma, cultura de células e outros procedimentos) (AMOS *et al.*, 1994; CARMEL *et al.*, 1996 ; ZITOUN & ZITOUN, 1999).

Outros metabólitos podem estar alterados na deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, como cistationina sérica e ácido 2-metil-cítrico, mas são utilizados somente em pesquisas (ZITOUN & ZITOUN, 1999).

A dosagem de transcobalamina II, com a utilização de técnicas diversas, como ELISA, parece promissora como marcador sensível para a deficiência da cobalamina (NEXO *et al.*, 2000). Entretanto, esse método ainda não está disponível na prática diária.

Outros exames como teste de Schilling estão em desuso (LINDGREN *et al.*, 1997).

## **2.2 *H. pylori***

### **2.2.1 Aspectos Históricos e Taxonômicos**

Dentre as diversas descobertas e avanços na área da medicina do século XX, o campo das doenças gastrintestinais, também, apresentou marcante desenvolvimento com a descoberta do *H. pylori* e aceitação do seu papel nos aspectos fisiopatológicos dessas afecções (BUCKLEY & O'MORAIN, 1998; KIDD & MODLIN, 1998).

Esta mudança de paradigma foi iniciada em 1981, na Austrália, por ROBIN WARREN & BARRY MARSHALL quando começaram um projeto de pesquisa clínica (BUCKLEY & O'MORAIN, 1998; KIDD & MODLIN, 1998). WARREN (1983) descreveu a presença de um microorganismo espiralado na mucosa gástrica de pacientes com gastrite crônica. MARSHALL (1984) tratou a gastrite crônica de um paciente idoso com tetraciclina, com melhora da infecção e da gastrite (MARSHALL & WARREN, 1984). Entretanto, as diversas tentativas para cultivar o microorganismo não foram eficazes até abril de 1982. Neste período, após um feriado prolongado de Páscoa, as placas foram submetidas a um tempo maior de incubação e as colônias foram visíveis (MARSHALL, 1984).

KIDD & MODLIN (1998) comentam que “embora o *H. pylori* foi descoberto por WARREN e cultivado por MARSHALL em 1982, na Austrália, sua origem histórica está firmemente enraizada na miopia da última metade do século XIX europeu”. Estes organismos espiralados foram observados por histopatologistas desde o final do século XIX. A presença de bactéria gástrica espiralada foi relatada pela primeira vez em 1893 por BIZZORERO, patologista veterinário, em estômago de cães (BIZZORERO *apud* KIDD & MODLIN, 1998). Em 1906, KRIENITZ relatou, pela primeira vez, bactérias espiraladas em estômago humano de paciente com cancer gástrico (KRIENITZ *apud* BUCKLEY & O'MORAIN, 1998). Foram vistos, nove anos mais tarde, microorganismos espiralados em pacientes com ulcerações gástricas e duodenais, e documentada a presença da atividade da urease em estômagos humanos, atribuída às células da mucosa gástrica (BUCKLEY & O'MORAIN, 1998).

Em 1938, DOENGES relatou a presença de organismos espiralados na mucosa de estômagos humanos obtidos à necrópsia (DOENGES *apud* KIDD & MODLIN, 1998).

Entretanto, esses achados foram considerados resultados de contaminação e ignorados pela comunidade científica. Poucos anos mais tarde, estudos sustentaram a presença de bactérias espiraladas em biópsias gástricas de estômagos de pacientes com úlcera gástrica ou carcinoma. Porém, o estômago ainda foi considerado asséptico devido ao seu meio ácido (BUCKLEY & O'MORAIN, 1998; KIDD & MODLIN, 1998). Em 1954, um estudo de 1000 biópsias gástricas falhou em confirmar estes achados e o interesse na bactéria gástrica foi arrefecido (PALMER, 1954).

A introdução do gastroscópio de fibra ótica, no início dos anos 60, permitindo a colheita de fragmentos de mucosa gástrica sob visão direta, colaborou na retomada das pesquisas relacionadas aos microorganismos espiralados gástricos (WARREN, 2000). Contudo, em 1975, STEER estudando migração de neutrófilos polimorfonucleares na mucosa gástrica de pacientes com ulceração gástrica, identificou bactérias em contacto e próximas com o epitélio e sugeriu que as células brancas migraram em resposta à bactéria. Esse pesquisador tentou isolar e cultivar o microorganismo, porém sem sucesso, identificando somente *Pseudomonas aeruginosa* (STEER, 1975).

No início dos anos 80, foram publicados relatos referentes à “gastrite epidêmica associada com hipocloridria”. Estas observações, acopladas com os achados de STEER de uma aparente associação entre “gastrite ativa” e bactéria gram-negativa, sugeriram que a ocorrência da bactéria no estômago e ulceração péptica poderiam representar mais que a correlação de um epifenômeno (KIDD & MODLIN, 1998).

O dilema foi finalmente superado com a obtenção do cultivo do *H. pylori* no laboratório de WARREN & MARSHALL em 1982. Para provar a sua virulência,

MARSHALL ingeriu voluntariamente o microorganismo apresentando quadro agudo de gastrite. Assim, demonstrou que o *H. pylori* não somente infecta o estômago humano, como induz inflamação do tecido gástrico, completando o postulado de KOCH (MARSHALL, 1985).

Inicialmente, a bactéria foi denominada *Campylobacter pyloridis*, com base nas propriedades que apresentava em comum com outras do gênero *Campylobacter*, tais como susceptibilidade a antimicrobianos, morfologia e propriedades bioquímicas, como a produção de catalase e oxidase (MARSHALL, 1983; WARREN, 1983).

Posteriormente, foi feita uma correção gramatical e a bactéria passou a ser denominada *Campylobacter pylori* (MARSHALL & GOODWIN, 1987). Estudos relativos à ultra-estrutura, composição de ácidos graxos e de sequências parciais de RNA ribossômico mostraram, entretanto, que o microorganismo não pertencia ao gênero *Campylobacter*. Foi proposto a criação de um novo gênero, no qual o microorganismo foi incluído, passando a ser denominado *Helicobacter pylori* (GOODWIN *et al.*, 1989).

### **2.2.2 Características do *H. pylori***

O *H. pylori* é uma bactéria Gram negativa, espiralada, móvel, não esporulada (MARSHALL, 1983). Mede aproximadamente 0,5 µm de largura e 2,0 a 3,0 µm de comprimento e apresenta superfície lisa e quatro a seis flagelos unipolares embainhados com bulbos terminais nas extremidades distais (GOODWIN *et al.*, 1985).



Figura 2.5: Microfotografia eletrônica do *H. pylori* na superfície da célula gástrica (LOGAN & WALKER, 2001)

É uma bactéria microaerófila, que cresce bem a 37°C, necessitando de um período de incubação de três a sete dias. O microrganismo não reduz o nitrato a nitrito, não fermenta a glicose e não hidrolisa o hipurato de sódio sendo, entretanto, catalase e oxidase positivas (MARSHALL, 1983; GOODWIN *et al.*, 1985; QUEIROZ *et al.*, 1987). Também, apresenta outras enzimas pré-formadas, como fosfatase alcalina, superóxido dismutase, aminopeptidases, desoxirribonuclease e uma potente urease (McNULTY & DENT, 1987).

*In vitro*, a bactéria apresenta-se susceptível a um grande número de antimicrobianos, incluindo penicilina G, eritromicina, tetraciclina, tinidazol, metronidazol, gentamicina, cefalosporina de 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> gerações, kanamicina, rifampicina, ampicilina, amoxicilina, furazolidona e bismuto (ANDREASEN & ANDERSEN, 1987). Por outro lado, o *H. pylori* tem-se mostrado resistente a drogas antiulcerosas, como sucralfato e cimetidina (ANDREASEN & ANDERSEN, 1987), e

a antimicrobianos, como ácido nalidíxico, vancomicina e à associação entre sulfametoxazol-trimetoprim.

O *H. pylori* é encontrado em mucosa gástrica, podendo ser isolado do corpo, do fundo ou do antro gástricos, ou de áreas de metaplasia gástrica localizadas em outras regiões, como no esôfago, duodeno e divertículo de Meckel. Entretanto, é no antro que se observa a maior densidade bacteriana (TAYLOR *et al.*, 1987; QUEIROZ *et al.*, 1988). O microrganismo distribui-se focal, segmentar ou difusamente na superfície da mucosa gástrica (MARSHALL, 1983), localizando-se no interior ou sob a camada de muco que recobre o epitélio de superfície e das foveolas gástricas (HAZELL *et al.*, 1986).

Trata-se de um microrganismo extremamente bem adaptado ao hospedeiro humano como pode ser evidenciado por sua habilidade de persistir cronicamente em um único habitat, o estômago (MONTECUCCO & RAPPUOLI, 2001; BLASER & ATHERTON, 2004).

A virulência do *H. pylori* na mucosa gástrica é associada com sua habilidade para expressar citotoxinas (CagA, *cytotoxin-associated antigen*; VacA, *vacuolating cytotoxin antigen*; e outras), várias enzimas (urease, protease) e fatores envolvidos na aderência da bactéria às células do epitélio da mucosa gástrica. Essa virulência, também está associada com sua habilidade para induzir a secreção de várias citocinas das células do hospedeiro (HOCKER & HOHENBERGER, 2003). Com relação aos fatores de patogenicidade, vários são comuns a todas as amostras como: a motilidade e morfologia em espiral (HAZELL *et al.*, 1986), produção da enzima urease (LEE *et al.*, 1993), outras enzimas (protease, fosfolipase, desidrogenase

alcóolica, superóxido dismutase e catalase) (MARAIS *et al.*, 1999) e habilidade para aderir ao tecido do hospedeiro (LINGWOOD *et al.*, 1992). Entretanto, outros como gene *CagA* (*cytotoxin-associated gene A*), citotoxina vacuolizante e o gene *IceA* (*induced by contact with epithelium*) são identificados apenas em determinadas amostras e parecem relacionados ao aparecimento das doenças associadas à infecção.

Dentre os fatores de virulência do *H. pylori*, o mais conhecido é *cag*-PAI (citotoxina-associada à ilha de patogenicidade) que contem vários genes ligados à virulência, como o gene *CagA* (*cytotoxin-associated gene A*), responsável pela indução da secreção de uma proteína de alto peso molecular, extremamente imunogênica denominada CagA.

### **2.2.3 A infecção por *H. pylori***

O *H. pylori* é, atualmente, aceito como principal agente de gastrite em seres humanos e fator essencial na patogênese da úlcera péptica, desempenhando, também, papel fundamental na cadeia de eventos que culminam com o desenvolvimento de carcinoma gástrico e linfoma gástrico tipo MALT (FORMAN *et al.*, 1991; PARSONNET *et al.*, 1991; MARSHALL, 1994; COVER & BLASER, 1995; DIXON *et al.*, 1996; GOODWIN *et al.*, 1997; BLASER, 1998; WOTHERSPOON & PATH, 1998).

Todos aqueles que adquiriram a infecção por *H. pylori* terão gastrite crônica e, geralmente, é infrequente o desaparecimento espontâneo da infecção. Entretanto, somente uma pequena proporção daqueles infectados, desenvolverão doenças clínicas significantes, tais como: gastrite atrófica, doença ulcerosa péptica e cancer

gástrico (GO, 2002). Cerca de 20 a 30 % daqueles que não tiveram a progressão para gastrite atrófica permanecerão com gastrite crônica (SIPPONEN & MARSHALL, 2000). Existem diferentes fenótipos de gastrite crônica com diversas associações de doenças. Um grupo tem gastrite predominante do antro, raramente progride para o corpo gástrico, mas a úlcera duodenal poderá desenvolver em alguns pacientes com gastrite antral. Outro grupo tem pangastrite onde antro e corpo são acometidos pela infecção, com maior predisposição para desenvolvimento de úlcera gástrica e progressão para atrofia (gastrite atrófica multifocal), usualmente com metaplasia intestinal. Em alguns pacientes a metaplasia progride para displasia e, posteriormente, para adenocarcinoma gástrico do tipo intestinal (PETERSON, 2002).

Admite-se que a infecção pelo *H. pylori* seja adquirida na infância, e se não for tratada, permanece por toda a vida do paciente. Além disso, outras afecções tem sido associadas à infecção pelo *H. pylori*, com localização extra-gástrica, tais como: doenças cardiovasculares, hematológicas, neurológicas, auto-imunes e dermatológicas (GASBARRINI *et al.*, 2003; GASBARRINI *et al.*, 2004). Atualmente este tópico constitui objeto de várias pesquisas em desenvolvimento (DOBBS *et al.*, 2000; ACETTI *et al.*, 2004; DIOMEDI *et al.*, 2004; FUKUDA *et al.*, 2004; MALAGUARNERA *et al.*, 2004; SATO *et al.*, 2004).

A identificação e tratamento do paciente idoso com infecção pelo *H. pylori* pode, sem dúvida, melhorar a qualidade de vida e reduzir a morbi-mortalidade nesta faixa etária (PILOTTO *et al.*, 2002; PILOTTO *et al.*, 2004).

#### **2.2.4 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo *H. pylori***

A infecção pelo *H. pylori* é uma das infecções bacterianas mais comuns na espécie humana, acometendo cerca de 50% da população mundial, sendo, a prevalência da infecção, entretanto, mais elevada em países em desenvolvimento (85% a 95%) se comparada a países desenvolvidos (35 a 50%) (PARSONNET, 1995). Provavelmente, estas diferenças epidemiológicas são o reflexo de diferenças no nível socioeconômico entre as populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento, uma vez que condições de higiene precárias, aglomeração nas moradias e ausência ou deficiência em saneamento básico são fatores que favorecem a aquisição da infecção (GRAHAM *et al.*, 1991; WEBB *et al.*, 1994; CLEMENS *et al.*, 1996; KODAIRA *et al.*, 2002; FRENCK & CLEMENS, 2003).

Muitos aspectos epidemiológicos da infecção pelo *H. pylori*, como a fonte de infecção e modo de transmissão, não estão totalmente esclarecidos (MÉGRAUD, 1995; CAVE, 1997). O homem é o principal reservatório do *H. pylori* e a transmissão do microrganismo ocorre de pessoa para pessoa. Existem evidências que favorecem a hipótese de que a transmissão da bactéria pode ocorrer por via fecal-oral (KLEIN *et al.*, 1991; GOODMAN *et al.*, 1996; HULTEN *et al.*, 1996) e outras a favor da transmissão oral-oral (LEE *et al.*, 1991; NGUYEN *et al.*, 1993), o que sugere a participação de ambas na transmissão do microrganismo, especialmente nos países em desenvolvimento onde as condições de saneamento básico são precárias (MÉGRAUD, 1995a).

#### **2.2.4.1 Prevalência e incidência da infecção pelo *H. pylori***

Em países desenvolvidos, a prevalência da infecção aumenta progressivamente com a idade, mas esta é reduzida em crianças (GOODMAN *et al.*, 1996; SATHAR *et al.*, 1997; MALATY & NYREN, 2003). Nestas populações aproximadamente 40 a 60% dos indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos encontram-se infectados pela bactéria (STAAT *et al.*, 1996; FELDMAN *et al.*, 1998; EVERHART, 2000).

Nos países em desenvolvimento, a infecção ocorre em idade precoce e a prevalência da infecção, tanto em crianças quanto em adultos é bem mais elevada que a observada em países desenvolvidos. Atinge, em média, cerca de 50% das crianças até dez anos de idade e 60 a 90% dos adultos (EUROGAST, 1993; CLEMENS *et al.*, 1996; FRENCK & CLEMENS, 2003).

No Brasil, pelas suas dimensões continentais e contrastes regionais, existem diferenças importantes, tais como: prevalência de infecção em 62,1% entre adultos e 34,1% entre crianças em Belo-Horizonte, capital de Minas Gerais (OLIVEIRA *et al.*, 1994), enquanto em Araçuaí, Minas Gerais, foi encontrado 90% em adultos e 72% em crianças de prevalência do microorganismo (OLIVEIRA, 1999). Em Nossa Senhora do Livramento, área rural de Mato-Grosso, a prevalência da infecção foi de 77,5% entre as crianças e 84,7% entre adultos (SOUTO *et al.*, 1998).

A prevalência da infecção pelo *H. pylori* aumenta progressivamente com a idade, como demonstrado em estudos realizados em diversos países (MITCHELL *et al.*, 1992; EUROGAST, 1993; ROCHA *et al.*, 1993; OLIVEIRA, 1999) e, este aumento é de 1% por ano nas várias populações avaliadas. Inicialmente, o aumento da prevalência da infecção com a idade foi interpretado como a aquisição em qualquer

fase da vida do indivíduo. Entretanto, diversos estudos demonstraram tratar-se do efeito coorte, ou seja, a infecção é adquirida na infância e o aumento da prevalência com a idade reflete a maior chance da aquisição da infecção que as pessoas mais velhas tiveram quando crianças (BANATVALA *et al.*, 1993; KOSUNEN *et al.*, 1997). Assim, cada coorte de idade possui uma taxa de infecção própria, determinada na infância e, provavelmente, a maior prevalência da infecção observada nos grupos etários mais velhos ainda reflete as condições inadequadas de vida da população (SOUTO *et al.*, 1998; OLIVEIRA, 1999).

#### **2.2.4.2 Fatores de risco associados à infecção.**

Diversos fatores de risco têm sido associados a um risco aumentado de aquisição da infecção pelo *H. pylori*. Dentre eles, as condições de vida na infância (elevada densidade populacional da moradia, infecção de mães e irmãos e compartilhamento da mesma cama) e os fatores relacionados ao nível sócioeconômico mais baixo dos indivíduos que são os mais frequentemente identificados (GOODMAN *et al.*, 1996; ROCHA *et al.*, 2000; FRENCK & CLEMENS, 2003).

### **2.3 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO *H. pylori***

Como mencionado anteriormente, o *H. pylori* é considerado um microrganismo patogênico, cuja infecção é adquirida, principalmente, na infância e pode persistir por toda a vida se não tratada. Quanto mais precocemente a infecção é adquirida, maior é o risco de desenvolvimento de carcinoma gástrico (BLASER, 1997). Por essas razões, é cada vez maior o interesse por métodos fidedignos para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*. Em adição à microscopia clássica e cultura,

vários métodos têm sido desenvolvidos e aprimorados para o diagnóstico da infecção.

Os métodos de diagnóstico microbiológicos, histológicos, o teste da urease pré-formada e alguns que envolvem técnicas de biologia molecular são considerados invasivos devido à necessidade da utilização de fragmentos da mucosa gástrica obtidos por esofagogastroduodenoscopia. Os métodos não-invasivos, ou seja, aqueles que não requerem a utilização de biópsia gástrica para sua realização, compreendem pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori* em amostras de urina, saliva e soro, técnicas de biologia molecular em amostras de fezes e placa dentária, o teste respiratório e a detecção de antígenos de *H. pylori* nas fezes.

Embora a maioria dos métodos atualmente utilizados apresente sensibilidade e especificidade elevadas, tem sido recomendado o emprego de, pelo menos, dois métodos diferentes para se fazer o diagnóstico preciso da infecção (FAUCHÈRE, 1996; MÉGRAUD, 1996).

### **2.3.1 Cultura**

O isolamento de *H. pylori* a partir de fragmentos de mucosa gástrica é o método mais específico para o diagnóstico da infecção. Permite, também, o estudo das amostras quanto à presença de fatores de patogenicidade e à susceptibilidade a antimicrobianos, visando uma terapêutica melhor orientada (THIJS *et al.*, 1996; MÉGRAUD, 1996).

Após a colheita, os fragmentos de mucosa gástrica devem ser imediatamente mantidos em meio de transporte, a 4°C, por no máximo quatro horas, antes de

serem semeados em meios de cultura apropriados. O transporte adequado dos fragmentos de mucosa é essencial para se manter a viabilidade do microrganismo (MORTON & BARDHAM, 1995; LEHN & MÉGRAUD, 1996). Antes de serem semeados em meio de cultura, é recomendável que os fragmentos sejam homogêneos em triturador de tecido (MÉGRAUD, 1996). Como o *H. pylori* é um microrganismo fastidioso, é necessário, para seu crescimento e isolamento, o emprego de meios suplementados com sangue total ou soro. Os meios de cultura devem também conter drogas antimicrobianas, com o objetivo de inibir o crescimento de microrganismos contaminantes que podem competir por nutrientes ou produzir substâncias tóxicas para o *H. pylori*. A inclusão no meio de cultura do cloreto de trifeniltetrazólio torna as colônias da bactéria mais facilmente reconhecíveis devido à coloração dourada que adquirem (QUEIROZ *et al.*, 1987). O material deve ser incubado em condições de microaerofilia (5% de O<sub>2</sub>, 7 a 10% de CO<sub>2</sub>), a 37°C, por um período de três a sete dias (TOMPKINS, 1992; GLUPCZYNSKI, 1994).

A identificação do *H. pylori* é feita pela análise das características macroscópicas das colônias (puntiformes, circulares, convexas e não hemolíticas), morfologia da bactéria ao Gram (espiralada Gram negativa) e pelo perfil enzimático (urease, oxidase e catalase positivos).

### **2.3.2 Teste da urease pré-formada**

O teste da urease pré-formada é um método que permite a detecção do *H. pylori*, em fragmentos de biópsia de mucosa gástrica, e baseia-se na presença da

atividade enzimática da urease, produzida pelo microrganismo (McNULTY *et al.*, 1989).

O teste consiste na introdução de um fragmento de mucosa gástrica em um meio contendo uréia e vermelho de fenol como indicador de pH. A urease pré-formada, presente em fragmentos de mucosa gástrica de indivíduos com infecção, hidrolisa a uréia em amônia elevando o pH, o que é observado pela mudança da cor do meio de âmbar para rósea num período de, até, 24 horas.

O teste de urease é de fácil execução, podendo ser realizado na própria sala de endoscopia, e relativamente barato quando comparado à microscopia e à cultura.

### **2.3.3 Exame direto**

Outro método de fácil execução é o exame direto a partir de esfregaços de mucosa gástrica corados, mais comumente, pelo Gram (MONTGOMERY *et al.*, 1988) ou pela carbolfucsina (RESENDE *et al.*, 1993).

### **2.3.4 Pesquisa de *H. pylori* em cortes histopatológicos**

O *H. pylori* pode ser identificado em cortes histológicos de mucosa gástrica empregando-se várias técnicas de coloração como a de Warthin-Starry (WARREN, 1983), laranja de acridina (WALTERS *et al.*, 1986), a de Gram (TROWELL *et al.*, 1987), carbolfucsina (ROCHA *et al.*, 1989), Giemsa (GLUPCZYNSKI, 1994). A coloração pela hematoxilina e eosina, muito utilizada para coloração de tecidos, é pouco satisfatória para diagnóstico microbiológico, pois as bactérias são fracamente coradas e sua morfologia é pobremente demonstrada (GLUPCZYNSKI, 1994).

O exame microscópico em material de biópsia para o *H. pylori* apresenta vantagens: é um método rápido, pouco oneroso e oferece um registro visual permanente.

### **2.3.5 Reação de polimerização em cadeia (PCR)**

A PCR tem sido utilizada para a detecção de *H. pylori* não apenas em biópsias gástricas, como também em suco gástrico (MAPSTONE *et al.*, 1993), saliva (HAMMAR *et al.*, 1992), placa dentária (WAHLFORS *et al.*, 1995) e fezes (ENROTH & ENGSTRAND, 1995).

Além de possibilitar o diagnóstico da infecção, a PCR pode ser empregada para a detecção de genes da bactéria associados a fatores de virulência (PEEK JR. *et al.*, 1995; LAGE *et al.*, 1995; QUEIROZ *et al.*, 1998), entre outros.

### **2.3.6 Pesquisa de anticorpos anti-*H. pylori***

A grande maioria dos indivíduos infectados pelo *H. pylori* desenvolve resposta imune local e sistêmica, o que permite o uso de testes que têm por base a detecção de anticorpos anti-*H. pylori* no soro como métodos para se fazer o diagnóstico da infecção (JONES *et al.*, 1984; MITCHELL *et al.*, 1988).

Testes sorológicos constituem uma ferramenta ideal para estudos epidemiológicos uma vez que requerem apenas uma pequena quantidade de sangue de cada indivíduo da população.

Dentre as várias técnicas para a detecção de anticorpos séricos anti-*H. pylori*, a reação de ELISA tem sido a mais empregada para o diagnóstico da infecção devido à rapidez e simplicidade de sua execução, reprodutibilidade e baixo custo

(GOOSSENS *et al.*, 1992; ANTOINE *et al.*, 1995). O teste apresenta sensibilidade e especificidade elevadas para o diagnóstico da infecção em crianças maiores de 12 anos de idade e em adultos (CUTLER *et al.*, 1995; ROCHA *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Anticorpos IgG anti-*H. pylori* podem, também, ser detectados em amostras de saliva (PATEL *et al.*, 1994; LUZZA *et al.*, 1995) e de urina (ALEMOHAMMAD *et al.*, 1991; ALEMOHAMMAD *et al.*, 1993). Entretanto, os testes realizados em saliva apresentam sensibilidade e especificidade baixas (LUZZA *et al.*, 1995). Mais recentemente, foi desenvolvido um ELISA para detecção de anticorpos IgG na urina que mostrou sensibilidade e especificidade de 90% em adultos (KATO *et al.*, 2000).

### **2.3.7 Teste respiratório com uréia marcada**

O teste respiratório baseia-se na atividade da enzima urease produzida pelo *H. pylori*. Para a realização do teste, o paciente ingere uréia marcada com  $^{13}\text{C}$  ou  $^{14}\text{C}$  que, sob a ação da urease produzida pela bactéria presente no estômago de pacientes *H. pylori*-positivos, é desdobrada em amônia e  $\text{CO}_2$  marcado. Amostras de ar expirado são colhidas e a concentração de carbono marcado é determinada empregando-se espectrômetro de luz infravermelha para o  $^{13}\text{C}$  (GRAHAM *et al.*, 1987) ou o espectrômetro de cintilação líquida para o  $^{14}\text{C}$  (MARSHALL & SURVEYOR, 1988). A radioatividade do  $^{14}\text{C}$  limita seu uso, principalmente, em crianças e gestantes.

Por ser um teste não invasivo e inócuo (quando realizado com  $^{13}\text{C}$ ), o teste respiratório pode ser empregado para o diagnóstico da infecção e para monitorar a resposta do paciente ao tratamento com antimicrobianos.

Estudos realizados em adultos demonstram que o teste respiratório apresenta sensibilidade de 90% a 100% e especificidade de 78% a 100% (GRAHAM *et al.*, 1987; EGGERS *et al.*, 1990; KLEIN & GRAHAM, 1993; SLOMIANSKI *et al.*, 1995).

Variações na metodologia do teste podem ser observadas nos vários trabalhos desenvolvidos, o que, de certa forma, dificulta a comparação. Fatores que podem diferir de um estudo para outro são o intervalo de tempo entre as colheitas das amostras de ar expirado pelo paciente, o ponto de corte (DOB - “delta over baseline”) e o padrão ouro usado para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*.

### **2.3.8 Detecção de antígenos de *H. pylori* em amostras de fezes.**

Recentemente, foi desenvolvido um novo método diagnóstico não invasivo que detecta a presença de antígenos de *H. pylori* em amostras de fezes (HpSA - *H. pylori* Stool Antigen, Meridian Diagnostics Inc., Cincinnati, EUA). O teste HpSA, aprovado pela United States Food and Drug Administration - FDA, tem sido empregado para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, monitoramento da resposta ao tratamento da infecção com antimicrobianos e estudos epidemiológicos (VAIRA *et al.*, 2000).

O teste utiliza anticorpos policlonais anti-*H. pylori* aderidos aos orifícios de uma placa de microtitulação aos quais são adicionadas amostras de fezes seguidas de um anticorpo anti-*H. pylori* conjugado a peroxidase e de substrato. A vantagem do teste

é que as amostras de fezes podem ser estocadas entre 2°C e 8°C por, até, 3 dias ou indefinidamente a -20°C (MAKRISTATHIS *et al.*, 1998; TREVISANI *et al.*, 1999; OHKURA *et al.*, 2000; VAIRA *et al.*, 2000), o que permite que várias amostras sejam testadas em um único experimento, reduzindo, deste modo, o custo. Em adultos, o teste apresenta sensibilidade de 80% a 98% e especificidade de 90% a 100% (MAKRISTATHIS *et al.*, 1998; TREVISANI *et al.*, 1999; OHKURA *et al.*, 2000).

#### **2.4 TRATAMENTO DA INFECÇÃO PELO *H. PYLORI***

Como já citado anteriormente, a infecção pelo *H. pylori* é fator importante na patogênese da gastrite, úlcera péptica, cancer gástrico e linfoma MALT (DUNN *et al.*, 1997).

O desaparecimento da infecção cura a úlcera péptica, previne recidivas ou complicações dessa afecção e restaura a qualidade de vida do paciente (WIHELMENSEN, 1996). A erradicação da bactéria, também, leva a regressão ou mesmo a cura da linfoma MALT e produz decréscimo da prevalência de cancer gástrico em populações de alto-risco (DUNN *et al.*, 1997).

Entretanto, o esquema terapêutico ideal para erradicação do *H. pylori* ainda não está definido e, além disso, a resistência da bactéria aos antimicrobianos está aumentada (McLOUGHLIN *et al.*, 2004).

O CONSENSO DE MAASTRICHT, em 1997, recomendou que esquemas de tratamento para erradicação da bactéria deveriam ser simples, bem tolerados e atingir taxa de erradicação acima de 80% na análise da intenção de tratamento (MALFERTHEINER *et al.*, 1997). Isto foi reforçado pelo CONSENSO DE

MAASTRICHT-2 realizado em 2000 (MALFERTHEINER *et al.*, 2002). Os esquemas de tratamento que satisfizeram estes critérios, e foram efetivos, utilizavam inibidores de bomba de prótons e dois antimicrobianos (claritromicina, amoxicilina, tetraciclina, subcitrato de bismuto ou derivado nitroimidazolólico (metronidazol ou tinidazol) durante uma semana (MEGRAUD, 1995b; DANI *et al.*, 1999).

A utilização do esquema tríplice é considerado o “padrão-ouro” na erradicação do *H. pylori*. Dentre os antimicrobianos, mais frequentemente empregados, destacam-se a claritromicina, a amoxicilina e o metronidazol (MALFERTHEINER *et al.*, 2002; PERRI *et al.*, 2003).

Em idosos, resultados de estudos em países desenvolvidos, avaliando tratamento medicamentoso anti-*H. pylori*, mostraram que a composição terapêutica com dois dos seguintes antibióticos, claritromicina, metronidazol, tinidazol ou amoxicilina, usados durante uma semana, foram altamente eficazes nesta faixa etária (PILOTTO & MALFERTHEINER, 2002). Particularmente relevante foi a observação que doenças e tratamentos concomitantes não influenciaram a eficácia da erradicação da bactéria nesta faixa etária (PILOTTO *et al.*, 1996). A taxa de erradicação, em idosos, avaliada pela intenção de tratamento foi de 88,2% com uso da claritromicina + metronidazol ou tinidazol; 84,2% com amoxicilina + claritromicina e 79,8% com amoxicilina + metronidazol, sempre acompanhados de um inibidor de bomba de prótons (PILOTTO & SALLES, 2002).

O Consenso Latino-Americano recomenda, como esquema preferencial, a combinação de um inibidor de bomba de prótons, claritromicina (500 mg/*bid*) e

amoxicilina (1 g/bid) por sete a 14 dias (COELHO *et al.*, 2000). Com relação aos outros antimicrobianos, como o metronidazol, esse apresenta elevados índices de resistência (47 a 70%) restringindo esta opção terapêutica para erradicação da bactéria entre nós ( COELHO *et al.*, 2000; QUEIROZ *et al.*, 2002).

Para a claritromicina, a frequência da resistência do *H. pylori* varia de 0 a 30% (MÉGRAUD, 1998; MENDONÇA *et al.*, 2000).

Em um estudo realizado por MAGALHÃES *et al.* (2002) foi observado aumento significativo nas taxas de resistência: 4,48% em 1996, 7,6% em 1997, 10% em 1998, 12,19% em 1999 e 19,05% em 2000, e parece ser paralelo ao aumento da sua utilização, não somente para erradicação do *H. pylori*, mas, também, para o tratamento de infecções do trato respiratório.

ECCLISSATO *et al.* (2002) avaliaram a eficácia de dois esquemas terapêuticos (lansoprazol mais amoxicilina e claritromicina e subcitrato de bismuto mais tetraciclina e furazolidona) em pacientes com úlcera péptica. Ambos os tratamentos apresentaram resultados semelhantes, sem significância estatística e com a taxa de erradicação de 66-60% por protocolo e 59%-52% na intenção de tratar. Entretanto, a taxa de erradicação aumentou para 79% na ausência de resistência do *H. pylori* para claritromicina ou amoxicilina.

COELHO *et al.* (2004) realizaram um estudo multicêntrico para determinar a eficácia da associação pantoprazol + claritromicina + amoxicilina em pacientes com úlcera péptica, por uma semana, média de idade 41,9 anos, variando de 19 a 71 anos, sendo selecionados 73 pacientes, 35 homens e 36 mulheres. Dentre esses, dois pacientes selecionados não iniciaram o tratamento, assim, foram tratados 71

pacientes. Ao final do estudo houve a erradicação do *H. pylori* em 87% dos pacientes analisados por protocolo e em 84,5% por intenção de tratamento. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os centros.

Com relação à furazolidona, embora seja raramente prescrita em países desenvolvidos, esquemas contendo essa substância podem ser uma boa opção, porque o medicamento é de custo reduzido e não é descrito presença de resistência do *H. pylori* para a substância. Além disso, o Consenso Latino Americano sugere que esquemas terapêuticos utilizando furazolidona podem ser considerados em populações de baixa renda (COELHO *et al.*, 2000).

DANI *et al.* (1999) avaliaram o esquema terapêutico constituído por claritromicina (500 mg/*bid*) + furazolidona (200 mg/*bid*) + omeprazol (20 mg/*mid*) durante sete dias em pacientes com úlcera duodenal e média de idade  $34,9 \pm 10,7$  anos. Obtiveram, três meses depois do tratamento, taxa de erradicação de 90% na análise da intenção de tratamento e 97% na análise com protocolo. Observaram leves efeitos colaterais, porém nenhum paciente abandonou o protocolo.

Outro esquema alternativo consistiu no emprego da associação da furazolidona mais ranitidina, acrescidos da tetraciclina e bismuto em terapia quádrupla, com taxa de erradicação de 84% (MAGALHÃES *et al.*, 1998).

Entretanto, nenhum esquema terapêutico pode erradicar o microorganismo em 100% dos pacientes. Existe, mesmo com o melhor tratamento, falha em 5 a 10% (TYGAT, 1998).

QUEIROZ *et al.* (2002) estudaram os fatores associados à falência do tratamento em 101 pacientes que usaram pantoprazol + claritromicina + furazolidona. A

resistência da claritromicina e furazolidona foram avaliadas pelo método de diluição em ágar, e o ponto de mutação no gene 23S RNA relacionado à resistência da claritromicina pela PCR e análise de polimorfismo de fragmentos de restrição e, também, foi feito PCR para o *status* CagA. A erradicação do *H. pylori* ocorreu em 85 dos 97 pacientes que completaram o tratamento (87,6%, IC=79,0-93,1). Foi observado que 9,8% das amostras *H. pylori* eram resistentes à claritromicina.

Os autores concluíram que os principais fatores de risco associados à falência do tratamento em um país em desenvolvimento são semelhantes aos dos países desenvolvidos, tais como: resistência ao medicamento e *status* CagA-negativo. Sugerem que, como estes fatores podem ser facilmente avaliados pelos métodos moleculares diretamente no tecido (resistência à claritromicina e *status* CagA) ou pela determinação sorológica (anticorpos CagA), eles deveriam ser investigados e considerados quando um esquema terapêutico para a erradicação do *H. pylori* é escolhido: o medicamento para o qual a amostra é resistente não deveria ser incluído no esquema, e pacientes colonizados por amostras CagA-negativas podem necessitar de tratamento prolongado.

MENDONÇA *et al.* (2000) avaliando a prevalência de resistência do *H. pylori* aos antimicrobianos selecionados, detectaram as seguintes taxas: 42% (38 pacientes) para o metronidazol; 29% (26 pacientes) para amoxicilina; 7% (6 pacientes) para claritromicina; 7% (6 pacientes) para tetraciclina e 4% (4 pacientes) para a furazolidona. Os autores reforçaram a necessidade de realizar cultura e testes de susceptibilidade para definir padrões de resistência relacionados ao *H. pylori* antes do uso generalizado de um esquema terapêutico.

E de repente

O resumo de tudo é uma chave.

A chave de uma porta que não abre

Para o interior desabitado,

No solo que inexistente,

Mas a chave existe.

...

A porta principal, esta é que abre,

Sem fechadura e gesto.

Abre para o imenso.

Vai-me empurrando e revelando

O que não sei de mim e está nos Outros.

...

A chave

Carlos Drummond de Andrade

### **3.OBJETIVOS**

### 3.OBJETIVOS

1-Avaliar a eficácia de um esquema terapêutico para erradicação do *H. pylori* em idosos.

2-Avaliar o efeito da erradicação do *H. pylori* nas concentrações séricas da vitamina B<sub>12</sub> dos pacientes.

3-Avaliar o efeito da erradicação do *H. pylori* nas concentrações plasmáticas da homocisteína dos pacientes.

4-Avaliar as lesões gástricas associadas à infecção e sua correlação com as dosagens sanguíneas de vitamina B<sub>12</sub> e homocisteína.

5-Avaliar a presença de infecção por amostras CagA.

...

De quantos possíveis faz-se uma tarefa,  
Quantos impossíveis a constelam?  
Saber a ordem não é importante  
Analisar a ordem não é importante  
Cumprir a ordem é importante.

Cintilação da ordem no desencontro  
De um em um, de todos em ninguém  
E do encontro maior  
De um em dois, no silo do acaso,  
Galeria onde o quadro não estava exposto  
E de repente se criou

.....

E tudo tem sentido  
E tudo resplandece na Verdade.

Maud  
Carlos Drummond de Andrade

## **4. PACIENTES E MÉTODOS**

## 4.PACIENTES E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido com a colaboração de vários setores da UFMG: Hospital Bias Fortes, Laboratório Central do Hospital das Clínicas; Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina e Laboratório de Fisiologia Geral e Molecular do Instituto de Ciências Biológicas. Teve, também, a participação do Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

O presente estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais. O consentimento dos pacientes para participação da pesquisa foi feito por escrito. Os pacientes incluídos no estudo estão em acompanhamento no Ambulatório de Geriatria do Hospital das Clínicas da UFMG, anexo Bias Fortes.

### 4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES

A população definida para o estudo constituiu-se de indivíduos de ambos os sexos, com idade igual ou superior a 60 anos e dosagens séricas de vitamina B<sub>12</sub> ≤ 350 pg/ml e ácido fólico ≥ 3 ng/ml, dentre os que foram atendidos nos ambulatórios de Geriatria e Medicina Geral de Adultos do Hospital das Clínicas da UFMG, anexo Bias Fortes e nos serviços médicos da rede pública.

Os pacientes foram incluídos por ordem de chegada por encaminhamento para avaliação da dosagem sérica da vitamina B<sub>12</sub> ≤ 350 pg/ml , uma vez respeitados os

critérios de exclusão e seu consentimento em participar do estudo. Foram adotados, com finalidade de exclusão, os seguintes critérios:

1-Utilização de “vitaminas”, sulfato ferroso e outros sais minerais

2-Diagnóstico prévio de anemia perniciosa

3-Estar em uso de medicamentos inibidores da secreção gástrica: inibidores de bomba de prótons (omeprazol e similares) e bloqueadores de H<sub>2</sub> (cimetidina e similares)

4-Cirurgias gástricas e intestinais (gastrectomia parcial ou total, ressecção intestinal)

5-Tratamento prévio de infecção pelo *H. pylori*

6-Estar em uso dos seguintes medicamentos:

- metformin
- anti-convulsivantes (difenilhidantoína, fenobarbital, ácido valpróico, primidona, carbamazepina)
- colchicina
- trimetropim
- metotrexate e ciclosporina
- agentes redutores de lípidos (colestiramina, colestipol, ácido nicotínico)
- levodopa

7-Dosagem de creatinina sérica > 1,2 mg/dl em mulheres e >1,5 mg/dl em homens

8-Dosagem de hemoglobina <12 g/dl em mulheres e <13 g/dl em homens

- 9-Insuficiência pancreática
- 10-Diarréia crônica
- 11- Doença de Crohn
- 12-Diagnóstico prévio de qualquer tipo de neoplasia
- 13-Diagnósticos de doenças mieloproliferativas (leucemias e mieloma múltiplo)
- 14-Emagrecimento de mais de 3 kg nos últimos três meses
- 15-Estar em uso de reposição hormonal
- 16-Etilismo moderado ou intenso (média diária > 60 g etanol)
- 17-Impossibilidade de realizar esôfago-gastroduodenoscopia diagnóstica
- 18-Dependentes para as atividades de vida diária e instrumentais.

Na seqüência, esses pacientes foram submetidos a exame esofago-gastroduodenoscópio e pesquisa de *H. pylori* com utilização de métodos diversos (teste respiratório, cultura de fragmentos da mucosa gástrica, teste da urease, pesquisa de anticorpos séricos anti- *H. pylori* e exame histopatológico da mucosa gástrica).

Estudou-se, durante todo o trabalho, um grupo total constituído por 108 pacientes com dosagem sérica da vitamina B<sub>12</sub> ≤ 350 mg/dl e ácido fólico normal (3 a 17 ng/ml), com média de idade de 72,1 anos (± 7,93), mínimo de 60 e máximo de 108 anos e composto por 79 mulheres (73,1%) e 29 homens (26,9%).

Para os objetivos do estudo foram incluídos 62 pacientes (11 do sexo masculino e 52 do sexo feminino; média de idade 71,1 anos, variação de 60 a 86 anos) para

medicação e acompanhamento durante três e seis meses depois da erradicação da bactéria.

Foram excluídos do grupo total, 46 pacientes, com média de idade de 74,7 anos ( $\pm 8,6$ ), mínimo de 61 e máximo de 108 anos, sendo 18 do sexo masculino (39,1%) e 28 do sexo feminino (60,9%), por não apresentarem condições médicas para a participação no estudo.

Esses pacientes foram medicados com vitamina B<sub>12</sub> injetável e, também, receberam tratamento medicamentoso para *H. pylori* quando pertinente.

O estudo foi realizado de forma prospectiva e iniciado em fevereiro de 2002 com término em junho de 2004.

#### **4.2 SEGUIMENTO DOS PACIENTES INCLUÍDOS**

Na segunda fase, depois da confirmação do diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, os 62 pacientes incluídos no estudo foram reavaliados e receberam o tratamento medicamentoso padronizado. No mesmo dia, houve a colheita de sangue para realização das dosagens da homocisteína total e outros exames laboratoriais (gastrina, pesquisa de anticorpo anti-célula parietal, pepsinogênio I e pepsinogênio II).

Na terceira fase, foi feito o seguimento dos pacientes por três e seis meses depois do tratamento, com realização do teste respiratório com uréia marcada com <sup>13</sup>C e dosagens séricas da vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico, homocisteína plasmática e hemograma, respectivamente, três e seis meses depois do tratamento. As dosagens

de gastrina e pepsinogênio I foram realizadas antes e depois de seis meses do tratamento. A dosagem do pepsinogênio II foi realizada somente antes do tratamento.

Na presença de positividade do teste respiratório com uréia marcada com  $^{13}\text{C}$  depois de três meses do uso da medicação, instituiu-se outro esquema terapêutico para erradicação do *H. pylori*. Os pacientes que tiveram novo tratamento foram acompanhados por outros três e seis meses e submetidos aos exames laboratoriais pré-determinados.

### **4.3 MÉTODOS**

#### **4.3.1 Avaliação clínica**

A avaliação clínica constou de anamnese e exame físico para rastreamento de outras afecções nesta população. Para avaliação do estado nutricional, foi utilizado o índice de massa corporal (IMC) definido pela fórmula  $\text{IMC} = \text{peso (kg)}/\text{altura (m}^2\text{)}$ . O IMC, considerado dentro da faixa normal, é de 18 a 25  $\text{kg}/\text{m}^2$ . É considerado sobrepeso o IMC acima de 25  $\text{kg}/\text{m}^2$ ; obesidade acima de 30  $\text{kg}/\text{m}^2$  e obesidade mórbida acima de 40  $\text{kg}/\text{m}^2$  (WHO, 2000).

#### **4.3.2 Esquema de tratamento para a erradicação do *H. pylori***

Feita a confirmação do diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, os pacientes incluídos no estudo, depois da reavaliação clínica, receberam o esquema terapêutico constituído por claritromicina (500 mg/*bid*), furazolidona (200 mg/*bid*) e omeprazol (20 mg/*mid*) durante sete dias.

Na presença de positividade do teste respiratório com uréia marcada com  $^{13}\text{C}$ , depois de três meses do uso da medicação, instituiu-se outro esquema terapêutico para erradicação da bactéria: furazolidona (150 mg/*tid*), subcitrato de bismuto (150 mg/*tid*) e oxitetraciclina (500 mg/*tid*) e omeprazol (20 mg/*mid*) por dez dias.

#### **4.3.3 Esofagogastroduodenoscopia**

Os pacientes foram submetidos a exame endoscópico e biópsias, e os procedimentos foram realizados por um único endoscopista (Prof. Celso Affonso de Oliveira).

Foi utilizado:

-Vídeo-endoscópio eletrônico da marca FUJINON, composto de vídeo HRTriniton da SONY, processador de imagem EPX-305EVE FUJINON, de impressora de fotografias Mavigrah SONY e endoscópio da marca FUJINON EVE EG-300HR (super-imagem).

-Pinças de biópsias: as utilizadas rotineiramente em Serviços de Endoscopia Digestiva.

#### **4.3.4 Diagnóstico da infecção pelo *H. pylori***

##### ***4.3.4.1 Pesquisa de *H. pylori* em fragmentos de mucosa gástrica***

Durante o exame endoscópio foram colhidos, de cada paciente, quatro fragmentos de mucosa do antro e quatro fragmentos do corpo gástrico para a pesquisa de *H. pylori* por cultura (antro e corpo), teste da urease pré-formada (antro e corpo) e exame histopatológico (antro e corpo).

### ***Cultura***

Os fragmentos da mucosa gástrica foram colocados, imediatamente após a colheita, em 0,5 ml de caldo de infusão cérebro-coração (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), transportados em banho de gelo e processados dentro de, no máximo, duas horas.

Os fragmentos foram homogeneizados em um triturador de tecido e semeados em meio Belo-Horizonte (QUEIROZ *et al.*, 1987), composto por agar-infusão de cérebro-coração (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) suplementado com sangue de carneiro a 10%, 6 mg/l de vancomicina (Sigma Chemical Co, St.Louis, MO, EUA), 20 mg/ml de ácido nalidíxico (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EUA), 0,01 g/ml de cicloheximida (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, EUA) e 40 mg/ml de cloreto de trifeniltetrazólio (Reagen, Rio de Janeiro, Brasil). As placas foram incubadas a 37°C, sob atmosfera de microaerofilia, obtida com o emprego de Anaerocult C (Merck, Darmstadt, Alemanha), por três a sete dias.

O microrganismo foi identificado pela morfologia macroscópica (colônias puntiformes, circulares, convexas e não hemolíticas, de coloração dourada brilhante); morfologia microscópica (bactérias espiraladas) em esfregaços corados pela carbolfucsina (RESENDE *et al.*, 1993); teste da urease positivo; e reações de oxidase e catalase positivas.

### ***Teste da urease pré-formada***

Para a realização do teste da urease pré-formada, um fragmento de mucosa do antro foi introduzido em frascos contendo Hp Uréia Teste® (RESENDE *et al.*, 1993) e incubados a 37°C por, até, 24 horas. A leitura da reação foi feita ao final da primeira

e vigésima quarta horas. O teste foi considerado positivo quando se observou, dentro deste prazo, mudança da cor do meio de âmbar para rósea.

### ***Exame histopatológico***

Os fragmentos de mucosa do antro e corpo gástricos, fixados em formaldeído a 10%, foram analisados no Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina/UFMG e processados de acordo com a rotina do serviço. Cortes histológicos de 5 µm de espessura foram corados com hematoxilina e eosina para o exame histológico e com carbolfucsina (ROCHA *et al.*, 1989) para a pesquisa de bactérias espiraladas. Todo o material foi analisado por dois patologistas do Serviço de Patologia Gástrica do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina/UFMG que desconheciam os resultados dos demais exames.

O diagnóstico histopatológico foi feito com base na classificação de Sydney modificada (DIXON *et al.*, 1996), considerando as variáveis quantitativas - intensidade da reação inflamatória e grau de atividade inflamatória, que foram graduadas de zero a três, conforme fossem respectivamente ausentes, ou de grau discreto, moderado e acentuado. Foram avaliadas também, a presença ou ausência de atrofia no antro e corpo e, a presença ou ausência de metaplasia intestinal no antro e corpo.

### ***Teste respiratório***

O teste respiratório foi realizado com uréia marcada com <sup>13</sup>C pela técnica de espectrometria infravermelha. Após jejum de 6 horas foi colhida uma amostra de ar expirado pelo paciente em um recipiente apropriado (amostra basal).

Imediatamente depois, o paciente ingeriu 200 ml de suco de laranja contendo 75 mg de uréia marcada com  $^{13}\text{C}$ . Após 30 minutos, nova amostra de ar expirado foi colhida (amostra teste). A leitura do conteúdo de  $^{13}\text{C}$  no ar expirado foi feita em espectrômetro de luz infravermelha (IRIS, Wagner Analysen Technik, Bremen, Alemanha). O teste foi definido como positivo quando o valor de DOB foi  $\geq 4,0\%$ .

O valor do DOB (“delta over baseline”) é determinado entre as razões das concentrações de  $^{13}\text{CO}_2$  e  $^{12}\text{CO}_2$  na amostra de ar expirado colhida 30 minutos depois da ingestão de uréia marcada com  $^{13}\text{C}$  e a colhida imediatamente antes da ingestão de uréia.

### ***Pesquisa de anticorpos séricos anti-*H. pylori****

A pesquisa de anticorpos IgG anti-*H. pylori* foi feita pelo método imunoenzimático (ELISA), empregando o *kit* Cobas Core anti-*H. pylori* EIA Quant (Roche Diagnostic, Basel, Suíça). O antígeno utilizado no *kit* é composto por proteínas da bactéria, altamente purificadas, incluindo a urease e excluindo as proteínas flagelares. A reação foi realizada no aparelho Cobas Core (espectrofotômetro) seguindo as recomendações do fabricante.

Numa primeira fase, as amostras de soro foram diluídas 1:41 com a solução diluente e incubadas com esferas de poliestireno revestidas com antígenos de *H. pylori*, por 18 minutos, a  $37^\circ\text{C}$ , protegidos da luz. Os anticorpos reativos ao antígeno do *H. pylori* fixaram-se à esfera. O material não aderido foi removido com a lavagem das esferas com água deionizada. A seguir, foi acrescentado à reação, o conjugado anti-IgG humana, de origem caprina, marcado com peroxidase. Após novas fases de incubação e lavagem, uma solução do substrato contendo 5 mmol/l de 3,3', 5,5'

tetrametil-benzidina em 3 mmol/l de dimetil-sulfóxido e peróxido de hidrogênio em tampão citrato foi adicionada à reação. Após incubação nas condições citadas anteriormente, a reação foi interrompida por meio da adição de ácido sulfúrico a 5%.

O intervalo de medição do Cobas Core anti-*H. pylori* é de 0,56 a 160 U/ml. Os resultados são calculados automaticamente utilizando a curva de calibração individual para os testes quantitativos e foram interpretados da seguinte forma: negativo < 5,4 U/ml, duvidoso entre 5,4 U/ml e 6,6 U/ml e positivo >6,6 U/ml.

As amostras com valores considerados duvidosos foram testadas novamente e aquelas com concentrações de IgG superiores a 160 U/ml foram diluídas e também testadas novamente.

### ***Critérios diagnósticos***

Os pacientes foram considerados *H. pylori*-positivos quando, pelo menos, dois testes foram positivos ou apenas a cultura foi positiva e, *H. pylori*-negativos quando todos os testes realizados foram negativos. Pacientes que apresentaram apenas um teste positivo, exceto a cultura, foram excluídos do estudo.

### ***Pesquisa de anticorpos anti-CagA***

Nos pacientes *H. pylori* positivos foi feita a pesquisa de anticorpos anti-CagA empregando o kit Helicobacter p120 ELISA (Viva Diagnostika, Hürth, Alemanha) que apresenta sensibilidade e especificidade de, aproximadamente, 90% para a nossa população (ROCHA *et al.*, 2003). A reação foi feita de acordo com as recomendações do fabricante. Resumidamente, as amostras de soro e os controles

foram diluídos e incubados a 37°C, por uma hora, com o antígeno – proteína CagA – previamente aderido a orifícios de uma microplaca. Depois deste período, a microplaca foi lavada por três vezes com tampão de lavagem. A seguir, foi acrescentado à reação, o conjugado anti-IgG humana marcada com peroxidase. Após novas fases de incubação e lavagem, uma solução de substrato contendo tetrametil-benzidina e peróxido de hidrogênio foi adicionado à reação. Depois da incubação por 30 minutos à temperatura ambiente, a reação foi interrompida por meio da adição de ácido. A leitura da densidade óptica foi feita com filtro de 450 nm.

#### **4.3.5 Análises laboratoriais diversas**

Foram realizadas depois de jejum de seis a oito horas em todos os pacientes. As amostras de sangue foram colhidas em tubos Vacuteiner® com EDTA e sem aditivo (siliconizado).

As dosagens da vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico, homocisteína total e hemograma foram feitas no início e subsequentemente, depois de três e seis meses do tratamento medicamentoso. As dosagens de gastrina, pepsinogênio I e pepsinogênio II foram realizadas antes e seis meses depois do tratamento da infecção. Os demais exames laboratoriais (creatinina, glicemia de jejum, TSH albumina sérica) e anticorpo anti-célula parietal foram realizados antes do tratamento. As amostras de sangue para dosagem da homocisteína, gastrina, pepsinogênio I, pepsinogênio II e anticorpo anti-célula parietal foram centrifugadas e, plasma e soro armazenados a -20 °C, até completar o número adequado para a realização dos testes.

As dosagens laboratoriais da vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico, hemograma, glicemia, TSH, albumina, creatinina foram realizadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG.

As dosagens de gastrina e anticorpo para célula parietal foram feitas no Laboratório Hermes Pardini com *kits* fornecidos pelo pesquisador.

As dosagens dos pepsinogênios I e II foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina/UFMG sob a supervisão das Prof<sup>as</sup>. Andréia Maria Camargos Rocha e Dulciene Maria de Magalhães Queiroz.

As dosagens da homocisteína foram feitas no Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), sob a supervisão da prof<sup>a</sup>. Vânia D`Almeida.

#### **4.3.5.1 Vitamina B<sub>12</sub> e ácido fólico**

As concentrações séricas da vitamina B<sub>12</sub> e do ácido fólico foram determinadas empregando a técnica de quimioluminescência com o uso do aparelho Immulite (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, EUA), segundo as recomendações do fabricante.

#### **4.3.5.2 Hemograma; albumina; glicemia; creatinina e TSH**

O hemograma foi realizado no contador eletrônico Cell-Dyn 3700 (Abbot Laboratories, Illinois, EUA). Foi considerado valor de referência para o volume corpuscular médio (VCM) de 80 a 96 fl.

A determinação da creatinina, albumina e glicose no soro dos pacientes foi feita empregando o Sistema Químico Vitros (Ortho-Clinical Diagnostic Inc., New York,

EUA), segundo as recomendações do fabricante. Foram considerados valores de referência para a creatinina sérica de 0,8 a 1,5 mg/dl para homens e 0,7 a 1,2 mg/dl para mulheres. Para a albumina sérica foram considerados os valores entre 3,5 e 5,0 mg/dl e para a glicemia de jejum, de 70 a 110 mg/dl (ADA, 1997).

A determinação sérica do TSH (*thyroid stimulating hormone*) foi determinada empregando a técnica de quimioluminescência usando o aparelho Immulite (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, EUA), segundo as recomendações do fabricante. Foram considerados como valores de referência para o TSH : 0,4 a 4  $\mu$ IU/ml.

O *clearance* de creatinina foi estimado utilizando-se a fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976) com valor de referência considerado dentro da faixa normal de 90 a 120 ml/min. Valores de 89 a 60 ml/min indicam insuficiência renal leve ou precoce; insuficiência renal moderada entre 59 e 30 ml/min; insuficiência renal grave entre 29 e 15 ml/min e *clearance* de creatinina < 15 ml/min indica uremia (doença renal no estágio terminal) (CZAPLA, 2003).

#### **4.3.5.3 Homocisteína**

A concentração plasmática da homocisteína total foi determinada pela metodologia de PFEIFFER *et al.* (1999), por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) com eluição isocrática e detecção fluorimétrica.

Depois de jejum de oito horas e com paciente na posição sentada, foi feita a colheita de sangue em tubos com EDTA (Vacunteiner®). As amostras foram colocadas no gelo e centrifugadas até no máximo três horas depois da colheita.

Os valores de 5 a 15  $\mu\text{mol/l}$  foram considerados dentro da faixa normal; valores de 16 a 30  $\mu\text{mol/l}$  indicam hiperhomocisteinemia moderada e, entre 31 e 100  $\mu\text{mol/l}$  hiperhomocisteinemia intermediária; valores  $>100$   $\mu\text{mol/l}$  indicam hiperhomocisteinemia grave. Valores de 200 a 400  $\mu\text{mol/l}$  indicam homocistinúria (REFSUM *et al.*, 1998).

#### **4.3.5.4 Pepsinogênio I**

A concentração sérica de pepsinogênio I foi determinada pelo método imunoenzimático (ELISA), empregando o *kit* Pepsinogen I (Biohit Plc, Helsinki, Finlândia), de acordo com as recomendações do fabricante. Numa primeira fase, as amostras de soro foram diluídas 1:10 em solução diluente e incubadas com anticorpos anti-pepsinogênio I previamente adsorvidos à superfície de uma microplaca de poliestireno, por 60 minutos, a 37°C. A seguir foi realizada a lavagem das microplacas com água deionizada para remoção do material não fixado e foi acrescentado à reação, o conjugado anti-pepsinogênio I marcado com peroxidase. Após novas etapas de incubação (30 minutos, a 37°C) e lavagem, uma solução do substrato contendo tetramil-benzidina e peróxido de hidrogênio foi adicionada à reação. Após incubação nas condições descritas anteriormente, a reação foi interrompida por meio da adição de ácido. A leitura da densidade óptica foi feita em espectrofotômetro com filtro de 450 nm.

As concentrações séricas de pepsinogênio I foram determinadas a partir da interpolação dos valores de densidade óptica das amostras testadas com aqueles de uma curva, construída a partir dos valores calibradores de concentrações conhecidas, fornecidos pelo fabricante do *kit*. Os valores podem variar de 25  $\mu\text{g/l}$  a

120  $\mu\text{g/l}$ . Foram considerados dentro da faixa normal valores  $\geq 50 \mu\text{g/l}$ . Os valores  $\leq 30 \mu\text{g/l}$  foram considerados como presença de gastrite atrófica do corpo (SIPPONEN *et al.*, 2003).

#### **4.3.5.5 Pepsinogênio II**

A concentração sérica de pepsinogênio II foi determinada pelo método imunoenzimático (ELISA), empregando o *kit* Pepsinogen II (Biohit Plc, Helsinki, Finlândia), de acordo com as recomendações do fabricante. Numa primeira fase, as amostras de soro foram diluídas 1:5 em solução diluente e incubadas com anticorpos anti-pepsinogênio II, previamente adsorvidos à superfície de uma microplaca de poliestireno, por 60 minutos, à temperatura ambiente e sob agitação. A seguir, foi realizada a lavagem das microplacas com solução tampão para remoção do material não fixado e acrescentado à reação, o conjugado anti-pepsinogênio II marcado com peroxidase. Após novas fases de incubação e lavagem nas condições descritas anteriormente, uma solução do substrato contendo tetrametilbenzidina e peróxido de hidrogênio foi adicionada à reação. Após incubação por 30 minutos à temperatura ambiente, a reação foi interrompida por meio da adição de ácido sulfúrico a 0,1mol/l. A leitura da densidade óptica foi feita em espectrofotômetro com filtro de 450 nm. As concentrações séricas de pepsinogênio II foram determinadas a partir da interpolação dos valores de densidade óptica das amostras testadas com aqueles de uma curva, construída a partir dos valores de três calibradores de concentrações conhecidas, fornecidos pelo fabricante do *kit*. Os valores dentro de 5,0 a 23,0  $\mu\text{g/l}$  foram considerados dentro da faixa normal.

#### **4.3.5.6 Relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II**

É determinada pela relação entre a concentração sérica do pepsinogênio I/ pepsinogênio II (PGI/ PGII). Foi considerada normal a relação da concentração do pepsinogênio I para pepsinogênio II de 3:1 (GRITTI *et al.*, 2000). A relação PG I/ PG II é  $< 3,0$  quando a gastrite atrófica do corpo gástrico é avançada (grau moderado ou grave) (VARIS *et al.*, 1979).

#### **4.3.5.7 Gastrina**

A concentração sérica de gastrina foi determinada pelo método de radioimunoensaio empregando o kit Gastrin® <sup>125</sup>I RIA (DiaSorin, Stillwater, Minnesota, EUA), de acordo com as recomendações do fabricante.

Os valores de referência considerados são os seguintes: até 108 pg/ml dentro da faixa normal; 109 a 230 pg/ml na faixa intermediária;  $> 231$  pg/ml elevado.

#### **4.3.5.8 Pesquisa de Anticorpo Anti-Célula Parietal**

A pesquisa de anticorpos séricos anti-célula parietal foi realizada por imunofluorescência indireta, utilizando como antígenos fígado e rim de rato e estômago de camundongo. Foi empregado o *kit* Autoantibody Screen (Diagnostic & Technical Services (DTS), Johannesburg, África do Sul) de acordo com as instruções do fabricante.

### **4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram analisados usando o programa estatístico SPSS, versão 10.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EUA).

Utilizou-se a estatística descritiva (média, mediana, desvio padrão) para o estudo das variáveis selecionadas (idade, sexo, IMC, glicose, creatinina, *clearance* de creatinina, albumina, TSH, vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico, hemoglobina, VCM, homocisteína, gastrina, pepsinogênios I e II, relação PG I/ PG II)

A correlação de Pearson foi utilizada no estudo entre as diversas variáveis selecionadas antes e depois do tratamento medicamentoso e, também, para o estudo entre as variáveis selecionadas e exames histopatológicos.

O teste “t” de Student pareado foi utilizado para comparação das médias das variáveis escolhidas antes e depois do tratamento (três e seis meses).

O teste não paramétrico de Mann Whitney foi utilizado para comparação entre as medianas das variáveis escolhidas.

O teste do “Qui-quadrado” ( $\chi^2$ ) e, também o teste exato de Fisher foram utilizados para comparar variáveis não-paramétricas (*status* CagA com graus de atividade e inflamação do antro e corpo gástricos).

As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p \leq 0,05$ .

Guardar uma coisa não é escondê-la ou trancá-la.

Em cofre não se guarda coisa alguma.

Em cofre perde-se a coisa à vista.

Guardar uma coisa é olhá-la, fitá-la, mirá-la  
por admirá-la, isto é, iluminá-la ou ser por ela iluminado.

Guardar uma coisa é vigiá-la, isto é, fazer vigília por ela,  
isto é, velar por ela , isto é, estar acordado por ela,  
isto é, estar por ela ou ser por ela.

Por isso melhor se guarda o vôo de um pássaro

Do que um pássaro sem vôos.

Por isso se escreve, por isso se diz, por isso se publica

...

Guardar

Antônio Cícero

## **5. RESULTADOS**

## 5.RESULTADOS

### 5.1 RESULTADOS GERAIS

#### 5.1.1 Características do grupo total de participantes

Estudou-se, durante todo o trabalho, um grupo total constituído por 108 pacientes com dosagem sérica da vitamina B<sub>12</sub> ≤ 350 mg/dl e ácido fólico normal (3 a 17 ng/ml), com média de idade de 72,1 anos (± 7,93), faixa etária de 60 a 108 anos e composto por 79 mulheres (73,1%) e 29 homens (26,9%).

Dos 108 pacientes, 46 foram excluídos porque, em 21 pacientes não houve confirmação da infecção por *H. pylori* e, os outros 25 pacientes, apesar de serem *H. pylori* positivos, apresentaram, durante o estudo, fatores excludentes à participação no trabalho (Figura 5.1).

O grupo de pacientes excluídos tinha média de idade de 74,7 anos (± 8,6), mínimo de 61 e máximo de 108 anos, sendo 18 do sexo masculino (39,1%) e 28 do sexo feminino (60,9%).

Nos 25 pacientes *H. pylori* positivos detectaram-se os seguintes fatores excludentes: *delirium* (n=2); diagnóstico de neoplasias [carcinoma de próstata (n=3) e adenocarcinoma de intestino grosso (n=1)]; diverticulose com sangramento grave (n=1); provável demência multi-infarto (n=4); provável Doença de Parkinson (n=1); epilepsia focal (n=1); síndrome de Stevens-Johnson (n=1); provável

trombose mesentérica (n=1); bronquiectasia com infecção de repetição (n=1); insuficiência ventricular esquerda aguda (n=1) e utilização de vitamina B<sub>12</sub> injetável (n=8) durante o estudo.

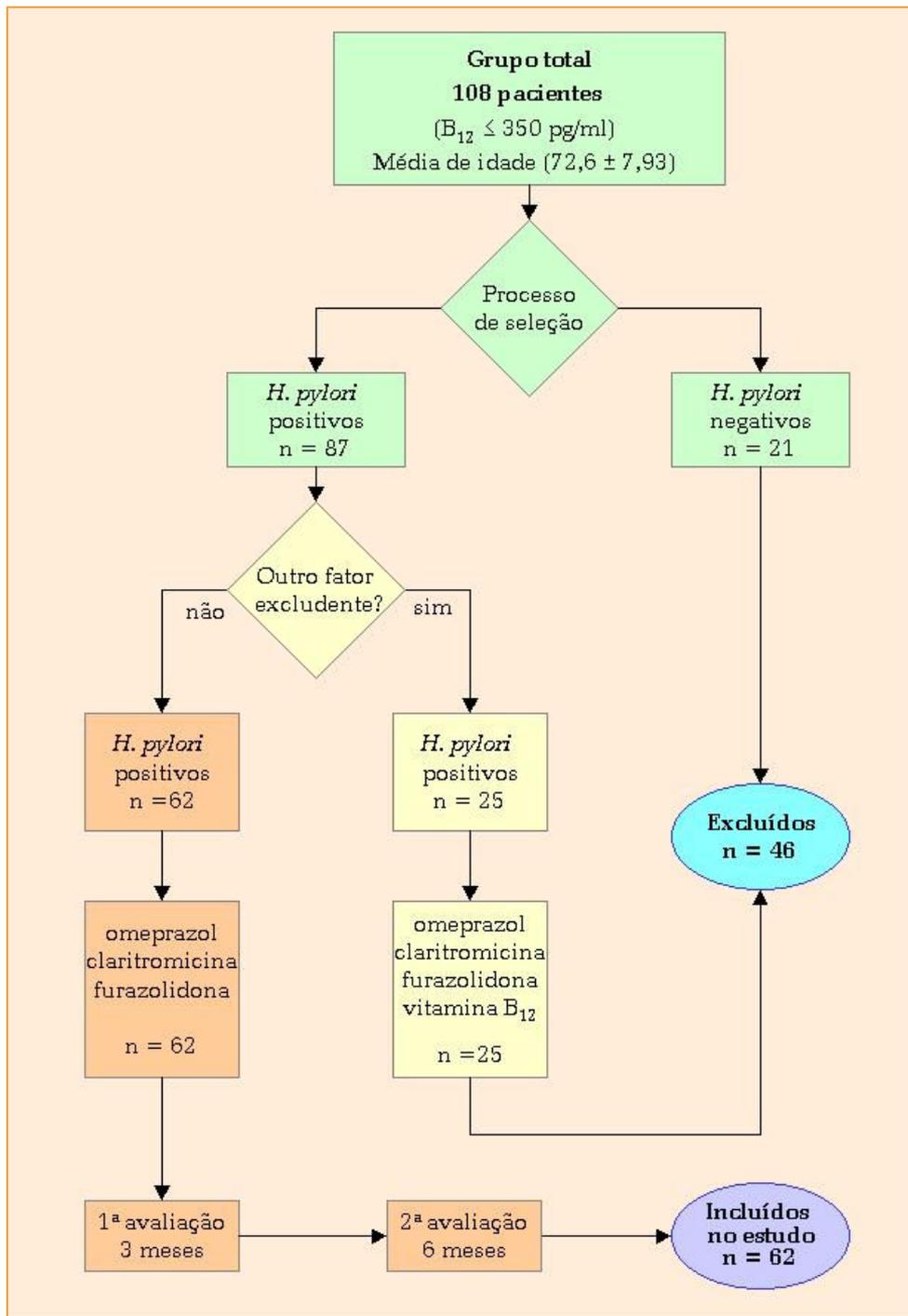


Figura 5.1: Fluxograma - Processo de seleção dos pacientes e composição do Grupo Total

As características dos pacientes participantes dos grupos total, excluído e incluído encontram-se descritas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Características dos pacientes com vitamina B<sub>12</sub> ≤ 350 pg/ml

GRUPOS	NÚMERO	Sexo	Média de idade	Presença de <i>H. pylori</i>	
		M/F	± DP (ANOS)	+	-
INCLUÍDO	62	11/51	71,1 ± 7,03	62	-
Excluído	46	18/28	74,7 ± 8,65	25	21
Total	108	29/79	72,6 ± 7,93	87	21

M, masculino; F, feminino; DP, desvio padrão, n, número; +, positivo; -, negativo

### 5.1.2 Características do grupo incluído no estudo

Os 62 participantes tinham média de idade de 71,1 anos ( $\pm 7,03$ ), variação de 60 a 86 anos, com 11 integrantes do sexo masculino, média de idade de 75,4 anos ( $\pm 7,61$ ) e 51 do sexo feminino, média de idade de 70,2 anos ( $\pm 6,60$ ). Neste grupo havia dois fumantes com uso de mais de cinco cigarros ao dia por mais de cinco anos. A média do índice de massa corpórea (IMC) foi de 25,95 ( $\pm 4,01$ ) kg/m<sup>2</sup> e foram considerados dentro da faixa da normalidade (18 a 25 kg/m<sup>2</sup>).

À esofagogastroduodenoscopia foi visto que oito pacientes (12,9%) tinham úlcera duodenal.

Os dados laboratoriais dos pacientes, antes do tratamento medicamentoso, estão na Tabela 5.2.

Tabela 5.2: Dados laboratoriais dos pacientes *H. pylori* positivos (n=62).

DADOS LABORATORIAIS	Média dos valores (DP)	Valores de referência
Albumina (g/dl)	4,1 ( $\pm$ 0,45)	3,5 a 5,0 mg/dl
Glicemia (mg/dl)	94,5 ( $\pm$ 9,87)	70 a 110 mg/dl
TSH ( $\mu$ IU/ml)	1,8 ( $\pm$ 1,96)	0,4 a 4,0 ( $\mu$ IU/ml)
Creatinina (mg/dl)	0,9 ( $\pm$ 0,18)	0,8 a 1,5 mg/dl (M) 0,7 a 1,2 mg/dl (F)
<i>Clearence</i> de creatinina (ml/min)	58,7 ( $\pm$ 16,57)	90 a 120 ml/min
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	196,3 ( $\pm$ 66,00)	$\geq$ 350 pg/ml
Ácido fólico (ng/ml)	6,8 ( $\pm$ 3,74)	3 a 17 ng/ml
Hemoglobina (g/dl)	14,0 ( $\pm$ 1,14)	> 13,0 g/dl (M) > 12,0 g/dl (F)
VCM (fl)	90,2 ( $\pm$ 5,74)	80 a 96 fl
Homocisteína ( $\mu$ mol/l)	40,3 ( $\pm$ 26,64)	5 a 15 $\mu$ mol/l
Gastrina (pg/ml)	77,8 ( $\pm$ 99,60)	$\leq$ 108 pg/ml
Pepsinogênio I ( $\mu$ g/l)	110,3 ( $\pm$ 72,28)	$\geq$ 50 $\mu$ g/l
Pepsinogênio II ( $\mu$ g/l)	18,5 ( $\pm$ 12,92)	5,0 a 23,0 $\mu$ g/l
Relação PG I/PG II	6,6 ( $\pm$ 3,77)	$\geq$ 3:1

DP, desvio padrão M, masculino; F, feminino; VCM, volume corpuscular médio; min, minuto; PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II

A concentração média da vitamina B<sub>12</sub> foi de 196, 3 ( $\pm$  66,00) pg/ml em relação ao ponto de corte de 350 pg/ml utilizado neste trabalho.

Foi observado aumento na concentração média da homocisteína sérica de 40,3 ( $\pm$  26,64)  $\mu$ mol/l em relação ao valor de referência (15  $\mu$ mol/l).

O volume corpuscular médio (VCM) encontrado foi de 90,2 fl ( $\pm$  5,74). As outras dosagens não apresentaram alterações em relação aos seus respectivos valores de referência e foram consideradas dentro da faixa da normalidade (albumina,

glicemia, TSH, hemoglobina, ácido fólico). A função renal avaliada com a dosagem da creatinina sérica e o *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976), mostrou a concentração média da creatinina dentro da faixa da normalidade, porém a média do *clearance* de creatinina apresentou redução em relação ao valor de referência.

A concentração média de gastrina foi de 77,8 pg/ml ( $\pm$  99,6), com o valor de referência de  $\leq$  108 pg/ml. A concentração média do pepsinogênio I esteve dentro do valor de referência ( $\geq$  50  $\mu$ g/l) e a concentração média do pepsinogênio II foi de 18,5  $\mu$ g/l, dentro da faixa da normalidade. Também, a relação pepsinogênio I / pepsinogênio II (PG I/ PG II) esteve dentro do valor de referência.

Com relação à função renal, avaliada pela creatinina sérica e *clearance* de creatinina utilizando a fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976), foram observadas correlações positiva entre a idade dos pacientes e a concentração sérica de creatinina ( $r=0,29$ ;  $p=0,02$ ), e correlação inversa entre a idade do grupo incluído e o *clearance* de creatinina ( $r= -0,54$ ;  $p < 10^{-3}$ ), (Gráficos 5.1 e 5.2).

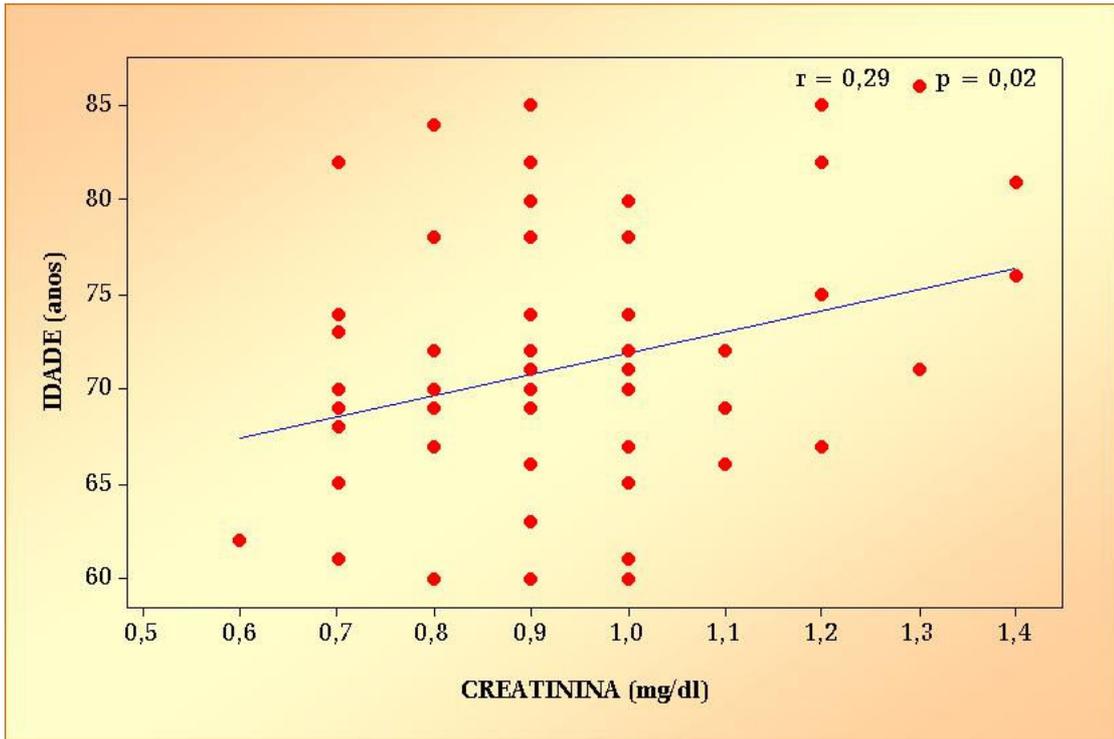


Gráfico 5.1: Correlação entre idade dos pacientes e creatinina sérica

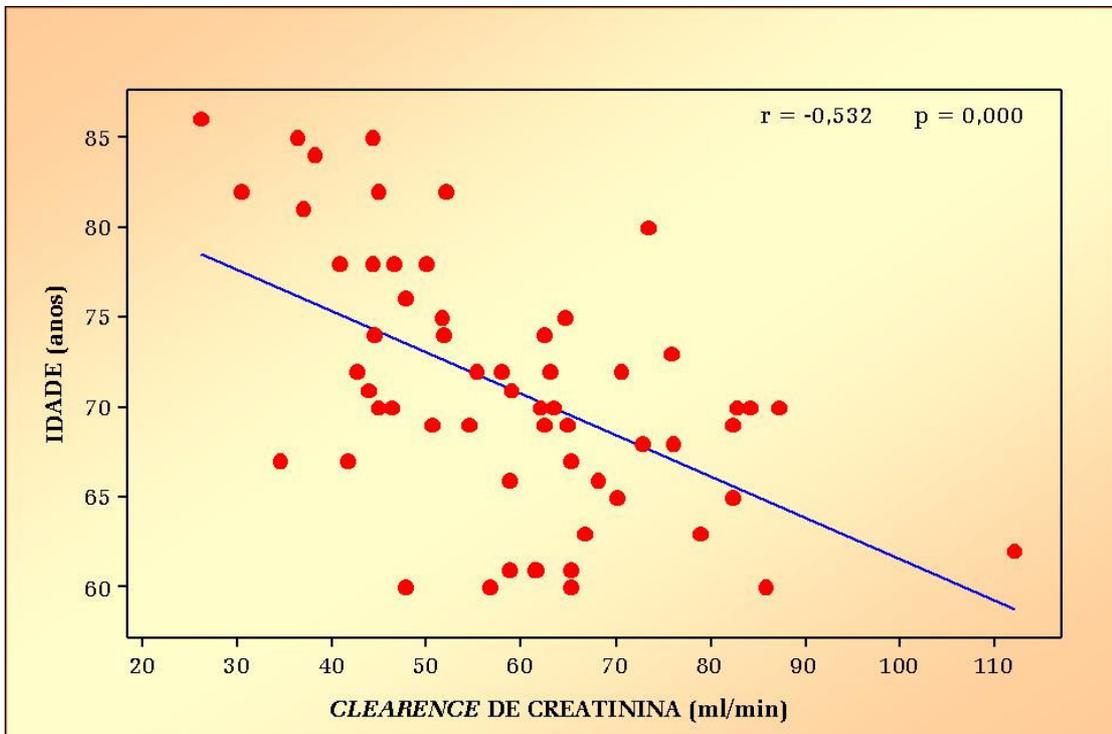


Gráfico 5.2: Correlação entre idade dos pacientes e *clearance* de creatinina

### 5.1.3 Resultados antes da erradicação do *H. pylori*.

Nos 62 pacientes *H. pylori* positivos encontrou-se infecção por amostras CagA positivas em 41 pacientes (66,1%) e, por amostras CagA negativas em 21 (33,9%) pacientes (Gráfico 5.3). Dentre os 62 pacientes, a pesquisa de anticorpos anti-célula parietal foi positiva em sete pacientes (11,3%).

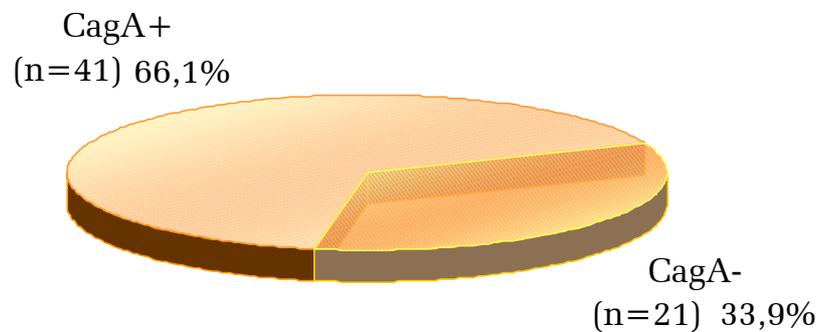


Gráfico 5.3: Presença de amostras CagA positivas e negativas nos pacientes estudados

Foram observadas correlações significativas entre as concentrações iniciais de diversas substâncias e variáveis selecionadas (vitamina B<sub>12</sub>, VCM, homocisteína, pepsinogênio I, pepsinogênio II, relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II, creatinina e *clearance* de creatinina).

### Vitamina B<sub>12</sub>

A análise das correlações entre a vitamina B<sub>12</sub> e as diversas variáveis mostrou: correlação inversa entre a concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> e o índice VCM no hemograma ( $r=-0,270$   $p=0,04$ ) e, ausência de correlações entre essa e as demais variáveis (Tabela 5.3 e Gráfico 5.4).

Tabela 5.3: Correlações entre os níveis da vitamina B<sub>12</sub> e variáveis selecionadas antes do tratamento

Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	Correlação	p
VCM (fl)	-0,270	<b>0,04</b>
Homocisteína (μmol/l)	-0,214	0,09
Pepsinogênio I (μg/l)	0,080	0,53
Pepsinogênio II (μg/l)	0,046	0,72
Relação PG I/ PG II	0,020	0,87

VCM, volume corpuscular médio; PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II

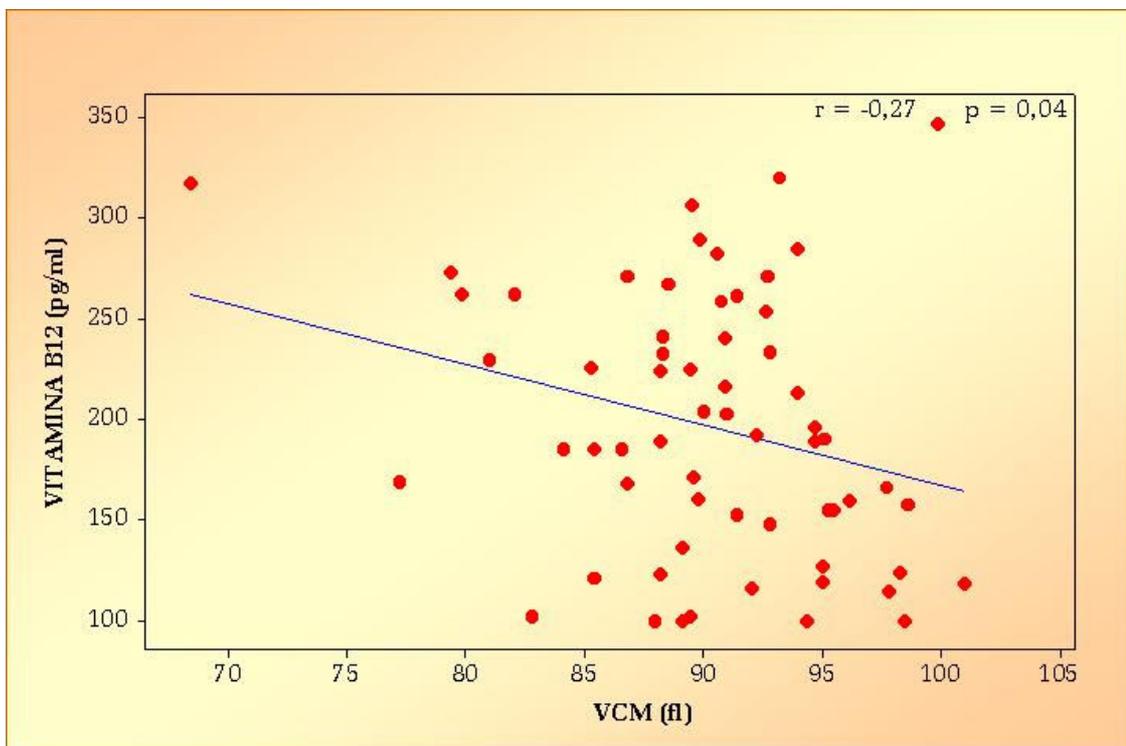


Gráfico 5.4: Correlação entre os valores do VCM e a concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub>

### ***Homocisteína***

Também, foram observadas correlação positiva entre a concentração plasmática da homocisteína e o índice VCM ( $r=0,28$ ;  $p=0,03$ ) e correlação inversa entre a concentração plasmática da homocisteína e concentração sérica de pepsinogênio I ( $r=-0,32$ ;  $p=0,01$ ). Não foram observadas correlações significativas entre as demais variáveis (Tabela 5.4, Gráficos 5.5 e 5.6).

Tabela 5.4: Correlação entre os níveis de homocisteína e variáveis selecionadas antes do tratamento

<b>Homocisteína (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	<b>Correlação</b>	<b>p</b>
Idade (anos)	0,102	0,43
Glicose (mg/dl)	-0,031	0,81
TSH (uIU/ml)	0,053	0,69
Creatinina (mg/dl)	0,103	0,45
<i>Clearence</i> de creatinina (ml/min)	0,016	0,90
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	-0,214	0,09
VCM (fl)	0,280	<b>0,03</b>
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	-0,317	<b>0,01</b>
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	-0,169	0,19
Relação PG I/ PG II	-0,082	0,53

VCM, volume corpuscular médio; PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II.

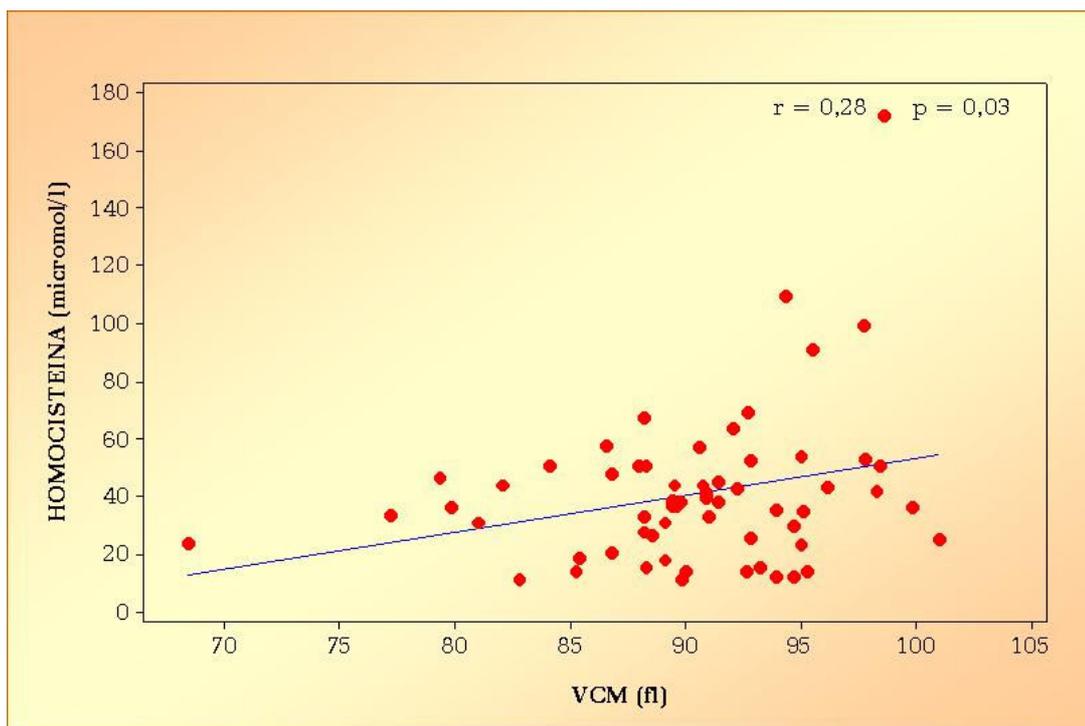


Gráfico 5.5: Correlação entre a concentração plasmática da homocisteína e o VCM

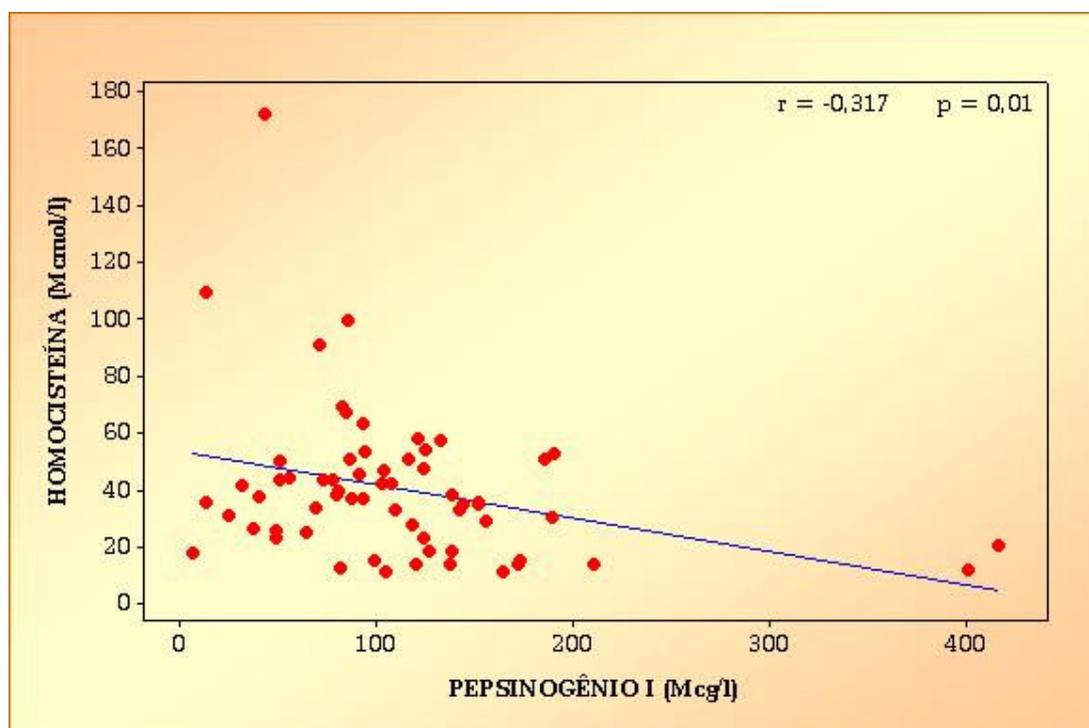


Gráfico 5.6: Correlação entre a concentração plasmática da homocisteína e a concentração sérica do pepsinogênio I

### ***Pepsinogênio I***

Também, foram observadas correlação positiva entre a dosagem de pepsinogênio I e a dosagem de pepsinogênio II ( $r=0,705$ ,  $p<10^{-3}$ ) e correlação inversa entre a dosagem de pepsinogênio I e homocisteína ( $r=-0,317$ ,  $p=0,01$ ), (Tabela 5.5 e Gráficos 5.6 e 5.7).

Tabela 5.5: Correlação entre os níveis de pepsinogênio I e as variáveis selecionadas antes do tratamento

<b>Pepsinogênio I (<math>\mu\text{g/l}</math>)</b>	<b>Correlação</b>	<b>p</b>
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	0,705	$< 10^{-3}$
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	-0,317	<b>0,01</b>
Relação PG I/ PG II	0,073	0,57
Creatinina (mg/dl)	0,060	0,64
<i>Clearence</i> de creatinina (ml/min)	-0,224	0,08
VCM (fl)	0,155	0,23
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	0,080	0,54

PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II, VCM, volume corpuscular médio.

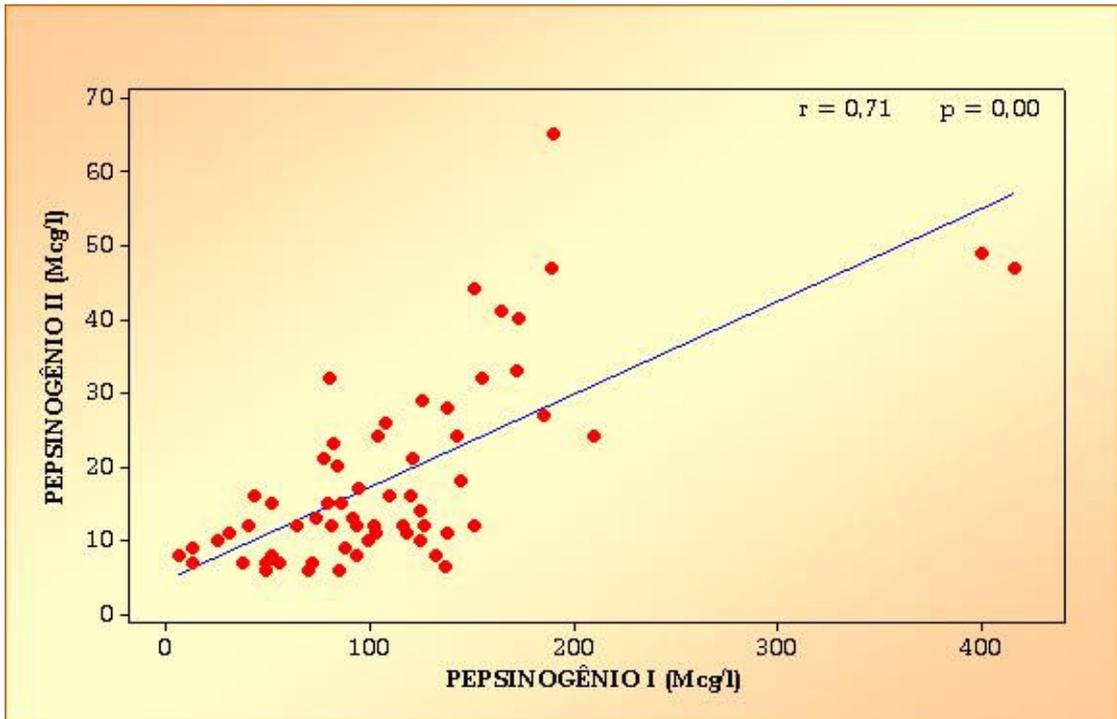


Gráfico 5.7: Correlação entre a concentração sérica do pepsinogênio II e concentração sérica do pepsinogênio I

### ***Pepsinogênio II***

Também, foram observadas correlação positiva entre a concentração sérica de pepsinogênio II e a concentração sérica de pepsinogênio I ( $r=0,705$ ,  $p<10^{-3}$ ); correlação inversa entre a concentração sérica de pepsinogênio II e relação PG I / PG II ( $r=-0,461$ ;  $p<10^{-3}$ ), (Tabela 5.6 e Gráfico 5.8).

Tabela 5.6: Correlação entre os níveis de pepsinogênio II e variáveis selecionadas antes do tratamento

<b>Pepsinogênio II (<math>\mu\text{g/l}</math>)</b>	<b>Correlação</b>	<b>p</b>
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	0,705	$< 10^{-3}$
Relação PG I/ PG II	-0,461	$< 10^{-3}$
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	-0,169	0,19
VCM (fl)	0,226	0,08
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	0,046	0,73
Creatinina (mg/dl)	-0,108	0,403
<i>Clearence</i> de creatinina (ml/min)	-0,162	0,212

PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II, VCM, volume corpuscular médio.

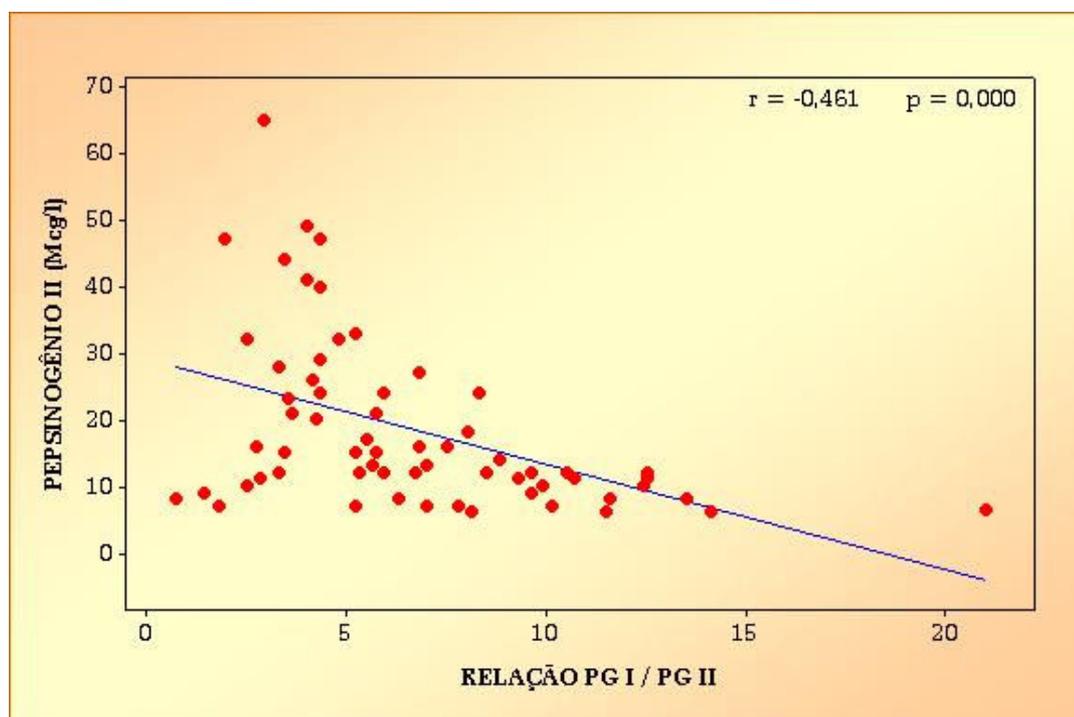


Gráfico 5.8: Correlação entre concentração de pepsinogênio II e relação pepsinogênio I (PG I) e pepsinogênio II (PG II)

### **Relação PG I / PG II**

Foi observada correlação inversa entre a relação PG I/ PG II e concentração sérica de pepsinogênio II ( $r=-0,461$ ,  $p<10^{-3}$ ). Não foram observadas correlações entre essa e as demais variáveis (Tabela 5.7 e Gráfico 5.8).

Tabela 5.7: Correlação entre a relação PG I/ PG II e as variáveis selecionadas antes do tratamento

<b>Relação PG I/ PG II</b>	<b>Correlação</b>	<b>p</b>
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	-0,461	$< 10^{-3}$
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	0,073	0,57
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	-0,082	0,53
VCM (fl)	-0,040	0,76
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	0,020	0,88

PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II, VCM, volume corpuscular médio

## **5.2 RESULTADOS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO PARA ERRADICAÇÃO DO *H. pylori*.**

Nos 62 pacientes estudados, a taxa de erradicação do *H. pylori* foi de 95,2% na avaliação depois de três meses de tratamento. Foi utilizado o esquema inicial conforme descrição no item 4.3.2.

Os três pacientes (2,8%), nos quais não houve erradicação da bactéria, foram tratados novamente com o esquema alternativo, como descrito no item 4.3.2, e reavaliados, respectivamente, com três e seis meses.

Depois de seis meses do término do tratamento, o microorganismo foi erradicado em 100% dos 62 pacientes.5.3 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica dos pacientes estudados.

Ao exame histopatológico, gastrite do antro, corpo ou ambos, de grau leve a acentuado foi vista em 61 pacientes (Tabelas 5.8 e 5.9 e Figura 5.2). A análise histopatológica (antro e corpo) não foi realizada em um paciente por inadequação do material e, em outro paciente, pelo mesmo motivo, não se avaliou o corpo gástrico.

Tabela 5.8: Análise histopatológica do antro gástrico de acordo com os critérios de Sidney modificados

Antro	Ausente	Presente	Grau (n, % v)		
			Leve	Moderada	Acentuada
Inflamação	0	61 (100%)	6 (9,8%)	32 (52,5%)	23 (37,7%)
Atividade	0	61 (100%)	15 (24,6%)	34 (55,7%)	12 (19,7%)
Atrofia	33 (54,1%)	28 (45,9%)	–	–	–
Metaplasia intestinal	35 (57,4%)	26 (42,6%)	–	–	–

n, número; %v, porcentagem válida; –, dado não avaliado.

Tabela 5.9: Análise histopatológica do corpo gástrico de acordo com os critérios de Sidney modificados

Corpo	Ausente	Presente	Grau (n % v)		
			Leve	Moderada	Acentuada
Inflamação	2 (3,3%)	58 (96,7%)	12 (20,0%)	31 (51,7%)	15 (25%)
Atividade	4 (6,7%)	56 (93,3%)	14 (23,3%)	36 (60 %)	6 (10%)
Atrofia	55 (90,2%)	6 (9,8%)	–	–	–
Metaplasia intestinal	56 (91,8%)	5 (8,2%)	–	–	–

n, número; %v, porcentagem válida; –, dado não avaliado.

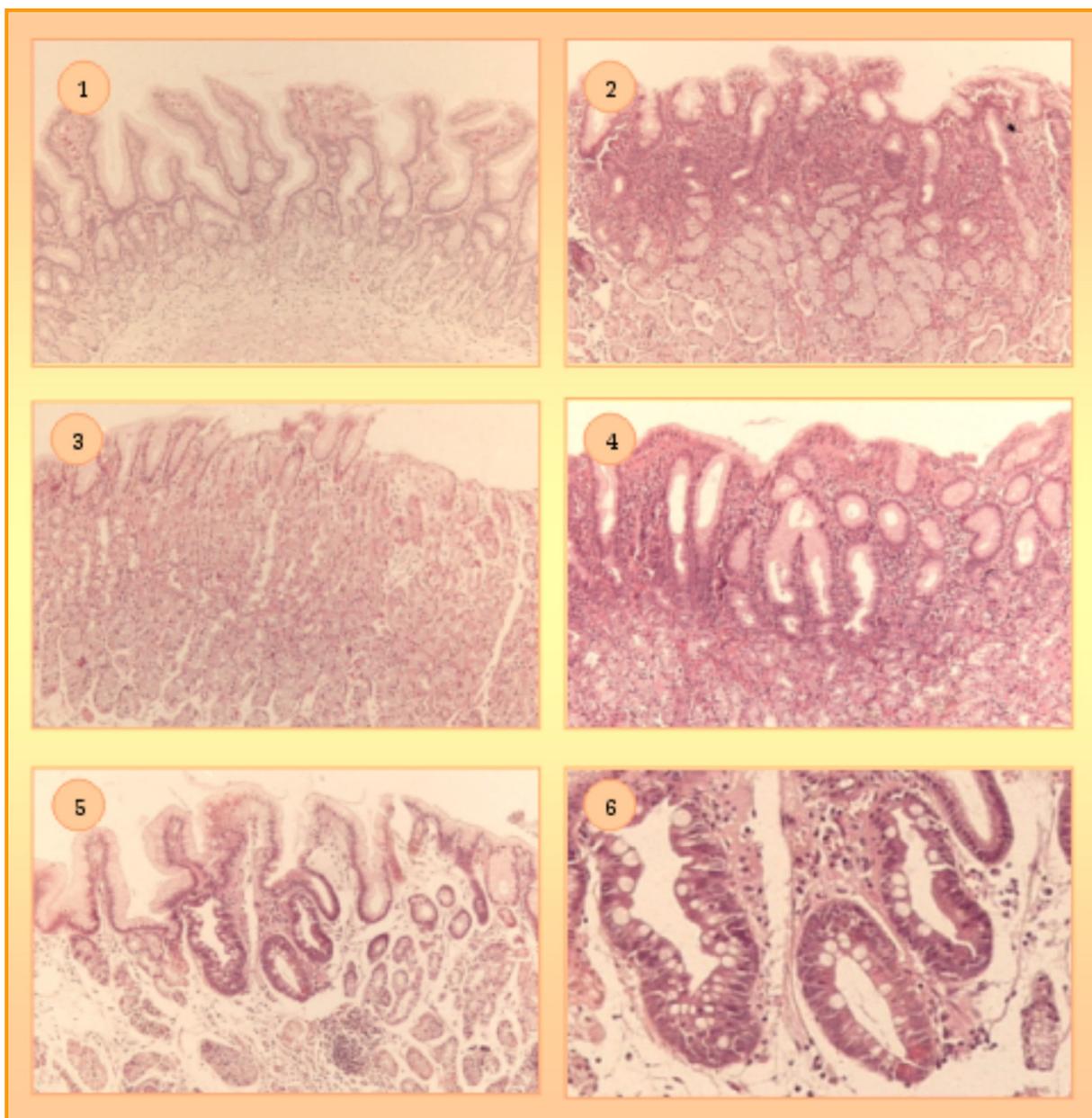


Figura 5.2: Análise histopatológica

- 1 – Mucosa Antral Normal (coloração – HE, aumento 100 x).
- 2 – Gastrite Crônica Antral em atividade (coloração – HE, aumento 100 x).
- 3 – Mucosa do Corpo Normal (coloração – HE, aumento 100 x).
- 4 – Gastrite Crônica do Corpo em atividade (coloração – HE, aumento 100 x).
- 5 – Gastrite Crônica do corpo com Atrofia e Metaplasia Intestinal (coloração – HE, aumento 100 x).
- 6 – Metaplasia Intestinal: células caliciformes, células de Paneth e orla em escova (detalhe, coloração – HE, aumento 200 x).

#### 5.4 ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE O ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DO ANTRO GÁSTRICO E AS VARIÁVEIS SELECIONADAS ANTES DO TRATAMENTO.

Foram selecionadas, para esta análise, as seguintes variáveis: VCM, vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína, pepsinogênio I, pepsinogênio II e relação pepsinogênio I/pepsinogênio II.

##### 5.4.1 Correlação entre o grau de inflamação da mucosa antral e as variáveis selecionadas.

Foi observada correlação estatisticamente significativa entre o grau de inflamação da mucosa antral e a concentração de pepsinogênio II ( $r=0,251$ ;  $p=0,05$ ). Foi também vista correlação inversa entre o grau de inflamação da mucosa antral e a relação pepsinogênio I / pepsinogênio II ( $r=-0,257$ ;  $p=0,05$ ), (Tabela 5.10 e Gráficos 5.9 e 5.10).

Tabela 5.10: Correlação entre o grau de inflamação do antro e variáveis selecionadas antes do tratamento

<b>Grau de inflamação do antro</b>	<b>Correlação</b>	<b>p</b>
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	0,251	<b>0,05</b>
Relação PG I/PG II	-0,257	<b>0,05</b>
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	0,167	0,20
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	0,126	0,33
VCM (fl)	0,257	0,45
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	-0,038	0,77

PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II; VCM, volume corpuscular médio;

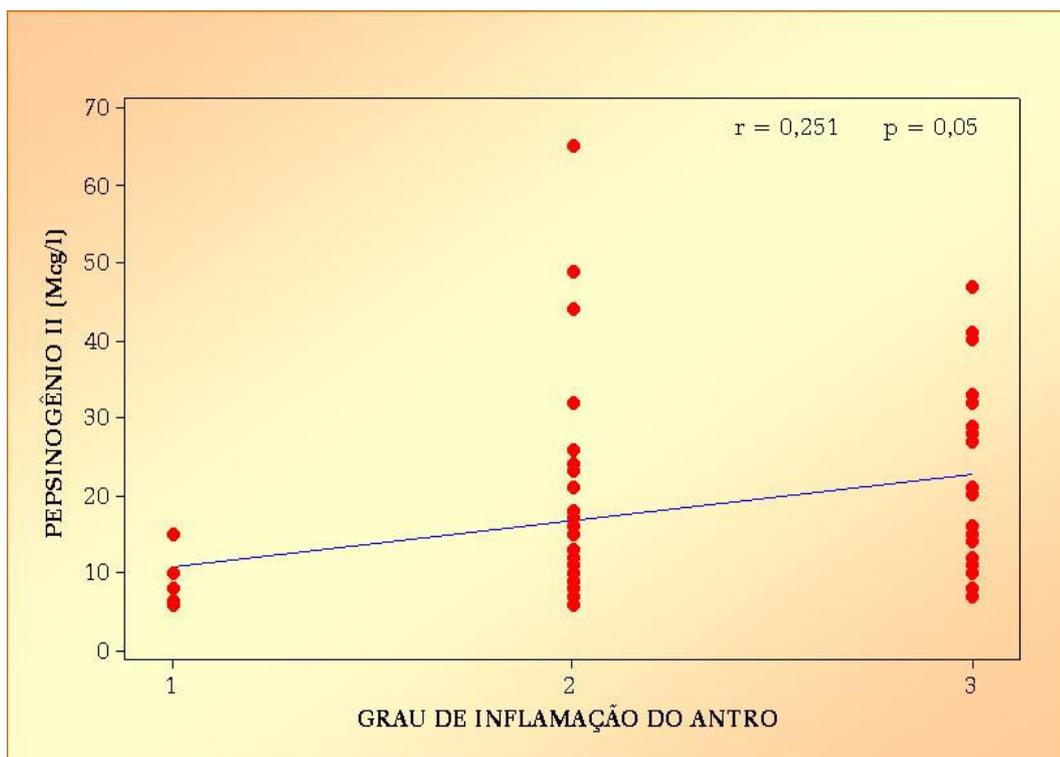


Gráfico 5.9: Correlação entre o grau de inflamação do antro e concentração sérica de pepsinogênio II

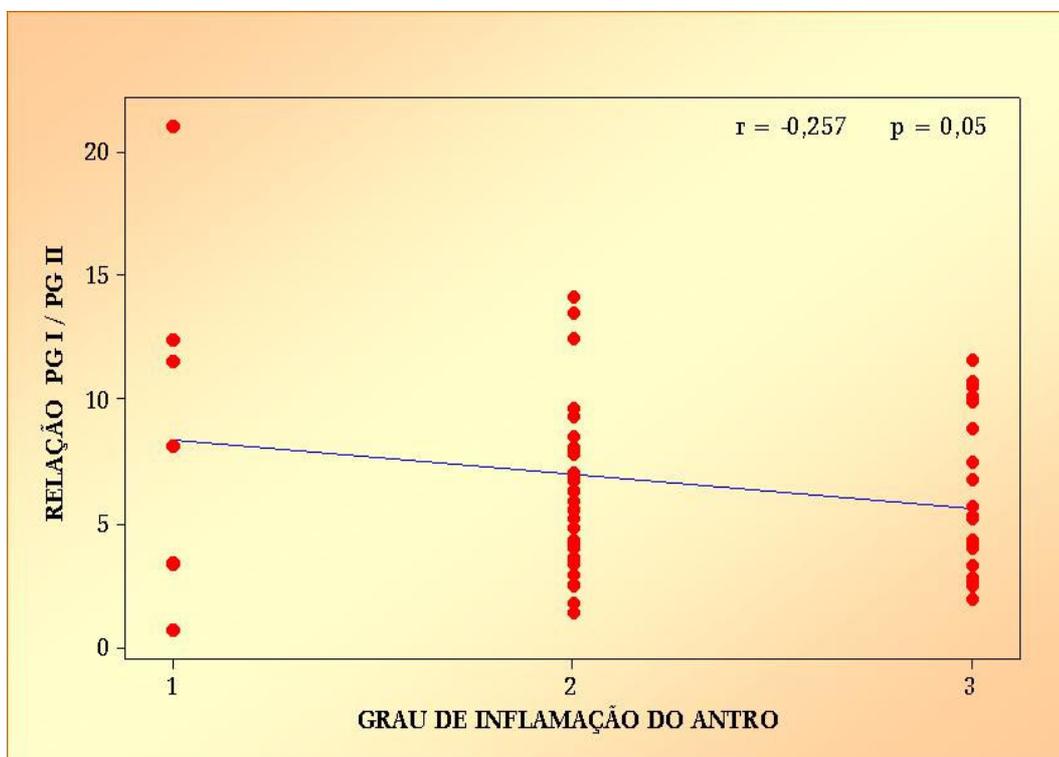


Gráfico 5.10: Correlação entre o grau de inflamação do antro e a relação pepsinogênio I (PG I) e pepsinogênio II (PG II)

### 5.4.2 Correlação entre o grau de atividade da mucosa antral e as variáveis selecionadas.

Foram observadas correlações estatisticamente significativas entre o grau de atividade da mucosa antral e as concentrações de pepsinogênio I ( $r=0,351$ ;  $p=0,006$ ) e pepsinogênio II ( $r=0,317$ ;  $p=0,01$ ), (Tabela 5.11 e Gráficos 5.11 e 5.12).

Tabela 5.11: Correlação entre o grau de atividade do antro e variáveis selecionadas antes do tratamento

Grau de atividade do antro	Correlação	p
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	0,351	<b>0,01</b>
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	0,317	<b>0,01</b>
Relação PGI/ PG II	-0,074	0,57
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	-0,052	0,69
VCM (fl)	0,225	0,08
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	-0,068	0,67

VCM, volume corpuscular médio; PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II

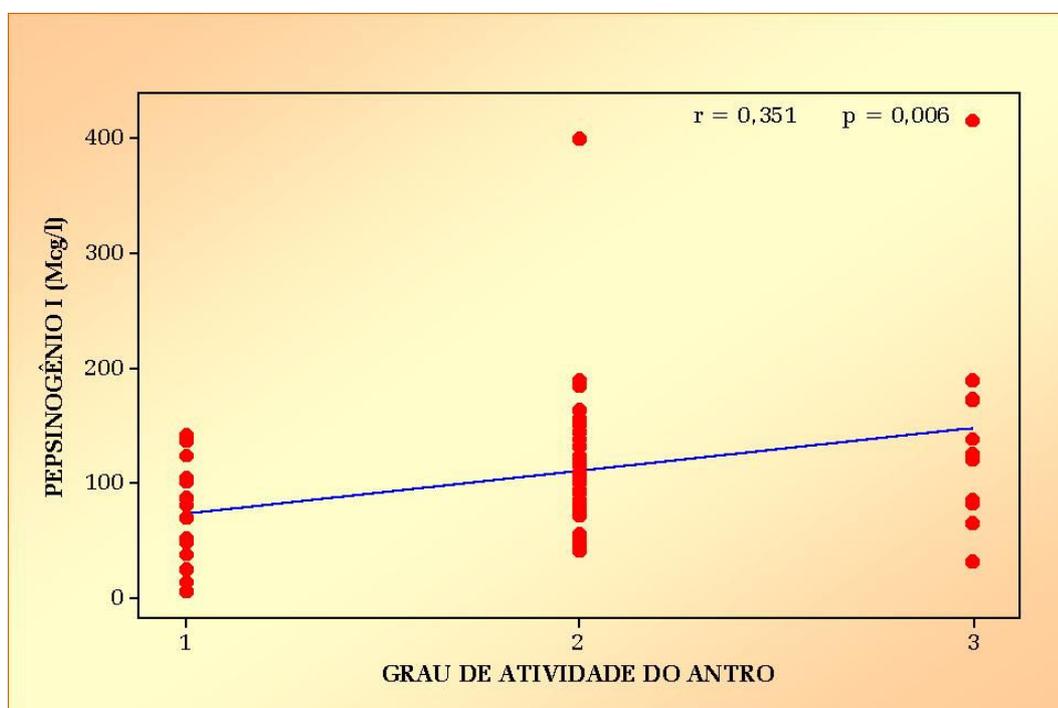


Gráfico 5.11: Correlação entre o grau de atividade do antro e a concentração sérica do pepsinogênio I

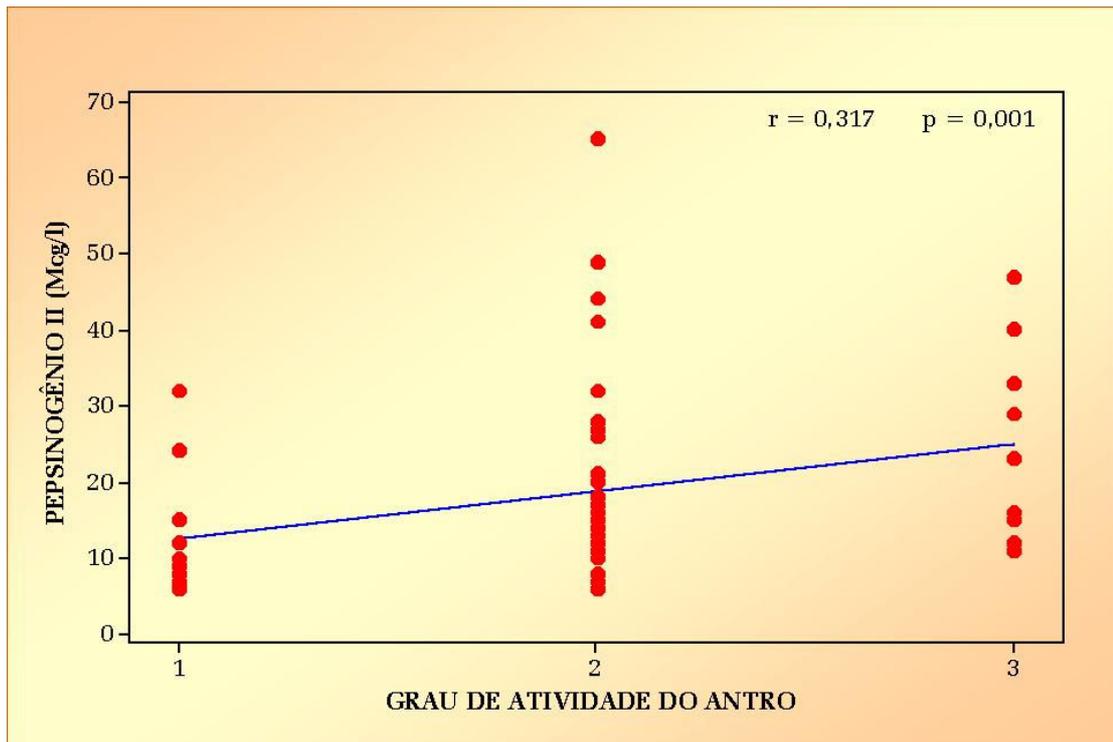


Gráfico 5.12: Correlação entre o grau de atividade do antro e a concentração sérica do pepsinogênio II

## 5.5 ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE O ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DO CORPO GÁSTRICO E AS VARIÁVEIS SELECIONADAS ANTES DO TRATAMENTO.

Foram selecionadas, para esta análise, as seguintes variáveis: VCM, vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína, pepsinogênio I, pepsinogênio II, relação pepsinogênio I/pepsinogênio II.

### 5.5.1 Correlação entre o grau de inflamação da mucosa do corpo gástrico e variáveis selecionadas.

Foi observada correlação estatisticamente significativa entre o grau de inflamação da mucosa do corpo gástrico e a concentração de pepsinogênio II ( $r=0,323$ ;  $p=0,01$ ). Foi também vista correlação inversa entre o grau de inflamação da mucosa

do corpo gástrico e a relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II ( $r=-0,414$ ;  $p=0,001$ ), (Tabela 5.12 e Gráficos 5.13 e 5.14).

Tabela 5.12: Correlação entre o grau de inflamação do corpo e variáveis selecionadas antes do tratamento.

Grau de inflamação do corpo	Correlação	p
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	0,323	<b>0,01</b>
Relação PGI/ PG II	-0,414	<b>0,001</b>
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	0,060	0,65
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	0,163	0,21
VCM (fl)	0,123	0,35
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	-0,067	0,61

VCM, volume corpuscular médio; PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II

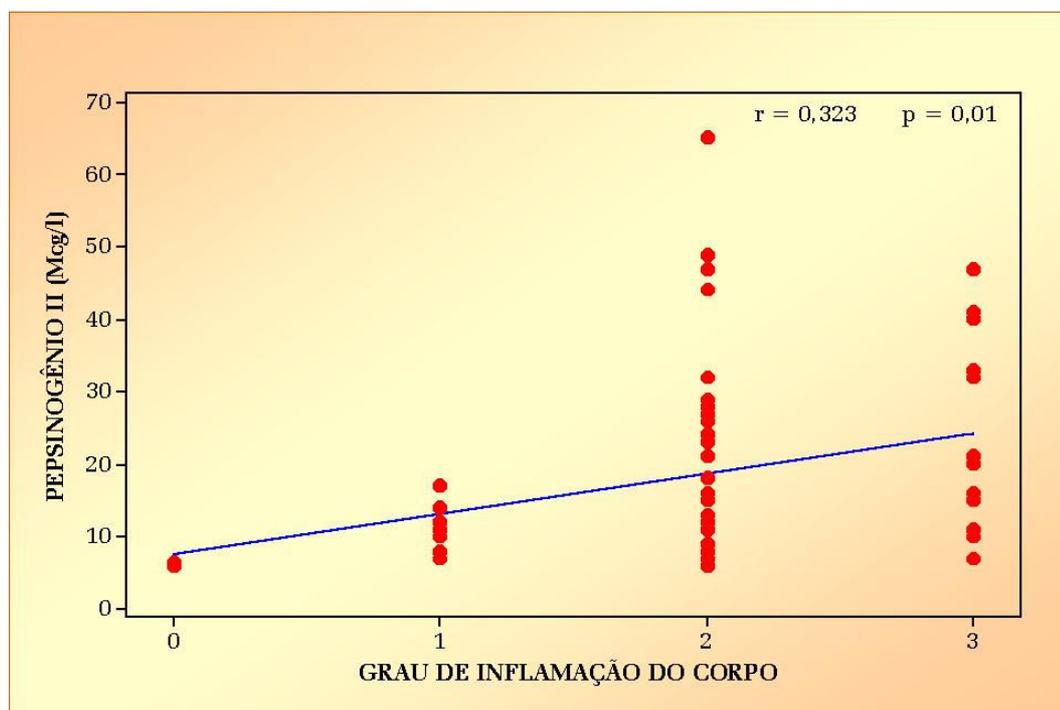


Gráfico 5.13: Correlação entre o grau de inflamação do corpo gástrico e a concentração sérica do pepsinogênio II

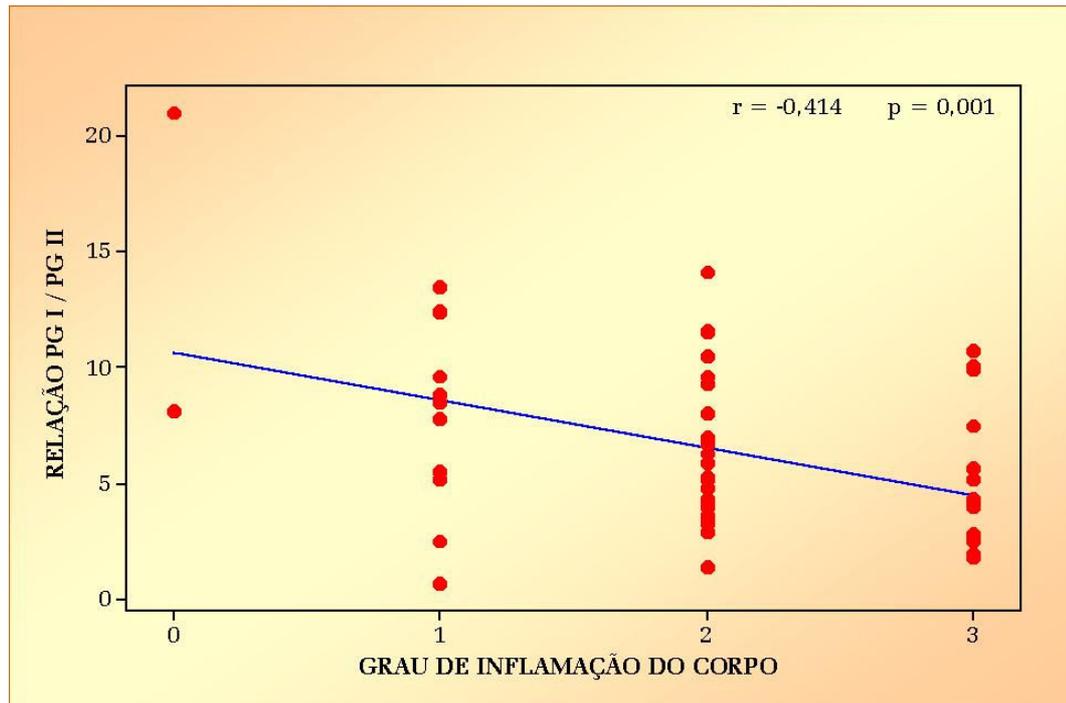


Gráfico 5.14: Correlação entre o grau de inflamação do corpo gástrico e a relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II

### 5.5.2 Correlação entre o grau de atividade da mucosa do corpo gástrico e variáveis selecionadas.

Foi observada correlação estatisticamente significativa entre o grau de atividade da mucosa do corpo e a concentração de pepsinogênio II ( $r=0,378$ ;  $p=0,003$ ). Foi também vista correlação inversa entre o grau de atividade da mucosa do corpo e a relação PG I/ PG II ( $r=-0,365$ ;  $p=0,004$ ), (Tabela 5.13 e Gráficos 5.15 e 5.16).

Tabela 5.13: Correlação entre o grau de atividade do corpo e as variáveis selecionadas antes do tratamento

Grau de atividade do corpo	Correlação	p
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	0,378	<b>0,003</b>
Relação PG I/ PG II	-0,365	<b>0,004</b>
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	0,156	0,24
Homocisteína ( $\mu\text{M/l}$ )	-0,084	0,53
VCM (fl)	0,123	0,32
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	0,096	0,47

VCM, volume corpuscular médio; PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II

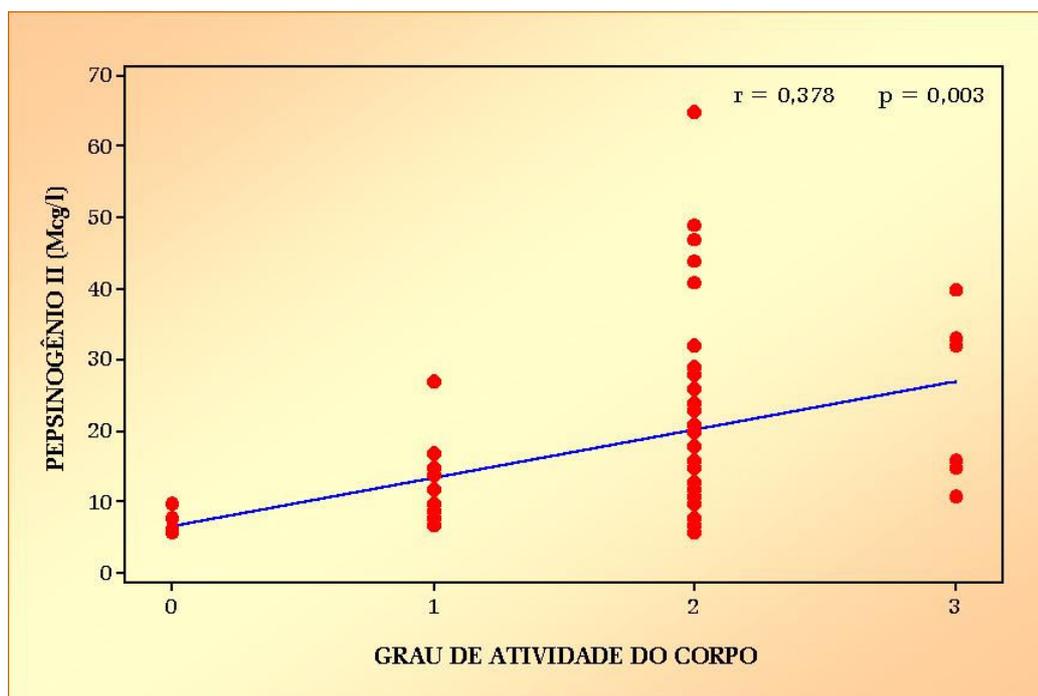


Gráfico 5.15- Correlação entre o grau de atividade do corpo gástrico e a concentração sérica de pepsinogênio II

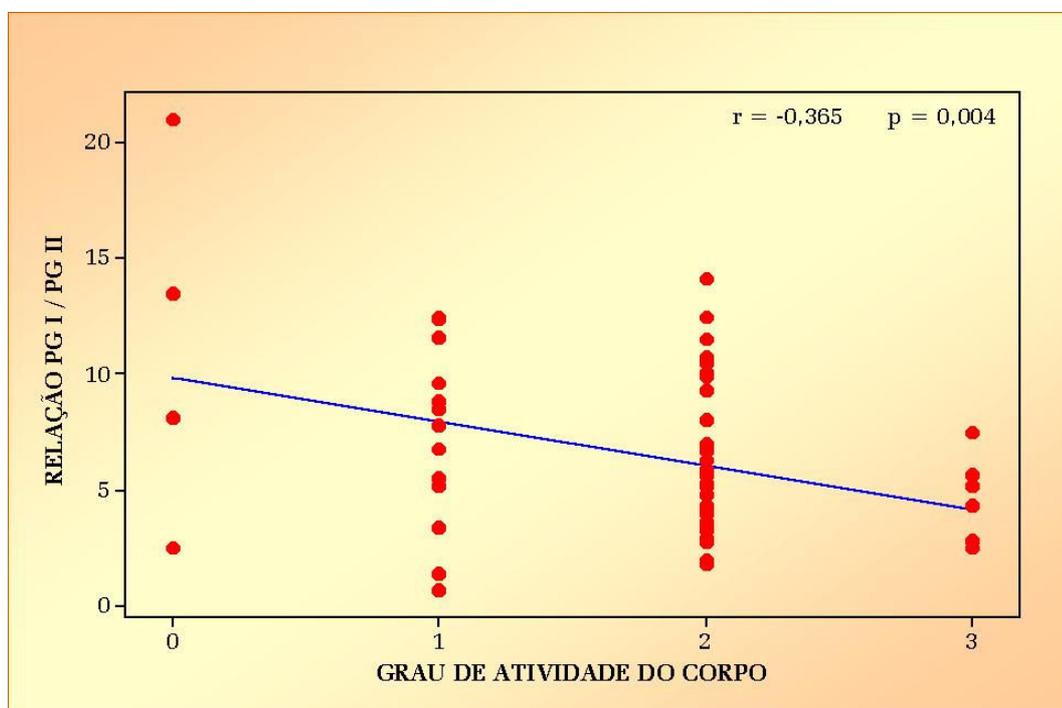


Gráfico 5.16: Correlação entre o grau de atividade do corpo gástrico e a relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II (PGI/ PGII)

### 5.6 COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS NOS GRUPOS DE PACIENTES COM E SEM ATROFIA DO CORPO GÁSTRICO À HISTOPATOLOGIA ANTES DO TRATAMENTO

Foram selecionadas, para esta comparação, as seguintes variáveis: vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína, pepsinogênio I, pepsinogênio II, relação pepsinogênio I e pepsinogênio II.

Embora a concentração média do pepsinogênio I, bem como da relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II nos pacientes com atrofia do corpo gástrico, (respectivamente  $69,3 \pm 55,40$  e  $4,5 \pm 2,92$  µg/l), tenham sido menores que o visto nos pacientes sem atrofia do corpo gástrico, (respectivamente  $112,9 \pm 72,38$  e  $6,8 \pm 3,84$  µg/l), os resultados não foram estatisticamente significativos.

Da mesma forma, a concentração de homocisteína foi maior no grupo sem atrofia do corpo, contudo sem significância estatística (Tabela 5.14).

Tabela 5.14 Presença e ausência de atrofia do corpo gástrico e médias de variáveis selecionadas

Variável	Atrofia do corpo gástrico		p
	Ausente	Presente	
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	194,5 (± 64,94)	207,0 (± 78,84)	0,66
Homocisteína (µmol/l)	42,1 (± 27,36)	28,0 (± 14,33)	0,07
Pepsinogênio I (µg/l)	112,9 (± 72,38)	69,3 (± 55,39)	0,16
Pepsinogênio II (µg/l)	18,6 (± 13,13)	15,8 (± 12,60)	0,62
Relação PGI/ PGII	6,8 (± 3,83)	4,5 (± 2,91)	0,16

PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II

### 5.7 COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS NOS GRUPOS DE PACIENTES COM E SEM METAPLASIA DO CORPO GÁSTRICO ANTES DO TRATAMENTO

Foram selecionadas, para esta comparação, as seguintes variáveis: vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína, pepsinogênio I, pepsinogênio II, relação pepsinogênio I e pepsinogênio II.

Embora a concentração média do pepsinogênio I, nos pacientes com metaplasia intestinal do corpo gástrico, tenha sido menor que o visto nos pacientes sem metaplasia intestinal do corpo gástrico, (respectivamente  $58,0 \pm 60,91$  e  $113,2 \pm 71,32$   $\mu\text{g/l}$ ), os resultados não foram estatisticamente significativos ( $p=0,1$ ). Contudo, foi visto que a média da relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II foi significativamente menor ( $p<10^{-3}$ ) nos pacientes com metaplasia intestinal do corpo ( $3,4 \pm 1,32$ ) que naqueles sem essa alteração ( $6,9 \pm 3,82$ ), (Tabela 5.15).

Tabela 5.15: Presença e ausência de metaplasia intestinal do corpo gástrico e médias de variáveis estudadas

Variável	Metaplasia do corpo gástrico		p
	Ausente	Presente	
Relação PGI/ PGII	6,9 ( $\pm 3,82$ )	3,4 ( $\pm 1,32$ )	<b>0,001</b>
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	130,0 ( $\pm 165,94$ )	208,8 ( $\pm 332,71$ )	0,23
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	41,6 ( $\pm 27,37$ )	30,8 ( $\pm 14,19$ )	0,39
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	113,2 ( $\pm 71,32$ )	58,0 ( $\pm 60,91$ )	0,10
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	18,6 ( $\pm 12,99$ )	16,0 ( $\pm 14,35$ )	0,67

PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II

### 5.8 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS SELECIONADAS ENTRE OS GRUPOS DE PACIENTES DE ACORDO COM *STATUS CAGA*

Para esta análise as seguintes variáveis foram selecionadas: vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína, gastrina, pepsinogênio I, pepsinogênio II e relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II.

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre a concentração média do pepsinogênio II ( $p=0,001$ ) nos pacientes colonizados por amostras CagA positivas ( $21,6 \pm 14,43$ ) em relação àqueles com amostras CagA negativas ( $12,3 \pm 5,68$ ). Também, foi verificada diferença estatisticamente significativa na relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II ( $p=0,001$ ) naqueles com amostras CagA positivas ( $5,3 \pm 2,71$ ) em relação as amostras CagA negativas ( $9,1 \pm 4,36$ ). Com relação às outras variáveis não foram vistas diferenças entre os pacientes com ou sem anticorpos anti-CagA (Tabela 5.16).

Tabela 5.16: Comparação das médias das variáveis selecionadas entre os grupos colonizados por amostras CagA positivas e CagA negativas

Variável	Amostras CagA		p
	Positivas	Negativas	
Pepsinogênio II ( $\mu\text{g/l}$ )	$21,6 \pm 14,43$	$12,3 \pm 5,68$	<b>0,001</b>
Relação PG I/ PG II	$5,3 \pm 2,71$	$9,1 \pm 4,36$	<b>0,001</b>
Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	$115,7 \pm 85,58$	$99,7 \pm 33,27$	0,296
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	$197,8 \pm 66,31$	$194,5 \pm 65,95$	0,851
Homocisteína $\mu\text{mol/l}$	$36,5 \pm 26,46$	$47,6 \pm 26,10$	0,124
Gastrina (pg/ml)	$87,1 \pm 117,62$	$59,7 \pm 45,48$	0,308

PG I, pepsinogênio I; PG II, pepsinogênio II.

### 5.9 ANÁLISE DO *STATUS CAGA* E ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DAS MUCOSAS DO ANTRO E CORPO GÁSTRICO

Houve associação entre o *status CagA* positivo e maior intensidade ( $p=0,05$ ) e atividade ( $p=0,004$ ) da gastrite do corpo, mas não houve associação entre intensidade ( $p=1$ ) e atividade ( $p=0,83$ ) na gastrite do antro (Tabela 5.17).

Tabela 5.17: Comparação do *status CagA* e estudo histopatológico da mucosa do antro e corpo gástrico.

Variável	<i>Status CagA</i>		p
	Positivo	Negativo	
Inflamação do corpo (MNC)	n	n	
Grau 0 + 1	8	6	<b>0,05*</b>
Grau 2 + 3	12	34	
Total	20	40	
Atividade do corpo (PMN)	n	n	
Grau 0 + 1	10	8	<b>0,04**</b>
Grau 2 + 3	10	32	
Total	20	40	
Inflamação do antro (MNC)	n	n	
Grau 0 + 1	2	4	1,00*
Grau 2 + 3	19	36	
Total	21	40	
Atividade do antro (PMN)	n	n	
Grau 0 + 1	6	9	0,83**
Grau 2 + 3	15	31	
Total	21	40	

N, número de pacientes; MNC, célula mononuclear; PMN, célula polimorfonuclear; \*Teste T Fisher;

\*\* Teste  $\chi^2$ .

## 5.10 COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS LABORATORIAIS ANTES E DEPOIS DA ERRADICAÇÃO DO *H. pylori* (TRÊS E SEIS MESES).

### 5.10.1 Vitamina B<sub>12</sub>

As concentrações médias da vitamina B<sub>12</sub> foram significativamente maiores depois de três ( $256,6 \pm 98,5$  pg/ml;  $p < 10^{-3}$ ) e seis meses ( $284,4 \pm 118,2$  pg/ml;  $p < 10^{-3}$ ) da erradicação do *H. pylori*, quando comparadas com a concentração média inicial ( $196,2 \pm 66,0$  pg/ml), (Gráficos 5.17 e 5.18).

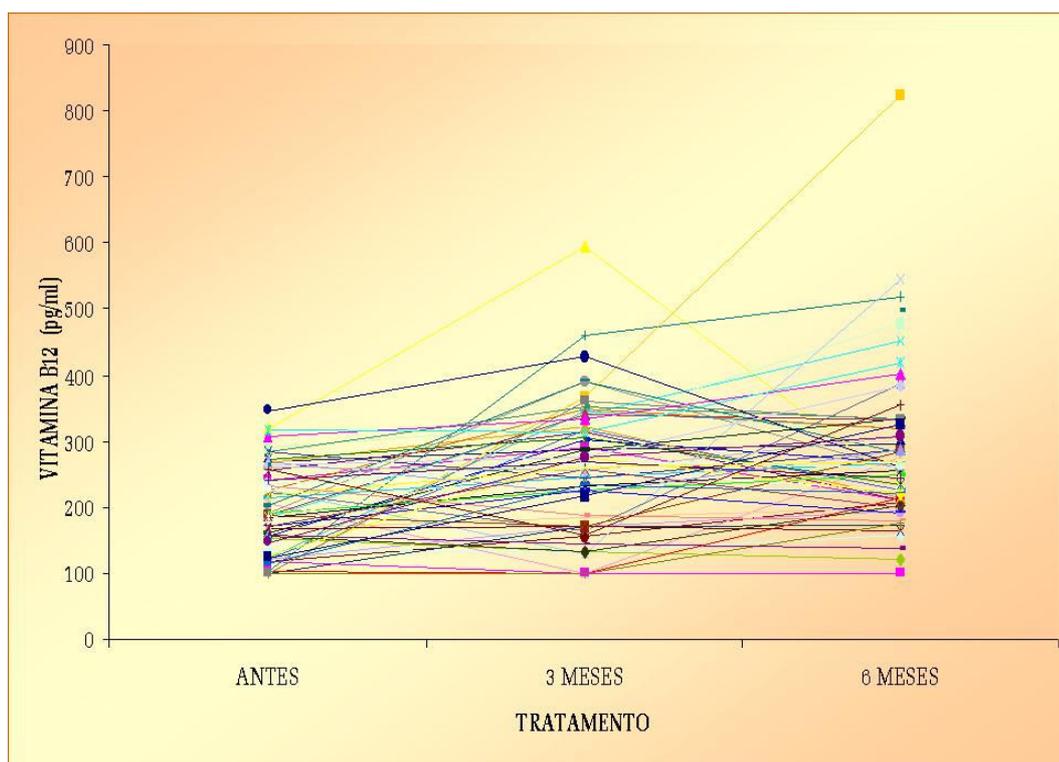


Gráfico 5.17: Resultados individuais da concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> antes e depois do tratamento (três e seis meses)

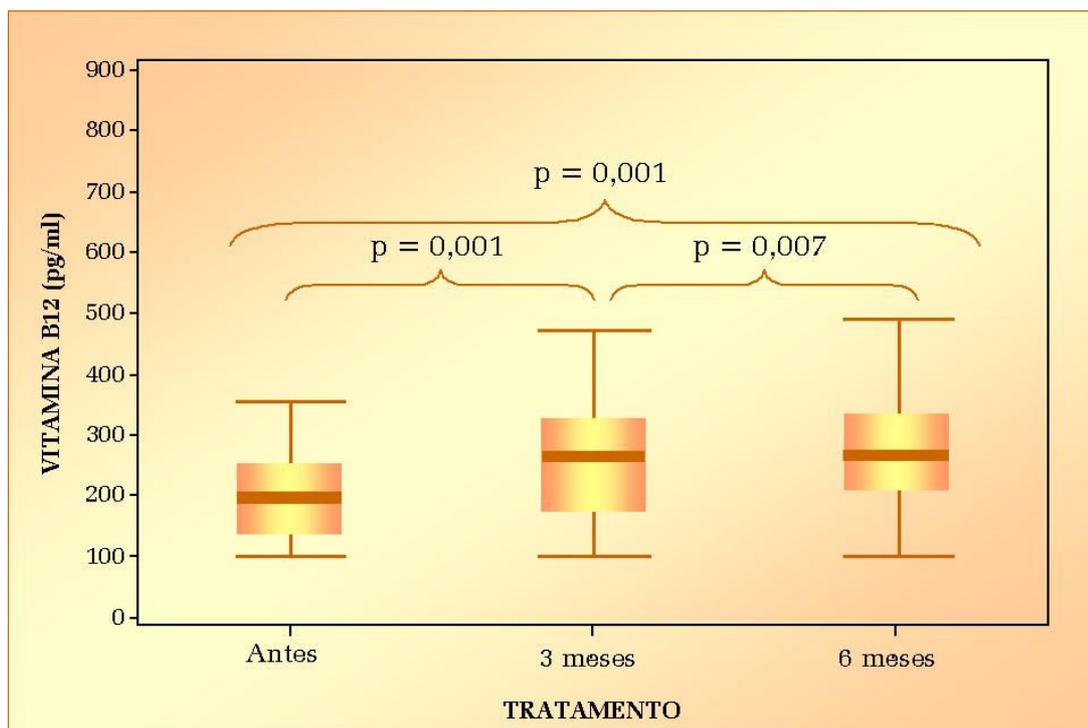


Gráfico 5.18: Comparação entre as concentrações da vitamina B<sub>12</sub> antes e depois do tratamento (três e seis meses)

### 5.10.2 Homocisteína

As concentrações médias da homocisteína foram significativamente menores ( $p < 10^{-3}$ ) depois do tratamento (três meses,  $16,5 \pm 6,71 \mu\text{mol/l}$ ; seis meses,  $21,6 \pm 10,1 \mu\text{mol/l}$ ), quando comparadas com a concentração média inicial ( $40,3 \pm 26,64 \mu\text{mol/l}$ ).

Quando as concentrações médias da homocisteína de três ( $16,5 \pm 6,71 \mu\text{mol/l}$ ) e seis meses ( $21,6 \pm 10,12 \mu\text{mol/l}$ ) foram comparadas, diferenças estatisticamente significativas foram observadas ( $p < 10^{-3}$ ), (Gráficos 5.19, 5.20 e 5.21).

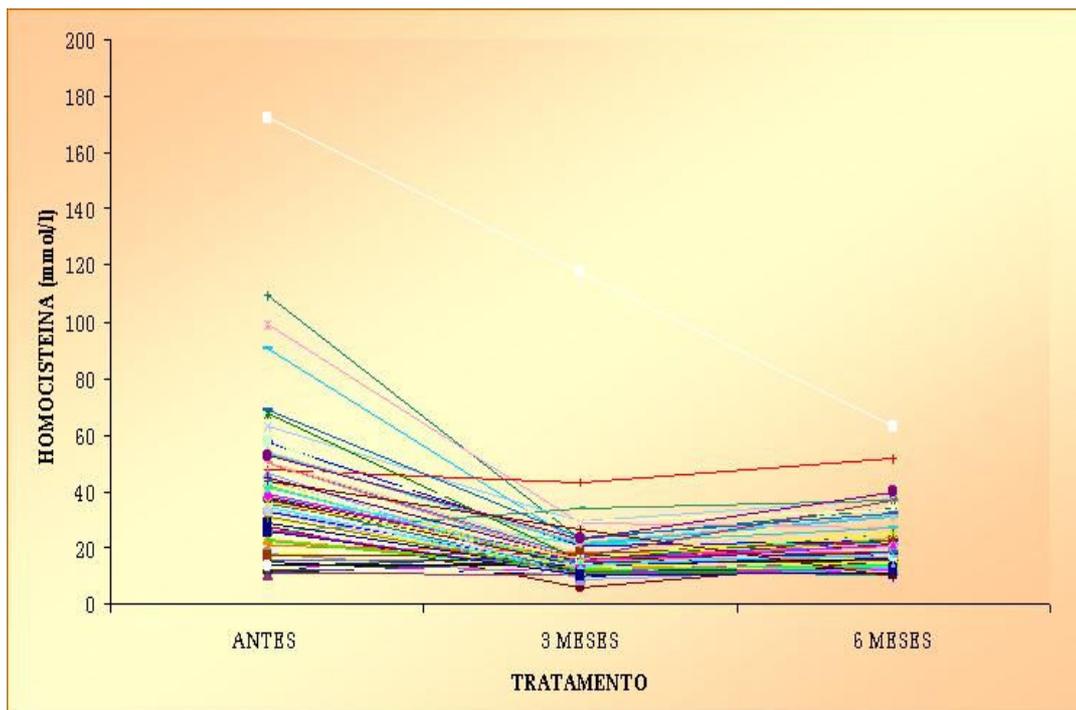


Gráfico 5.19: Resultados individuais da concentração plasmática da homocisteína antes e depois do tratamento (três e seis meses)

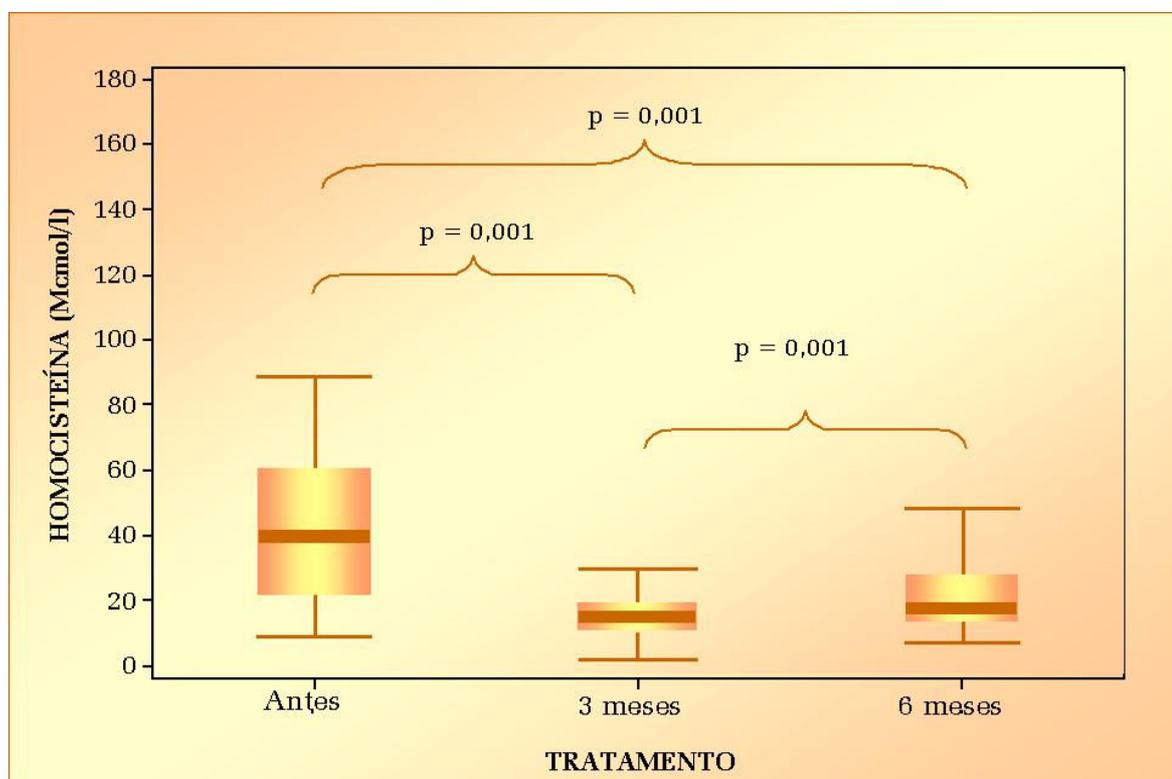


Gráfico 5.20: Comparação entre as concentrações da homocisteína antes e depois do tratamento (três e seis meses)

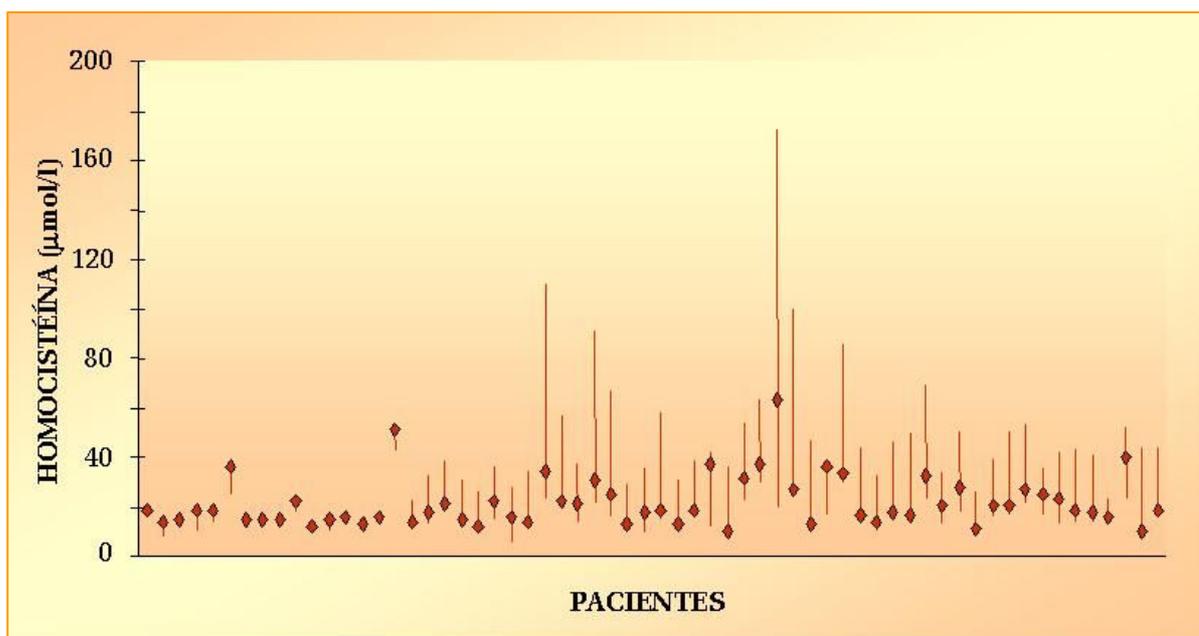


Gráfico 5.21: Concentrações plasmáticas individuais da homocisteína antes e depois da erradicação do *H. pylori* (três e seis meses)

Obs.: não houve queda significativa da concentração plasmática da homocisteína depois do tratamento, quando os valores iniciais estavam dentro dos valores de referência.

### 5.10.3 VCM

Não foi observada diferença significativa ( $p=0,64$ ) entre a concentração média do VCM três meses antes ( $90,2 \pm 5,74$  fl) e depois do tratamento ( $90,1 \pm 5,63$  fl), porém houve redução significativa na média ( $p=0,002$ ) do VCM depois de seis meses de tratamento ( $89,4 \pm 5,81$ fl), (Gráfico 5.22 e 5.23).

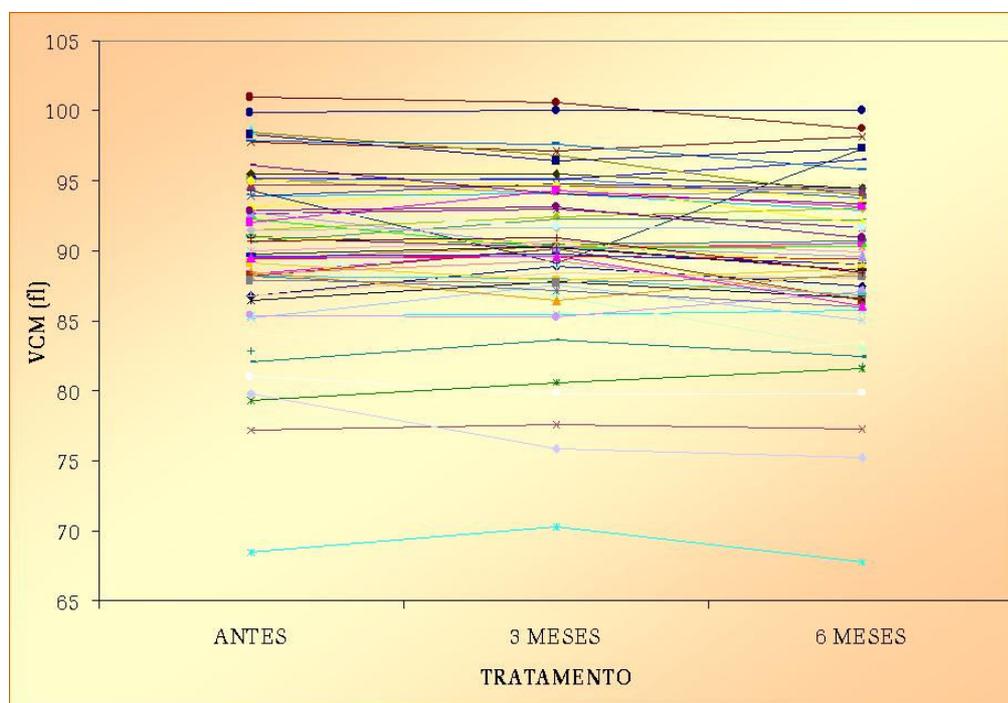


Gráfico 5.22: Resultados individuais do VCM antes e depois do tratamento (três e seis meses)

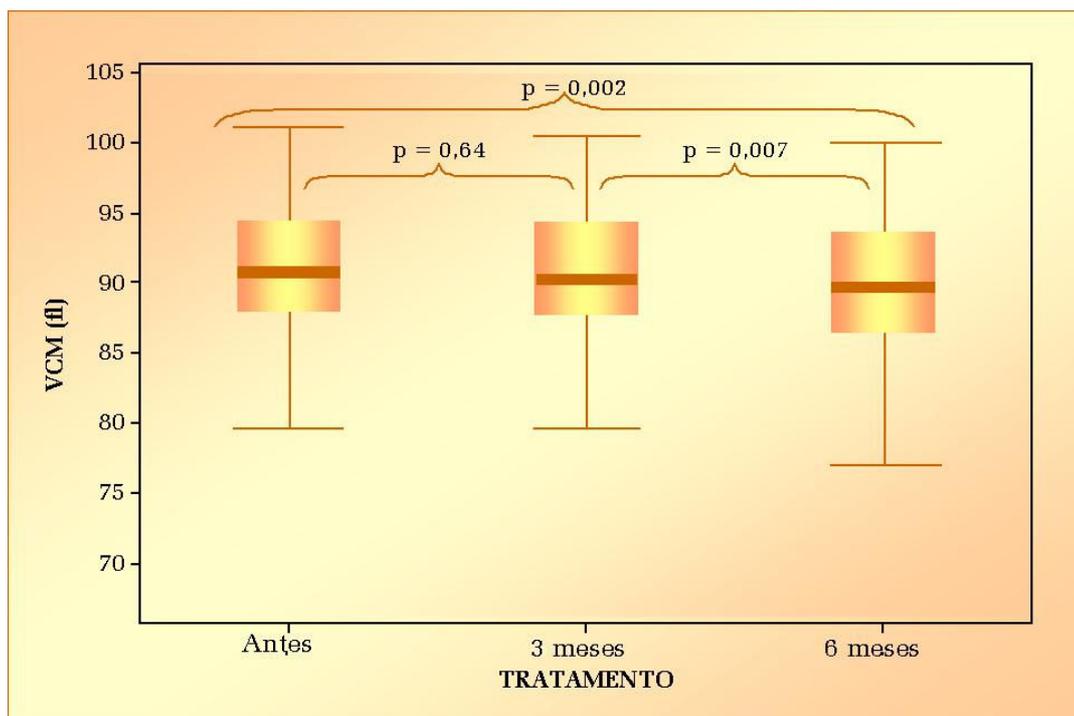


Gráfico 5.23: Comparação entre os índices do VCM antes e depois do tratamento (três e seis meses)

### 5.10.4 Pepsinogênio I

As concentrações médias do pepsinogênio I foram significativamente menores ( $p < 10^{-3}$ ) depois do tratamento ( $77,8 \pm 42,21 \mu\text{g/l}$ , seis meses), quando comparadas com a concentração média inicial ( $110,3 \pm 72,28 \mu\text{g/l}$ ), (Gráfico 5.24 e 5.25).

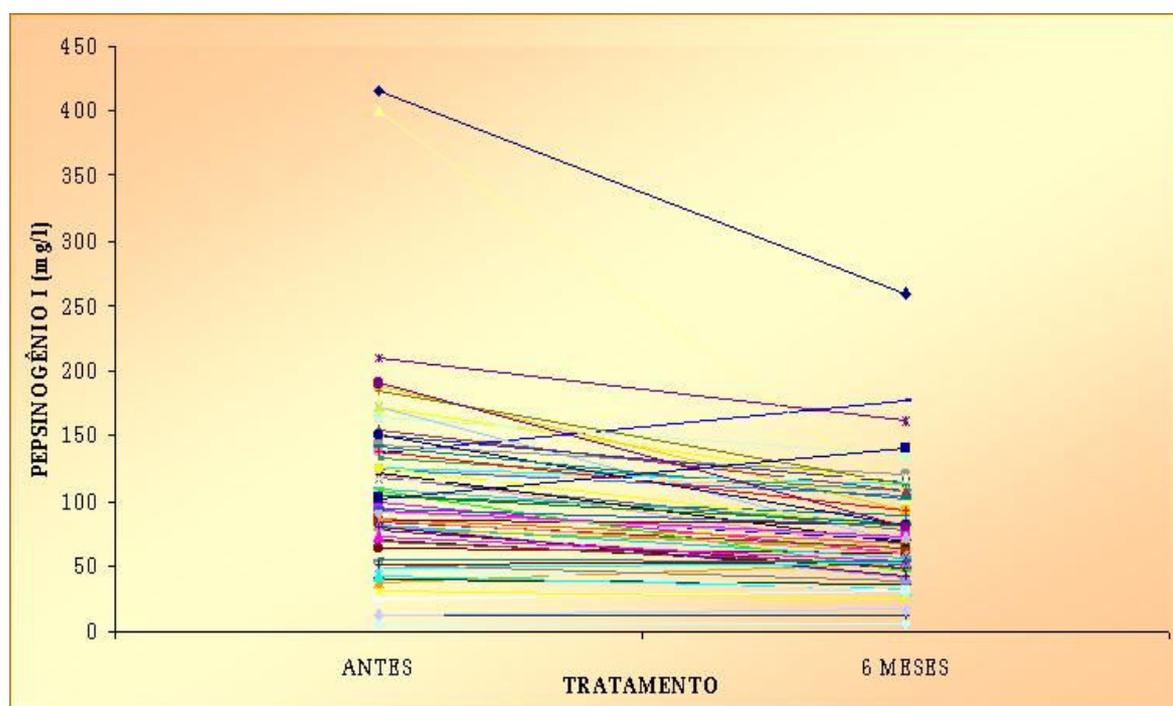


Gráfico 5.24: Resultados individuais do pepsinogênio I antes e depois do tratamento (seis meses)

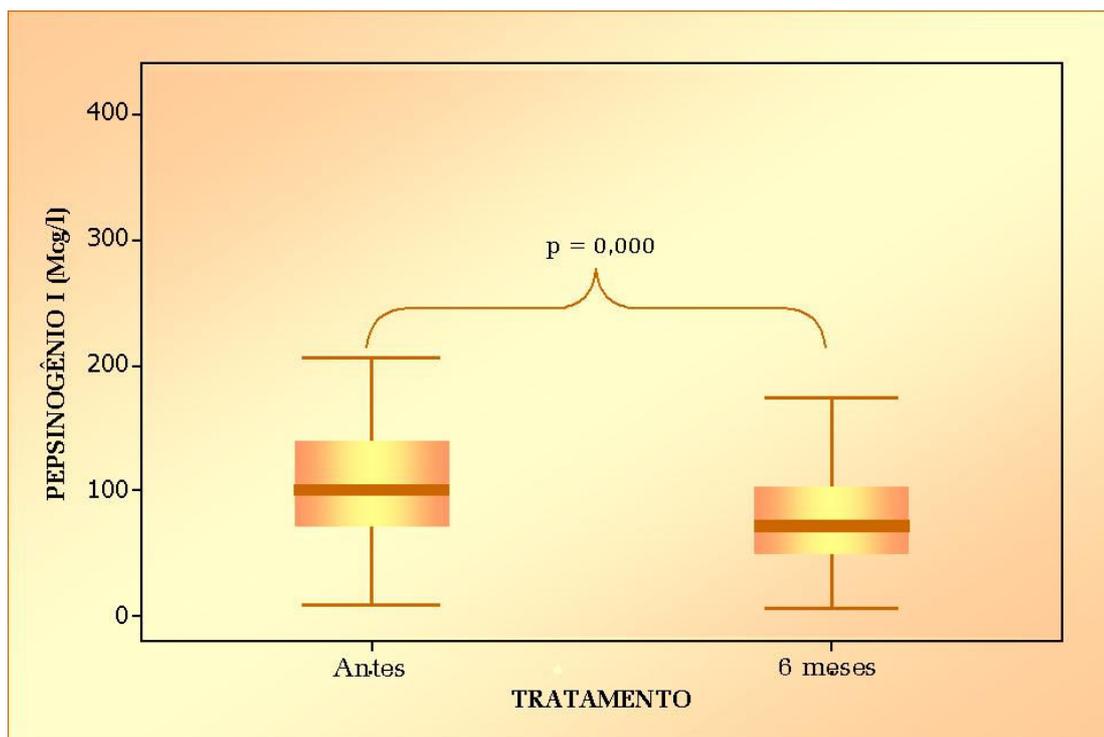


Gráfico 5.25: Comparação entre as concentrações do pepsinogênio I antes e depois do tratamento (seis meses).

### 5.10.5 Gastrina

As concentrações médias da gastrina foram significativamente menores ( $p=0,049$ ) depois do tratamento ( $63,5 \pm 64,21$  pg/ml, seis meses), quando comparadas com a concentração média inicial ( $77,8 \pm 99,60$  pg/ml), (Gráficos 5.26 e 5.27).

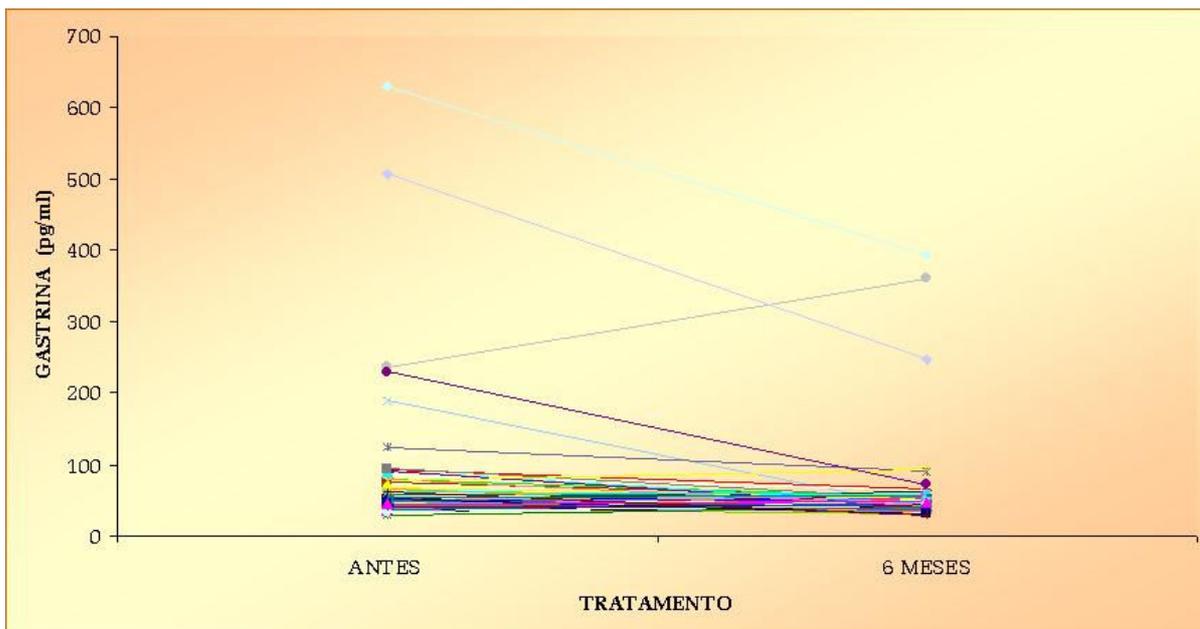


Gráfico 5.26: Resultados individuais da gastrina antes e depois do tratamento (seis meses)

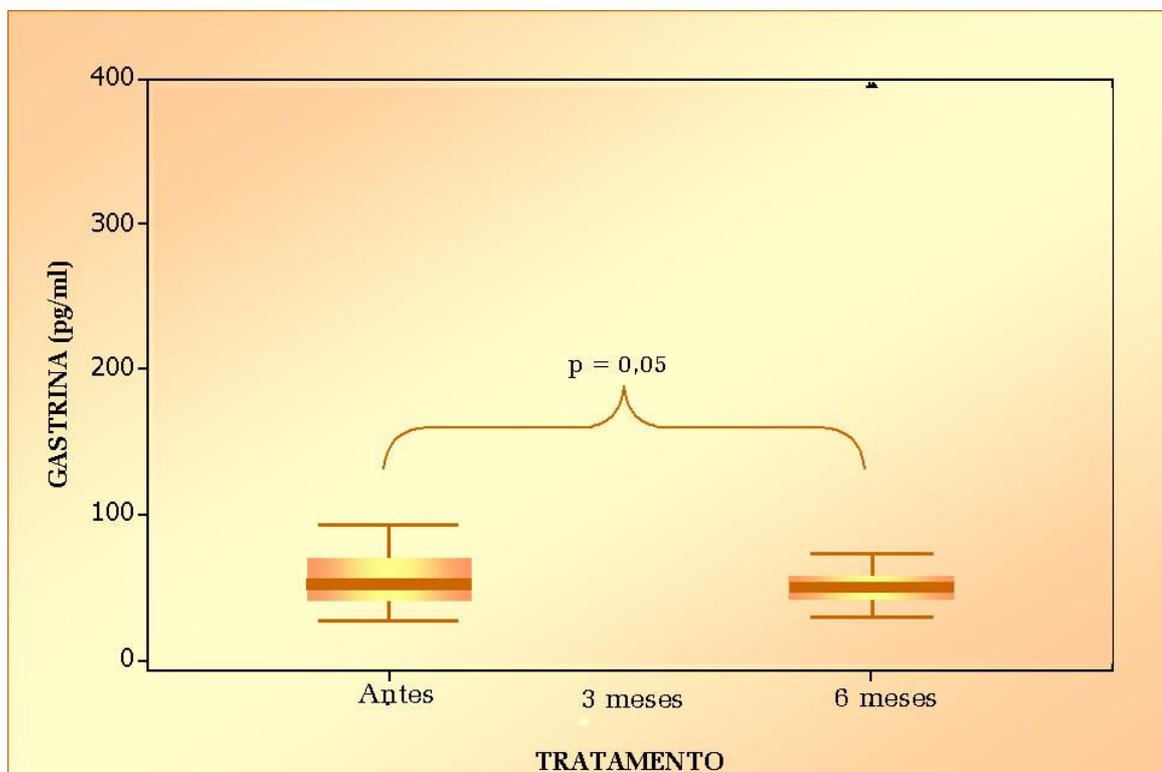


Gráfico 5.27: Comparação entre as concentrações da gastrina antes e depois do tratamento (seis meses)

### 5.11 ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS SELECIONADAS DEPOIS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO.

Foram selecionadas, para esta análise as seguintes variáveis: VCM, vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína, pepsinogênio I, pepsinogênio II, relação pepsinogênio I/pepsinogênio II, creatinina e *clearence* de creatinina.

Foram vistas correlações inversas entre a os níveis séricos de vitamina B<sub>12</sub> e os valores do VCM ( $r=-0,376$ ;  $p=0,003$ ) e, entre essa vitamina e a concentração plasmática da homocisteína ( $r=-0,293$ ;  $p=0,02$ ), seis meses depois do tratamento (Tabela 5.18 e Gráficos 5.28 e 5.29).

Tabela 5.18: Correlação entre os níveis séricos da vitamina B<sub>12</sub> e variáveis selecionadas depois do tratamento.

Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	Correlação	p
VCM (fl)	-0,376	<b>0,003</b>
Homocisteína (μmol/l)	-0,293	<b>0,02</b>
Pepsinogênio I (μg/l)	0,096	0,50

VCM, volume corpuscular médio

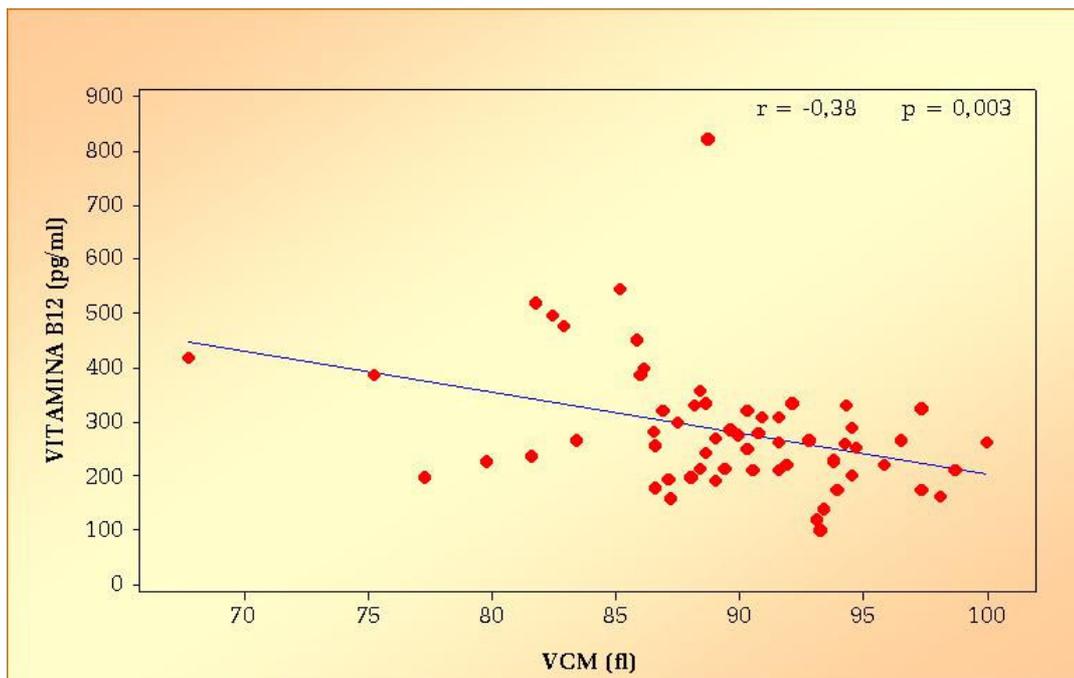


Gráfico 5.28: Correlação entre os níveis séricos da vitamina B<sub>12</sub> e o VCM depois do tratamento medicamentoso

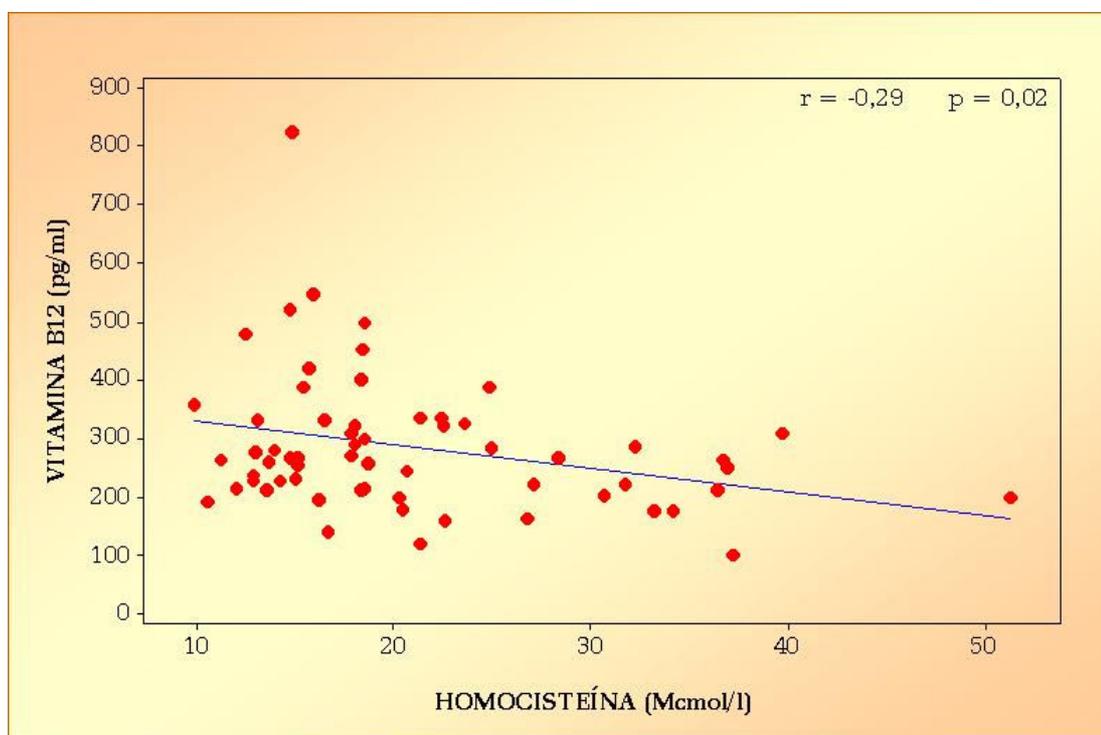


Gráfico 5.29: Correlação entre as concentrações da homocisteína e vitamina B<sub>12</sub> depois do tratamento

Foram observadas correlações estatisticamente significativas entre as concentrações plasmáticas da homocisteína e os valores do VCM ( $r=0,269$ ;  $p=0,004$ ) e também, entre a concentrações da homocisteína plasmática e da creatinina sérica ( $r=0,279$ ;  $p=0,03$ ).

Também, foi vista correlação inversa entre a concentrações da homocisteína plasmática e concentrações séricas da vitamina B<sub>12</sub> ( $r=-0,293$ ;  $p=0,02$ ). Tabela 5.19 e Gráficos 5.30 e 5.31.

Tabela 5.19: Correlação entre os níveis da homocisteína plasmática e variáveis selecionadas depois do tratamento

<b>Homocisteína (μmol/l)</b>	<b>Correlação</b>	<b>p</b>
VCM (fl)	0,269	<b>0,04</b>
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	-0,293	<b>0,02</b>
Creatinina (mg/dl)	0,279	<b>0,03</b>
<i>Clearence</i> de creatinina (ml/min)	-0,127	0,33
Pepsinogênio I (μg/l)	-0,137	0,30

VCM, volume corpuscular médio; min, minuto.

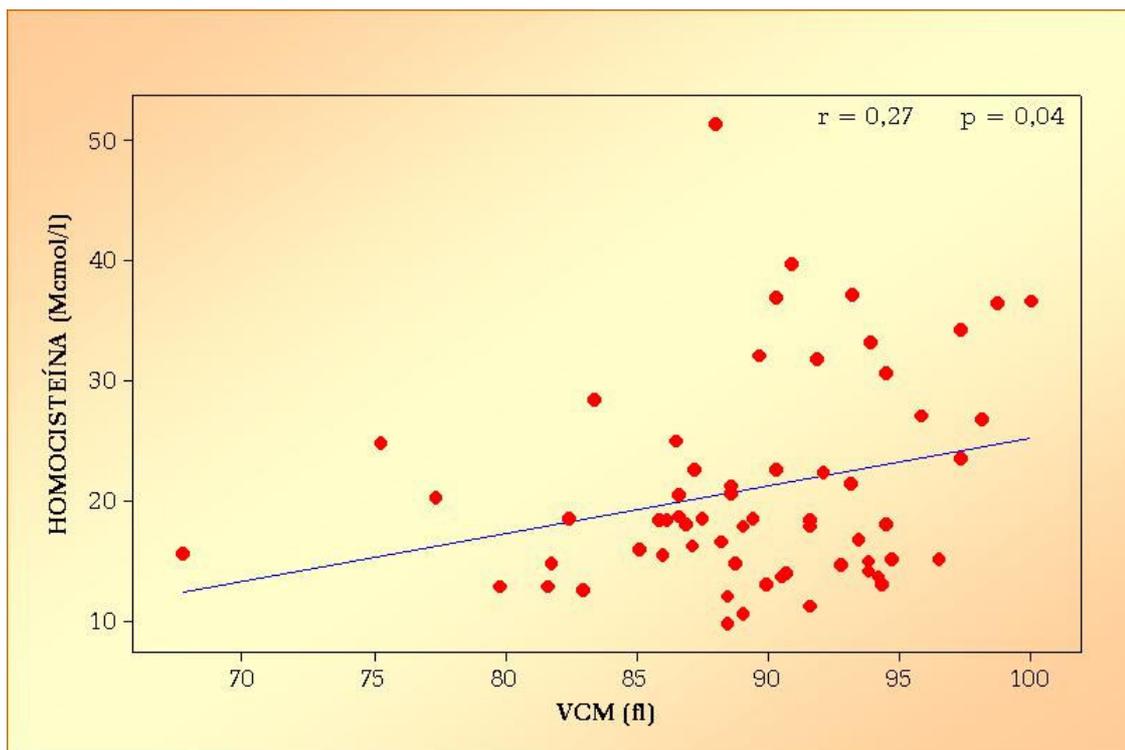


Gráfico 5.30: Correlação entre a concentração da homocisteína e o VCM depois do tratamento

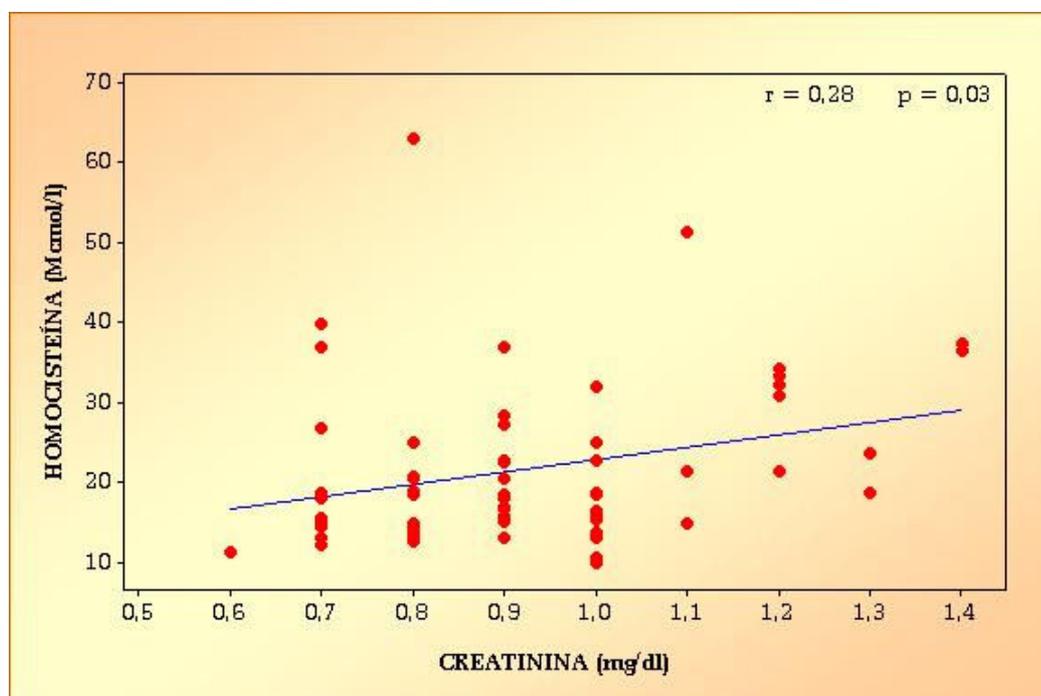


Gráfico 5.31: Correlação entre as concentrações da homocisteína e da creatinina depois do tratamento

Foi observada correlação negativa entre concentração do pepsinogênio I e o *clearance* de creatinina ( $r=-0,337$ ,  $p=0,01$ ), (Tabela 5.20 e Gráfico 5.32).

Tabela 5.20: Correlação entre a concentração do pepsinogênio I e variáveis selecionadas depois do tratamento

Pepsinogênio I ( $\mu\text{g/l}$ )	Correlação	p
<i>Clearance</i> de creatinina (ml/min)	-0,337	<b>0,01</b>
VCM (fl)	0,210	0,10
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	0,096	0,50
Creatinina (mg/dl)	0,125	0,34
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	-0,137	0,30

VCM, volume corpuscular médio; min, minuto.

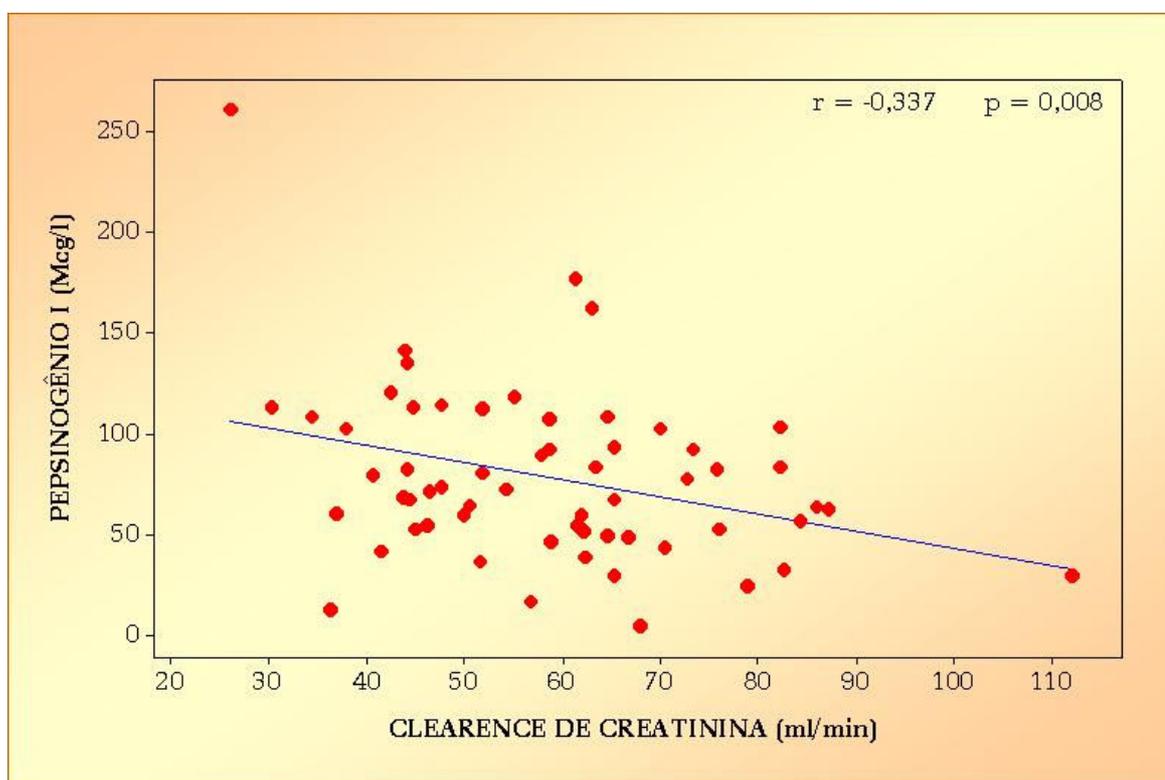


Gráfico 5.32: Correlação entre a concentração do pepsinogênio I e valores do *clearance* de creatinina depois do tratamento

## 5.12 RESULTADOS QUALITATIVOS DE PACIENTES ESPECÍFICOS.

**5.12.1** Dentre os 62 pacientes estudados, dois (um do sexo masculino com 81 anos e um do sexo feminino com 66 anos), quando analisados individualmente, apresentaram aspectos distintos do restante do grupo que justificaram a descrição das variáveis selecionadas depois do tratamento.

Ambos não apresentaram alterações nas concentrações de homocisteína depois de seis meses da erradicação da bactéria. Para o paciente do sexo masculino, a concentração da homocisteína foi de 25,1  $\mu\text{mol/l}$  antes do tratamento e depois do tratamento, respectivamente, 34,3  $\mu\text{mol/l}$  e 36,4  $\mu\text{mol/l}$ , com três e seis meses. Com relação à paciente do sexo feminino, a homocisteína antes do tratamento foi de 47,5  $\mu\text{mol/l}$  e depois do tratamento, respectivamente, 43,0  $\mu\text{mol/l}$  e 51,3  $\mu\text{mol/l}$ , com três e seis meses.

O paciente do sexo masculino apresentava creatinina sérica de 1,4 mg/dl, e o *clearance* de creatinina de 36,87 ml/min estimado pela fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976). A paciente do sexo feminino era fumante há mais de 25 anos com uso de mais de cinco cigarros por dia. Ambos não tinham outras alterações nos exames realizados.

**5.12.2** Em dois pacientes com pesquisa de anticorpo para célula parietal positiva, um do sexo masculino, 85 anos e outro com sexo feminino, 66 anos, não houve alterações nas concentrações de pepsinogênio I depois do tratamento. Para o paciente do sexo masculino, a concentração sérica do pepsinogênio I ficou inalterada depois do tratamento (13  $\mu\text{g/l}$ ). A relação PG I/ PG II foi de 1,4. A

concentração de gastrina antes do tratamento foi de 236 pg/ml e depois do tratamento de 361 pg/ml. Com relação às concentrações plasmáticas de homocisteína, o valor obtido antes do tratamento foi de 109,5  $\mu\text{mol/l}$ , e depois do tratamento, respectivamente, 23,0  $\mu\text{mol/l}$  e 34,2  $\mu\text{mol/l}$ , com três e seis meses. A concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> foi de 100 pg/ml antes do tratamento e depois do tratamento, respectivamente, 169 pg/ml, 173 pg/ml , com três e seis meses.

Para o paciente do sexo feminino, a concentração sérica do pepsinogênio I foi de 6  $\mu\text{g/l}$  antes do tratamento e depois do tratamento foi de 5  $\mu\text{g/l}$ . A relação PG I/ PG II foi de 0,7. A concentração de gastrina antes do tratamento foi de 630 pg/ml e depois do tratamento de 394 pg/ml. Com relação às concentrações plasmáticas de homocisteína, o valor obtido antes do tratamento foi de 17,6  $\mu\text{mol/l}$  e depois do tratamento, respectivamente, 17,8  $\mu\text{mol/l}$  e 22,6  $\mu\text{mol/l}$ , com três e seis meses. A concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> foi de 133 pg/ml antes do tratamento e depois do tratamento, respectivamente, 136 pg/ml, 158pg/ml , com três e seis meses.

A dosagem do fator intrínseco foi positiva em ambos os pacientes (dados não mencionados).

Ai palavras, ai, palavras,  
que estranha potência a vossa!  
Ai, palavras, ai palavras,  
sois de vento, ides no vento,  
no vento que não se retorna,  
e, em tão rápida existência,  
tudo se forma e transforma!

Sois de vento, ides no vento,  
E quedais, com sorte nova!

Ai, palavras, ai palavras,  
que estranha potência a vossa!  
Todo o sentido da vida  
principia à vossa porta

...

A liberdade das almas!  
Ai! Com letras se elabora

...

Ai, palavras, ai palavras,  
que estranha potência, a vossa

Das palavras aéreas  
Cecília Meireles

## **6. DISCUSSÃO**

## 6.DISSCUSSÃO

Como já citado anteriormente, no idoso a associação entre a infecção pelo *H. pylori* e a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> apresenta implicações de grande alcance, tanto para a prática clínica como para o desenvolvimento de pesquisas.

Este é o primeiro estudo, realizado em idosos, que avaliou a eficácia da erradicação do *H. pylori* nas concentrações séricas da vitamina B<sub>12</sub> e nas concentrações plasmáticas da homocisteína. Também, foram estudados os marcadores da função gástrica (pepsinogênios I e II, relação PG I/ PG II e gastrina) e o VCM antes e depois do tratamento medicamentoso, assim como correlações de variáveis selecionadas entre si e exames histopatológicos.

### 6.1 SELEÇÃO DE PACIENTES

Dentre os critérios de inclusão neste estudo, o nível sérico de 350 pg/ml foi estabelecido como ponto de corte para deficiência de vitamina B<sub>12</sub>.

A determinação da concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> ainda é o exame inicial a ser realizado para o rastreamento da deficiência dessa vitamina (AMOS *et al.*, 1994; BOLANN *et al.*, 2000; KLEE, 2000; DHARMARAJAN & NORKUS, 2001; WARD, 2002; WAHLIN *et al.*, 2002; DHARMARAJAN *et al.*, 2003; OH *et al.*, 2003; CARMEL *et al.*, 2003; WOLTERS *et al.*, 2004). A disponibilidade, baixo custo e familiaridade com os vários métodos de dosagem (radioimunoensaio e quimioluminescência)

contribuem para seu emprego na avaliação do *status* da vitamina B<sub>12</sub> (CARMEL *et al.*, 2003; KLEE, 2000; BRIDDON, 2003).

O limite inferior do valor de referência para a dosagem sérica da vitamina B<sub>12</sub> é variável e, dependente do método usado (BRIDDON, 2003). Considera-se, de um modo geral, 200 pg/ml como ponto de corte para a dosagem da vitamina B<sub>12</sub> (SNOW, 1999; KLEE, 2000; BRIDDON, 2003). Esse valor foi derivado de vários estudos nos quais os pacientes tinham deficiência da vitamina B<sub>12</sub> definida por critérios clínicos e hematológicos quando comparados com controles normais (MARKLE, 1995; CARMEL, 2003).

Porém, resultados de diversos estudos clínicos mostraram que, em idosos, esse valor apresentou limitações, tanto na sensibilidade como na especificidade para a determinação da deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, subestimando a frequência da deficiência dessa vitamina (THOMPSON *et al.*, 1987; GREEN 1995; METZ *et al.*, 1996; CARMEL, 1997; MOELBY *et al.*, 1997).

A utilização dos metabólitos, homocisteína (tHcy) e ácido metilmalônico (MMA), auxiliam na determinação da sensibilidade e especificidade da concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub>. Além disso, tanto a homocisteína como o ácido metilmalônico, colaboraram para a determinação da prevalência, incidência e identificação de síndromes clínicas relacionadas à deficiência da vitamina B<sub>12</sub> (LINDENBAUM *et al.*, 1990; STABLER *et al.*, 1990; PENNYPACKER *et al.*, 1992; SAVAGE *et al.*, 1994).

Na avaliação da sensibilidade do nível sérico da vitamina B<sub>12</sub> um estudo estimou que 90 a 95% dos pacientes com deficiência dessa vitamina tinha níveis menores do que 200 pg/ml, 5 a 10% estavam com níveis entre 200 e 300 pg/ml e,

aproximadamente 1% com níveis maiores do que 300 pg/ml (LINDENBAUM, 1990). Os pacientes foram considerados deficientes quando apresentavam alterações clínicas sugestivas e resposta à terapêutica com vitamina B<sub>12</sub>. Entretanto, os autores acharam que seus resultados foram super-estimados porque não avaliaram pacientes com vitamina B<sub>12</sub> normal.

PENNYPACKER *et al.* (1992), em um estudo prospectivo, utilizaram homocisteína e ácido metilmalônico como evidências da redução da cobalamina. Identificaram, com diferentes níveis séricos de B<sub>12</sub>, as seguintes frequências para essa deficiência: 62% com menos de 200 pg/ml, 56% entre 200 e 300 pg/ml e 7% com níveis maiores de 300 pg/ml.

A especificidade da concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> é variável na determinação dessa deficiência. É considerada muito específica para concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> menor do que 100 pg/ml. Em um estudo foi encontrada a especificidade de 90% com essa concentração (STABLER *et al.*, 1990). Porém, apresenta pouca discriminação para concentrações séricas entre 100 e 200 pg/ml (GREEN, 1995) e, também, entre 200 e 400 pg/ml (METZ *et al.* 1996; SNOW, 1999).

Baseado em estudos com indicadores mais sensíveis na avaliação da deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, homocisteína e ácido metilmalônico, e no desaparecimento das suas alterações metabólicas depois do tratamento, LINDENBAUM *et al.* (1994) sugeriram, em idosos, o valor de 350 pg/ml como ponto de corte para identificar os casos não reconhecidos de deficiência presumível.

Há controvérsias sobre esta estratégia, especialmente na prática clínica (CARMEL, 2000, 2003). Entretanto, como o valor de 350 pg/ml é utilizado pela maioria dos

estudos que abordam essa deficiência, optamos por segui-lo no presente estudo. (STABLER *et al.*, 1995; GREEN, 1995; NILSSON-EHLE, 1998; HERBERT, 2002; SCHNEEDE, 2003; DHARMARAJAN *et al.*,2003; OH *et al.*,2003; CLARKE *et al.*, 2004). Porém, deve ser ressaltado que alguns autores utilizam, para esse grupo etário, o valor  $\leq 300$  pg/ml para a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> (KLEE, 2000; WARD, 2002).

Os vários fluxogramas existentes aconselham as dosagens do ácido metilmalônico, homocisteína ou ambos, principalmente quando as concentrações séricas da vitamina B<sub>12</sub> estão entre 200 e 350 pg/ml (STABLER *et al.*, 1995; GREEN, 1995; NILSSON-EHLE, 1998; SCHNEEDE, 2003; SNOW, 1999; KLEE, 2000; DHARMARAJAN *et al.*, 2003; OH *et al.*, 2003).

Também, no presente estudo, os critérios de exclusão foram definidos para que a concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> fosse isenta do menor número de fatores intervenientes.

Os pacientes foram acompanhados prospectivamente após o uso da medicação com nova avaliação realizada três e seis meses depois da erradicação do microorganismo.

## 6.2 CARACTERÍSTICAS DO GRUPO INCLUÍDO NO ESTUDO

O grupo selecionado foi constituído por 62 idosos, média de idade 71,1 ( $\pm 7,03$ ) anos, funcionalmente independentes, acompanhados durante três e seis meses depois da erradicação da bactéria, apesar das dificuldades inerentes em se avaliar prospectivamente pessoas nesta faixa etária. Houve predominância do sexo feminino com 28 pacientes (60,9%) em relação aos 11 (39,1%) do sexo masculino.

As variáveis estudadas, dependentes do sexo, foram analisadas utilizando-se os valores de referência estabelecidos para os sexos.

Entretanto, um dos aspectos do envelhecimento populacional é a “feminilização da velhice” que se deve à sua maior taxa de crescimento em relação ao segmento masculino. Em 1996, dos 12,5 milhões de idosos, 54,4% eram do sexo feminino. Como consequência, quanto “mais velho” for o contingente estudado, maior a proporção de mulheres (CAMARANO, 2002).

Assim, julgamos que a diferença no sexo não tenha interferido nos resultados e poderia representar a distribuição encontrada na população idosa.

Com relação aos hábitos de vida havia dois fumantes no grupo. O tabagismo está associado com níveis aumentados de homocisteína (NYGARD, 1995). Também, essa substância tem efeito negativo, reduzindo a vitamina B<sub>12</sub>, assim como, o folato e vitamina B<sub>6</sub> (HERRMANN *et al.*, 2003). Adicionalmente, foi observada uma relação dose-resposta significativa entre os níveis de homocisteína e o número diário de cigarros fumados. Para cada dez cigarros fumados por dia houve aumento de 0,4 µmol/l na concentração da homocisteína (PANAGIOTAKOS *et al.*, 2004). O'CALLAGHAN *et al.* (2002) observaram, em um estudo caso-controle, aumento de doze vezes no risco cardiovascular em fumantes com níveis moderadamente aumentados de homocisteína quando comparados com não fumantes que tinham níveis plasmáticos de homocisteína menores do que 12 µmol/l. A vitamina B<sub>12</sub> é reduzida em fumantes devido ao seu efeito antioxidante sobre a nicotina presente nos cigarros (ELLISON *et al.*, 2004). Dados de um estudo recente mostraram que

inflamação e hiperhomocisteinemia podem ser mecanismos importantes pelos quais o fumo promove a doença aterosclerótica (BAZZANO *et al.*, 2003).

Em um paciente (descrito no ítem 5.12.1) o tabagismo pode ter interferido na concentração da homocisteína depois da erradicação da infecção por *H. pylori* (três e seis meses), pois tinha esse hábito desde a infância com uso de mais de cinco cigarros por dia.

Dentre os hábitos de vida não foi avaliado o consumo de café no grupo estudado.

À esofagogastroduodenoscopia foi visto que oito pacientes (12,9%) apresentavam úlcera duodenal. Esses pacientes não apresentavam sintomas típicos, com exceção de dois que tinham queixas dispépticas.

A incidência de úlceras aumenta com a idade em ambos os sexos, e úlceras duodenais são mais comuns nos idosos (BORUM, 1999; CHAN & LEUNG, 2002). No Reino Unido a prevalência de úlcera duodenal é, aproximadamente, 20% naqueles com mais de 60 anos (ROCKALL *et al.*, 1995).

Além disso, nessa população, há aumento da internação hospitalar e maior incidência de complicações, tais como, perfurações e sangramento (SINGHAL & BOWLING, 2000). Nos Estados Unidos mais de 80% das mortes por doença péptica ulcerosa ocorrem nesta faixa etária (BORUM, 1999). Os idosos tem risco aumentado para doença péptica ulcerosa devido a alta porcentagem de positividade para *H. pylori* e uso frequente de anti-inflamatórios não esteróides (LINGENFELSER & ELL, 2001; JONES & HAWKEY, 2001; PILOTTO *et al.*, 2004). Estudos recentes relataram que em pacientes idosos com doença péptica ulcerosa somente 50 a 70% são *H. pylori* positivos, provavelmente no restante há outros fatores causais como o uso de

anti-inflamatórios não esteróides (PILOTTO & SALLES, 2002). No presente estudo, os pacientes com úlcera duodenal não utilizavam anti-inflamatórios não-esteróides.

No idoso a doença ulcerosa, com frequência, se apresenta de modo atípico. A maior parte dos estudos sugere que a dor ulcerosa é infrequente nessa faixa etária (KEMPPAINEN *et al.*, 1997).

Estudos a curto e longo prazo, em idosos, demonstraram que o tratamento da infecção pelo *H. pylori* em pacientes com doença péptica ulcerosa resultou em cura em mais de 95% dos pacientes e melhora significativa, com redução da recorrência, sintomas e sinais histopatológicos da atividade da gastrite crônica associada à doença ulcerosa (PILOTTO *et al.*, 2000; PILOTTO, 2001; PILOTTO & MALFERTHEINER, 2002; PILOTTO & SALLES, 2002; PILOTTO *et al.*;2001). Os Consensos Europeu e Latino-Americano recomendam a erradicação da infecção pelo *H. pylori* em todos os pacientes com doença ulcerosa (duodenal ou gástrica), nas fases ativa ou de remissão da doença (MALFERTHEINER *et al.*, 2002; COELHO *et al.*, 2000)

O *clearance* de creatinina, estimado pela fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976), mostrou redução no seu valor médio, porém com a concentração média da creatinina dentro da faixa da normalidade ( $0,9 \pm 0,18$  mg/dl), considerando os valores de referência para os sexos.

A média do *clearance* de creatinina, estimado pela fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976), foi de  $58,7 \pm 16,57$  ml/min com a maior parte dos pacientes alocados na classificação de insuficiência renal moderada (59 a 30 ml/min), porém sem outras repercussões, tanto clínicas como laboratoriais (CZAPLA, 2003). Apesar

de a dosagem da creatinina sérica ser utilizada como o marcador mais comum para a função renal, no idoso ela não é adequada, devido ao decréscimo da massa muscular magra e da produção de creatinina (PORUSH & FAUBERT, 1991; COYLE *et al.*, 1999; CZAPLA, 2003; CHATTOPADHYAY, 2003). Assim, o *clearance* de creatinina é a melhor avaliação da função renal nessa faixa etária. É estimado que, a partir dos 30 anos há perda de 7,5 a 8 ml/min na taxa de filtração glomerular por década (PORUSH & FAUBERT, 1991; CZAPLA, 2003; COYLE *et al.*,1999; CHATTOPADHYAY, 2003). Aproximadamente, dois terços dos idosos apresentam declínio do *clearance* de creatinina. Isso ocorre devido às alterações do envelhecimento (redução do número de glomérulos funcionantes na córtex renal, fibrose intersticial, dentre outras), e presença de afecções, tais como: nefrosclerose (41%), seguido por diabetes (22%), doença túbulo-intersticial (14%), doenças obstrutivas por cálculos (11%) e doença do rim policístico (2,0%) (PORUSH & FAUBERT, 1991; CZAPLA, 2003). Entretanto, esse decréscimo não é universal. Para algumas pessoas, aproximadamente um terço, a função renal estável é mantida durante o processo do envelhecimento, e pode até aumentar em pequeno número de pessoas (PORUSH & FAUBERT, 1991; COYLE *et al.*,1999; CHATTOPADHYAY, 2003).

No presente estudo, utilizou-se a fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976) para a estimativa do *clearance* de creatinina. Existem várias fórmulas que são aplicadas para obtenção do *clearance* de creatinina sem necessidade da colheita de urina, que, em idosos, pode ser difícil de realizar, principalmente quando há incontinência urinária e confusão mental, além da dificuldade da colheita por si só (COYLE *et al.*, 1999; CHATTOPADHYAY, 2003). Dentre essas, a de COCKCROFT &

GAULT (1976) é a mais estudada. Continua ser a mais consistente para estimativa do ritmo de filtração glomerular (COYLE *et al.*, 1999; CHATTOPADHYAY, 2003). Entretanto, há controvérsias sobre as fórmulas em geral, inclusive a de COCKCROFT & GAULT (1976) para a determinação do ritmo de filtração glomerular (KAFEZT, 2003). Dados de estudos recentes mostraram que essa fórmula apresentou boa estimativa quando a taxa de filtração glomerular estava menor do que 60 ml/min mas, subestimou a filtração glomerular acima de 60 ml/min, o que, segundo autores, tem pouca relevância na prática clínica (VAN DER NOORTGATE *et al.*, 2002; CHATTOPADHYAY, 2003; KAFETZ, 2003).

A sua utilização é recomendada pela *National Kidney Foundation* (2002), Estados Unidos, para estimativa do ritmo de filtração glomerular em adultos. CHATTOPADHYAY (2003), em recente revisão sobre avaliação da função renal em idosos, concluiu que, apesar das fórmulas utilizadas subestimarem ou superestimarem o ritmo de filtração renal, a de COCKCROFT & GAULT (1976) fornece melhor estimativa dessa variável além de apresentar menor complexidade na execução. Assim, é recomendada para essa finalidade neste grupo etário.

Com relação aos demais exames de laboratório não foram observadas alterações nas médias das concentrações da albumina, glicose e TSH. A alteração desses valores pode elevar a concentração sérica da homocisteína (INGENBLEEK *et al.*, 2002; DE LUIS *et al.*, 2004; DIEKMAN *et al.*, 2001).

### 6.3 RESULTADOS ANTES DA ERRADICAÇÃO DO *H. pylori*

Nos 62 pacientes *H. pylori* positivos, foi encontrada infecção por amostras CagA positivas em 41 pacientes (66,1%) e amostras CagA negativas em 21 pacientes (33,9%).

Pacientes infectados por amostras CagA positivas tem maior densidade bacteriana na mucosa gástrica, lesões mais graves no epitélio gástrico, infiltrado de leucócitos polimorfonucleares mais intenso e níveis mais elevados de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8) que indivíduos infectados por amostras CagA negativas (ATHERTON, 1998). Tem sido frequentemente relatada a associação entre infecção por amostras CagA positivas e a presença das seguintes afecções: doença ulcerosa péptica, atrofia da mucosa gástrica e carcinoma gástrico.

As amostras CagA positivas são encontradas em 60 a 70 % das pessoas infectadas no mundo desenvolvido e são associadas com graves consequências clínicas (SUERBAUM & MICHETTI, 2002; BLASER & BERGER, 2001, PARSONNET, 1998; QUEIROZ *et al.*, 2000). Por outro lado, a maioria dos indivíduos infectados por *H. pylori* em países asiáticos têm amostras CagA positivas, mas não são observadas associações entre esse fato e consequências clínicas da infecção (ITO *et al.*, 1997). Foi sugerido que a heterogeneidade do gene *CagA* poderia contribuir para as variações na virulência (HOSHINO *et al.*, 2000).

PILOTTO *et al.* (1998) estudaram a presença de amostras CagA positivas e associação com úlcera péptica e atrofia gástrica ou metaplasia intestinal em 71 pacientes com média de idade de 77, 5 anos, variação de 62 a 89 anos, 34 homens e

37 mulheres. Na população estudada, 90% dos pacientes com úlcera gástrica eram CagA positivos, e 50% dos pacientes com úlcera duodenal eram infectados com amostras CagA positivas. Naqueles pacientes com atrofia gástrica a positividade de amostras CagA foi 40,5%, assim como para metaplasia intestinal, 40,5%. A regressão logística mostrou que atrofia gástrica e metaplasia intestinal foram fatores independentes significativamente nos infectados por amostras CagA positivas.

QUEIROZ *et al.* (1998) estudaram 119 pacientes com carcinoma gástrico e 119 pacientes do grupo controle e observaram a presença do gene *CagA* em 95,0% e 66,4% das amostras isoladas de pacientes com neoplasia e pacientes sem a doença, respectivamente, diferença que foi vista estar associada a um risco aumentado do desenvolvimento de carcinoma. OLIVEIRA (1999) observou predominância de amostras CagA-positivas em pacientes com carcinoma gástrico e úlcera péptica duodenal quando comparados aos pacientes com gastrite.

Em estudo recente, realizado em Minas Gerais, OLIVEIRA *et al.* (2003) identificaram 59,2 % de amostras CagA positivas na gastrite, 90% na úlcera duodenal e 94,2 % no carcinoma gástrico. Observaram, também, associação significativa entre amostras Cag-A positivas e atividade e inflamação da mucosa do corpo gástrico.

No presente estudo, o predomínio de amostras CagA positivas apresentou semelhança com resultados dos diversos trabalhos realizados no Brasil, porém este resultado pode estar subestimado nessa população, visto que foi avaliado por anticorpos que podem estar reduzidos na atrofia. KOKKOLA *et al.* (2003), ao estudar a história natural e evolução da gastrite crônica avançada (moderada e grave) em 47 homens (média de idade 62 anos), durante dez anos, encontraram desaparecimento

espontâneo de anticorpos anti-*H. pylori* em, aproximadamente, um quarto desses pacientes.

No presente estudo, a pesquisa de anticorpos anti-célula parietal foi positiva em sete pacientes (11,3%). Estudos mostraram que, proporção considerável de pacientes *H. pylori* positivos, desenvolvem reações autoimunes contra células epiteliais gástricas (FALLER *et al.*, 1996; UIBO *et al.*, 1995). Em 30% dos pacientes infectados com *H. pylori* são detectáveis tipos de autoanticorpos antigástricos que reagem contra estruturas canaliculares dentro das células parietais (VOROBYOVA *et al.*, 2000; FALLER *et al.*, 2000; BASSO *et al.*, 2000, D'ELIOS *et al.*, 2004a, b). Esse tipo de autoreatividade canalicular é altamente associado com a infecção pelo *H. pylori* e correlacionado com variáveis sorológicas e histológicas nas alterações da mucosa do corpo gástrico (FALLER *et al.* 1996; FALLER *et al.*, 1998; BASSO *et al.*, 2000; VOROBYOVA *et al.*, 2000). Em grande parte desses casos, a H<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase gástrica pode ser definida como o maior autoantígeno. Está localizada nos canalículos da célula parietal, onde os autoanticorpos se ligam às sub-unidades  $\alpha$  e  $\beta$  da bomba de prótons (D'ELIOS *et al.*, 2004a,b). A H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase gástrica representa o autoantígeno na gastrite autoimune clássica, tipo A e, também, foi identificada como alvo na auto-reatividade anticanalicular associada ao *H. pylori* (FALLER *et al.*, 2000). Entretanto, a detecção de anticorpos anti-célula parietal apresenta alta sensibilidade (> 90%), porém baixa especificidade ( $\cong$  50%) no diagnóstico da gastrite auto-imune tipo A da anemia perniciosa (TOH *et al.*, 1997). Também, pode ser encontrado em 30% dos pacientes com doenças endócrinas auto-imunes (tireoidite de Hashimoto, *diabetes mellitus* tipo 1, doença de Addison, hipoparatiroidismo primário) (TOH *et al.*, 1997; DE BLOCK *et al.*, 2002). Assim como,

pode estar presente na artrite reumatóide, vitiligo, miastenia gravis e síndrome de Sjögren (OTTESEN *et al.*, 1995). Todavia, há redução na frequência dos anticorpos anti-célula parietal com a evolução da anemia perniciosa.

Pessoas saudáveis tem aumento na prevalência desses anticorpos relacionado à idade, de aproximadamente 2,5% na terceira década para 9,6% na oitava década (STRICKLAND & HOOPER, 1972). Várias alterações semelhantes no corpo gástrico ocorrem tanto na gastrite atrófica auto-imune tipo A como na gastrite atrófica multifocal, tipo B, associada ao *H. pylori*, sugerindo, para essa bactéria, um papel iniciador na patogênese da gastrite autoimune tipo A (UIBO *et al.*, 1995; KOKKOLA *et al.*, 2003).

Estudos recentes apoiam essa idéia e, em pacientes geneticamente susceptíveis, a infecção pelo *H. pylori* desencadearia autoimunidade gástrica por mimetismo molecular (D'ELIOS *et al.*, 2004a). Dados recentes do estudo de AMEDEI *et al.* (2003) podem completar a maioria dos critérios propostos para o mimetismo molecular. A exposição à infecção pelo *H. pylori*, adquirida na infância, precede os sintomas e sinais da atrofia gástrica auto-imune que surgem tardiamente. Os pacientes tornam-se *H. pylori* negativos devido ao aumento da atrofia gástrica e hipocloridria, que produz o meio inapropriado para a sobrevivência da bactéria, e há aparecimento dos anticorpos para célula parietal (VALLE *et al.*, 1996; ANNIBALE *et al.*, 2001). Existem vários epitopos identificados entre o microorganismo e auto-antígenos gástricos associados com gastrite atrófica auto-imune (D'ELIOS *et al.*, 2004a; FALLER *et al.*, 2000; APPELMECK *et al.*, 1998).

Existem diversos estudos que avaliaram a associação da infecção pelo *H. pylori* e anemia perniciosa.

FONG *et al.* (1991) estudaram a frequência da infecção pelo *H. pylori* em 28 pacientes com anemia perniciosa e 28 pacientes que foram grupo controle, com média de idade de  $59 \pm 14$  anos. O diagnóstico de infecção pelo *H. pylori* foi feito com uso da sorologia e biópsia gástrica. A prevalência de biópsias positivas nos pacientes com anemia perniciosa foi menor do que no grupo controle, respectivamente 11% ( três pacientes) e 77% ou 20 pacientes ( $p=0,0001$ ). Para os autores, pacientes com anemia perniciosa são protegidos da infecção pelo *H. pylori* e a bactéria é um achado infrequente em pacientes com anemia perniciosa. HARUMA *et al.* (1995) apresentaram um estudo semelhante, quando investigaram 24 pacientes com anemia perniciosa e 24 controles com idade semelhante. A infecção pelo *H. pylori* foi diagnosticada por meio de biópsias e anticorpos IgG. Nenhum dos pacientes com anemia perniciosa foi *H. pylori* positivo, porém 67% dos controles eram *H. pylori* positivos. MARIGNANI *et al.* (1999) observaram baixa frequência de infecção pela bactéria em pacientes com anemia macrocítica quando comparados com anemia microcítica. A infecção pelo *H. pylori* foi diagnosticada utilizando-se biópsia e pesquisa de anticorpos IgG. Os pacientes com anemia macrocítica eram mais velhos que os com anemia microcítica, tinham níveis mais baixos de vitamina B<sub>12</sub> e níveis de gastrina mais elevados, mas somente dois dos 44 pacientes eram *H. pylori* positivos, entretanto 22 dos 26 pacientes com anemia microcítica eram *H. pylori* positivos. Foram investigados 150 pacientes com gastrite atrófica do corpo por ANNIBALE *et al.* em 2001. Os pacientes foram agrupados de acordo com o status *H. pylori* e a prevalência da anemia perniciosa. Dentre esses, 37

eram *H. pylori* negativos com utilização da biópsia e sorologia, 79 eram negativos pela histopatologia mas positivos pela sorologia e 34 eram positivos tanto pela histopatologia como pela sorologia. A frequência mais baixa de anemia perniciosa foi encontrada em pacientes com positivos com utilização dos exames histopatológicos e sorologia (12%), frequência intermediária foi vista em no grupo com biópsias negativas mas sorologia positiva (46%), e a maior frequência de anemia perniciosa foi encontrada no grupo negativo para *H. pylori* (76%).

ANDRÈS *et al.* (2003) investigaram a presença de infecção pelo *H. pylori* em 60 idosos selecionados por apresentarem deficiência de cobalamina devido a malabsorção da cobalamina-alimentar. Esses apresentavam polineuropatia (35%), demência e confusão mental (30%) e anemia (27%). A atrofia gástrica foi documentada em 19 dos 32 pacientes que foram investigados, mas a infecção pelo *H. pylori* foi encontrada em somente um paciente.

Estes estudos, que foram citados, sugerem que a hipótese da infecção pelo *H. pylori* como fator causal na anemia perniciosa não procede. Entretanto, outros estudos relatam que pacientes com anemia perniciosa tem taxas de infecção pelo *H. pylori* comparáveis com as da população normal.

ANNIBALE *et al.* (2000) relataram que 49 dos 81 pacientes com anemia perniciosa foram positivos para infecção pelo *H. pylori* (60%), embora somente oito pacientes mostraram exames histopatológicos positivos para a bactéria e 41 foram positivos pela investigação sorológica. O estudo realizado na Turquia por KAPTAN *et al.* em 2000 mostrou resultado semelhante (ítem 6.6.1). Outro estudo feito por AVCU *et al.* (2001), também mostrou infecção pela bactéria em 57% dos 421 pacientes com deficiência de vitamina B<sub>12</sub> (ítem 6.6.1). Um estudo sueco realizado em 30 pacientes

com anemia perniciosa mostrou que 25 (83%) desses tinha anticorpos contra *H. pylori* (MA *et al.*, 1994).

Estes estudos mostram dados divergentes e heterogêneos para a associação entre infecção pelo *H. pylori* e anemia relacionada à cobalamina. Entretanto, foi sugerido que a baixa frequência de infecção pelo *H. pylori* na atrofia gástrica pode ser explicada pelo fato de os pacientes infectados tornarem-se *H. pylori* negativos, como resultado da ausência de ácido que inibe a sua sobrevivência (KUIPERS *et al.*, 1997).

Assim, a distinção entre os dois tipos de gastrite (auto-imune tipo A e gastrite crônica atrófica tipo B associada ao *H. pylori*), baseada na ausência ou presença de auto-anticorpos circulantes, pode não ser viável devido aos achados recentes, como a presença de auto-anticorpos para célula parietal associada à infecção pelo *H. pylori* (APPELMECK *et al.*, 1998; ALDERUCCIO & TOH, 2000).

No presente estudo, dentre os sete pacientes com presença de anticorpo para célula parietal, os resultados de dois pacientes foram separados para análise e discussão dos achados. Esses pacientes, provavelmente, tinham quadro compatível com atrofia gástrica auto-imune, que supomos, possa ter sido iniciada pela infecção do microorganismo. Adicionalmente, os níveis séricos reduzidos de pepsinogênio I (< 30 µg/l) e da relação PGI/ PG II (< 3,0) já demonstravam atrofia do corpo gástrico de acordo com o estudo de SIPPONEN *et al.* (2003). A ausência de melhora nos níveis séricos do pepsinogênio I com o tratamento demonstrou que, nesses pacientes, a atrofia persistiu apesar da erradicação da bactéria. Porém, no paciente do sexo masculino, houve redução acentuada nos níveis plasmáticos da homocisteína

depois do tratamento (23,0  $\mu\text{mol/l}$  e 34,2  $\mu\text{mol/l}$ , respectivamente três e seis meses) quando comparados com os níveis iniciais (109,5  $\mu\text{mol/l}$ ). Mas o outro paciente, sexo feminino, a concentração da homocisteína não apresentou alteração entre a dosagem inicial (17,6  $\mu\text{mol/l}$ ) e a de três meses (17,8  $\mu\text{mol/l}$ ), e teve discreto aumento depois do tratamento (22,6  $\mu\text{mol/l}$ ). Entretanto, essa paciente apresentou redução na concentração sérica de gastrina depois do tratamento (394 pg/ml) em relação à dosagem inicial (630 pg/ml), mas ainda acima do valor de referência. Como já foi citado, ambos tinham fator intrínseco positivo (dados não mencionados).

KOKKOLA *et al.* (2003), ao estudar a história natural e evolução da gastrite crônica avançada (moderada e grave) em 47 homens (média de idade 62 anos), também, observaram que a média do pepsinogênio I permaneceu reduzida, no mesmo nível do valor inicial, durante todo o seguimento dos pacientes.

Foram encontradas, no presente estudo, diversas correlações entre as variáveis estudadas antes da erradicação da bactéria. Essas associações são complexas, e por isso, justificam a discussão em grupo. Entretanto, os resultados obtidos poderão ser abordados individualmente quando forem pertinentes.

Na presente avaliação, apesar de o índice do VCM estar dentro do valor de referência (90,2 fl  $\pm$  5,7), foi observada correlação inversa com a concentração da vitamina B<sub>12</sub>.

Com relação ao VCM, na deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, os pacientes podem ter macrocitose (ZITOUN & ZITOUN, 1999; SANT *et al.*, 1997; OOSTERHUIS *et al.*,

2000) ou não apresentar alteração no VCM (THOMPSON *et al.*, 1987; MATTHEWS *et al.*, 1988; SAVAGE *et al.*, 1994).

Entretanto, quando ocorre aumento do VCM, este precede a redução da hemoglobina (SANT *et al.*, 199, BENDER, 2003).

Contudo, o VCM pode permanecer normal mesmo na presença da deficiência bioquímica da vitamina B<sub>12</sub>. Os resultados de vários estudos mostraram que, em porcentagem significativa, a deficiência dessa vitamina ocorreu sem alterações no VCM, e também, sem anemia (THOMPSON *et al.*, 1987; LINDENBAUM *et al.*, 1988; LINDENBAUM *et al.*, 1994; METZ *et al.*, 1996).

OOSTERHUIS *et al.* (2000) fizeram revisão sistemática dos estudos existentes sobre o valor diagnóstico do aumento do VCM na deficiência da vitamina B<sub>12</sub> em pacientes com e sem anemia. Concluíram que a sensibilidade do VCM para a detecção da deficiência de B<sub>12</sub> é baixa e, dependendo da população estudada, 25 a 84% dos casos serão omitidos. Entretanto, mais de 55% dos pacientes com VCM elevado terão confirmado a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> depois da realização de outros testes, como homocisteína e ácido metilmalônico. Assim, o VCM seria um indicador sem sensibilidade para detectar a deficiência intracelular da vitamina B<sub>12</sub>. Também, o VCM não é específico para a deficiência da vitamina B<sub>12</sub> porque pode estar aumentado na deficiência de ácido fólico e em diferentes causas. As mais frequentes são: medicamentos, hipotireoidismo, doenças hepáticas, mielodisplasia e outras (MAHMOUD *et al.*, 1996; SAVAGE *et al.*, 2000).

Entretanto, NILSSON-EHLE *et al.* (1989) e LINDENBAUM *et al.* (1988), mostraram que, se os resultados do tratamento com cobalamina produzirem decréscimo do VCM e aumento do nível de hemoglobina, mesmo dentro dos valores de referência, essas respostas podem indicar deficiência hematológica.

A importância da dosagem da homocisteína plasmática total no diagnóstico dos estados de deficiência da vitamina B<sub>12</sub> está se tornando mais evidente (BRIDDON, 2003; CLARKE *et al.*, 2003b; JOHNSON *et al.*, 2003; CLARKE *et al.*, 2004; REFSUM *et al.*, 2004). Isso é decorrente da sensibilidade e especificidade reduzidas, tanto dos indicadores hematológicos, como da concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> na avaliação do seu estado funcional. Além disso, maior disponibilidade, menor custo e familiaridade com o método contribuem para sua utilização mais frequente (DHARMARAJAN *et al.*, 2003; OH *et al.*, 2003; BRIDDON, 2003; CLARKE *et al.*, 2004; OBEID *et al.*, 2004; WOLTERS *et al.*, 2004).

No presente estudo, a concentração média da homocisteína inicial apresentou valor maior que o considerado dentro da faixa normal ( $40,3 \pm 26,64 \mu\text{mol/l}$ ) caracterizando hiperhomocisteinemia intermediária (31 e 100  $\mu\text{mol/l}$ ) e moderada (16 a 30  $\mu\text{mol/l}$ ) (REFSUM *et al.*, 1998; REFSUM *et al.*, 2004).

No idoso, dentre os diversos fatores que interferem com a homocisteína, produzindo seu aumento, têm-se a idade e a função renal (ARNADOTTIR *et al.*, 1996; STANGER *et al.*, 2003; CLARKE *et al.*, 2003a; REFSUM *et al.*, 2004).

No presente estudo, não foi evidenciada correlação entre a idade e a concentração sérica da homocisteína antes do tratamento. Entretanto, resultados de outros estudos mostraram um aumento linear entre 60 e 65 anos e, mais rápido na faixa

etária subsequente de um  $\mu\text{mol/l}$  por década ou, aproximadamente, 10% (DE BREE *et al.*, 2002; DURAND *et al.*, 2001). O aumento relacionado à idade pode ser devido, em parte, à redução fisiológica da função renal, além de outros fatores, tais como: *status* alterado da vitamina B<sub>12</sub>, declínio da cistationina-sintase e de outras enzimas (SELHUB *et al.*, 1993; JACQUES *et al.*, 1999; HERRMANN *et al.*, 2000; CLARKE *et al.*, 2003a).

A homocisteína é dependente da função renal e da síntese da creatinina (ARNADOTTIR *et al.*, 1996; FRIEDMAN *et al.*, 2001; CLARKE *et al.*, 2003a; REFSUM *et al.* 2004). Pode ter aumento discreto na presença de insuficiência renal que deve ser considerada como possível fator contribuinte, especialmente, no idoso. Diversos estudos encontraram correlações positivas entre o nível sérico da homocisteína e nível sérico da creatinina (HERRMANN *et al.*, 1999; CLARKE *et al.*, 2003a; OBEID *et al.*, 2004).

Porém, no grupo estudado, antes da erradicação da bactéria, não foi evidenciada correlação entre a concentração da homocisteína plasmática e a concentração da creatinina sérica. Também, essa correlação não foi observada entre a concentração da homocisteína com o valor do *clearance* de creatinina estimado pela fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976).

CLARKE *et al.* (2003a, 2004) avaliaram pessoas acima de 65 anos e concluíram como indicativos da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> os resultados da dosagem da vitamina B<sub>12</sub> < 200 pmol/l ou 270 pg/ml na presença de homocisteína maior que 20  $\mu\text{mol/l}$  (BRIDDON, 2003; CLARKE *et al.*, 2004).

REFSUM *et al.* (2004) publicaram, com base nesses dados, e para pessoas com mais de 65 anos, o limite superior de 20  $\mu\text{mol/l}$  para essa substância naqueles pacientes sem utilização de folato, e de 16  $\mu\text{mol/l}$  para os que usavam folato. Se considerarmos esses valores, a maioria dos pacientes estudados apresentou concentração média da homocisteína acima desses valores caracterizando a presença de deficiência da vitamina B<sub>12</sub>.

No presente estudo, antes do tratamento medicamentoso, não foi observada correlação entre a concentração sérica da homocisteína e a concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub>.

HERRMANN *et al.* (1999) no estudo de 204 idosos e 75 controles para avaliação do aumento da homocisteína, também, não encontraram correlação entre valores da homocisteína e vitamina B<sub>12</sub>. Por outro lado, vários estudos mostraram correlação inversa entre a concentração plasmática da homocisteína e a concentração sérica da vitamina B<sub>12</sub> (BJORKEGREN *et al.*, 2003; LINDENBAUM *et al.*, 1994; SELHUB *et al.*, 1993; CLARKE *et al.*, 2003b, 2004). Nesses estudos foram avaliados um grande número de pessoas, e, portanto, maior probabilidade de apresentação da deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, nos seus diversos aspectos clínicos.

Também, no presente estudo, foi observada correlação inversa entre a concentração da homocisteína plasmática e o valor do VCM. A relação da homocisteína para o *status* da vitamina B<sub>12</sub> poderia ser comparada àquela existente entre o VCM e a vitamina B<sub>12</sub> (HALTMAYER *et al.*, 2002). Entretanto, não tem sido demonstrado relação direta entre homocisteína e o VCM (BJORKEGREN *et al.*, 2001).

HALTMAYER *et al.* (2002) estudaram a relação entre o valor do VCM e a concentração da homocisteína em 200 pacientes admitidos para tratamento de doenças ateroscleróticas sintomáticas, na ausência de outras causas de aumento do VCM e da homocisteína. Os resultados mostraram correlação significativa entre o VCM e a homocisteína e, ausência de correlação entre a vitamina B<sub>12</sub> e o ácido fólico em pacientes com deficiência sub-clínica das vitaminas.

No presente estudo, também, foi observada correlação inversa entre a concentração da homocisteína e a concentração do pepsinogênio I. Porém, não foram observadas correlações significativas entre homocisteína e pepsinogênio II e, entre essa substância e a relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II (PGI/ PGII).

Os níveis séricos dos pepsinogênios (I e II) são indicativos do estado histológico da mucosa gástrica permitindo avaliação da sua integridade (ASAKA *et al.*,1996; KIYOHIRA *et al.*, 2004). São utilizados como marcadores para atrofia gástrica, infecção pelo *H. pylori* e até para avaliar a erradicação da bactéria (SAMLOFF & LIEBMAN., 1973; ASAKA *et al.*, 1998; GRITTI *et al.*, 2000; KAGEYAMA, 2002).

SIPPONEN *et al.* (2003) investigaram a frequência dos níveis reduzidos da vitamina B<sub>12</sub>, aumento dos níveis séricos da homocisteína e, utilizando pepsinogênio I, a associação com gastrite atrófica do corpo e a presença de infecção pelo *H. pylori* em homens finlandeses com média de idade de 51-65 anos. Concluíram que a redução acentuada da vitamina B<sub>12</sub> relacionada à gastrite atrófica do corpo é relativamente comum, ocorrendo em 2,5% nessa população, assim como a infecção pelo *H. pylori* esteve presente em 77% desses casos. Nesse mesmo estudo, observaram um significado biológico diferente para a redução da vitamina B<sub>12</sub> dependendo da

presença ou ausência da gastrite atrófica do corpo. A vitamina B<sub>12</sub> < 170 pmol/l ( $\cong$  239 pg/ml) esteve associada com níveis altos de homocisteína independente da presença de gastrite atrófica do corpo. Entretanto, com níveis da vitamina B<sub>12</sub> entre 170 e 219 pmol/l ( $\approx$  239 a 325 pg/ml) o aumento dos níveis de homocisteína ocorreu naqueles com gastrite atrófica do corpo, mas foi ausente nos pacientes sem atrofia. Isto confirma a visão que, as consequências biológicas adversas da deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, como indicadas pelo aumento da homocisteína, aparecem mais precocemente em pessoas com gastrite atrófica do corpo.

SANTARELLI *et al.* (2004) encontraram associação significativa entre a presença de gastrite atrófica, níveis reduzidos de vitamina B<sub>12</sub> e hiperhomocisteinemia. Os resultados deste estudo sugeriram que a gastrite atrófica pode ser um fator contribuinte conduzindo à hiperhomocisteinemia, possivelmente, por meio da malabsorção da vitamina B<sub>12</sub>.

Também, foram observadas correlação positiva entre pepsinogênio II e pepsinogênio I e, correlação inversa entre pepsinogênio II e relação pepsinogênio I e pepsinogênio II (PGI/ PGII).

No presente estudo, antes do tratamento, não foram observadas correlações significativas entre as concentrações do pepsinogênio I e do pepsinogênio II. Também, não foi vista correlação entre a concentração da creatinina e o valor do *clearance* de creatinina usando a fórmula de COCKCROFT & GAULT (1976).

As concentrações séricas dos pepsinogênios em pessoas saudáveis são relativamente constantes, e nessas a concentração do pepsinogênio I (PGI) é sempre mais elevada do que a concentração do pepsinogênio II (PGII), com a relação entre

pepsinogênio I e pepsinogênio II de 3: 1 (PG I/ PG II) (GRITTI *et al.*, 2000). Para SAMLOFF (1989) essa relação entre os pepsinogênios deveria ser considerada mais importante que o valor absoluto das duas substâncias, principalmente quando utilizados com finalidade de realizar diagnóstico, porque são produzidos em áreas diferentes do estômago. Também, a diferença na localização dos pepsinogênios resulta em alterações distintas dessas substâncias nas várias lesões gástricas.

O pepsinogênio II (PGII) é completamente reabsorvido e metabolizado nos rins, enquanto somente dois terços do pepsinogênio I (PGI) são metabolizados nesse órgão. Assim, aumentam na insuficiência renal (GRITTI *et al.*, 2000; TAMURA *et al.*, 1999). Também, as concentrações séricas de ambos pepsinogênios estão aumentadas na inflamação da mucosa gástrica pelo *H. pylori* (PLEBANI, 1993; KIYOHIRA *et al.*, 2003; BODGER, *et al.*, 2001; OHKUDA *et al.*, 2004).

A correlação inversa observada entre o pepsinogênio II e a relação PG I/PG II , pode ser explicada pela localização da infecção, 100% no antro, e hiperfunção das glândulas pilóricas do antro gástrico onde o pepsinogênio II é, também, produzido. Em um estudo, SAMLOFF *et al.* (1988) atribuíram 30% do aumento observado no pepsinogênio II às células principais e 70% às glândulas pilóricas.

#### **6.4 RESULTADOS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO**

No presente estudo, a taxa de erradicação do *H. pylori*, utilizando furazolidona (200 mg/*bid*), claritromicina (500 mg/*bid*) e omeprazol (20 mg/*mid*) durante sete dias, foi de 95,2%, depois de três meses do tratamento.

Em três pacientes (2,8%) não houve erradicação da bactéria com este esquema. Foi, então, usado outro esquema constituído por omeprazol (20 mg/*mid*), subcitrato de bismuto (150 mg/*tid*), oxitetraciclina (500 mg/*tid*) e furazolidona (150 mg/*tid*) durante dez dias.

Depois de seis meses de tratamento houve erradicação do microorganismo em 100% dos casos.

Neste estudo, dentre os 62 pacientes tratados, 30 pacientes (48%) não apresentaram efeitos adversos. Com relação aos 32 pacientes (52%) que tiveram efeitos adversos, os mais freqüentes foram: náuseas (53%), gosto metálico (38%), tonteira (28%) e astenia (25%). A diarréia foi efeito incomum nesse grupo (13%).

O segundo esquema, utilizado quando o primeiro não foi capaz de erradicar a bactéria, depois de três meses de tratamento, praticamente não apresentou efeitos colaterais.

No Brasil não há estudo avaliando erradicação da bactéria em idosos. Assim, a alta taxa de erradicação obtida com o esquema utilizado e a presença de poucos efeitos adversos pode constituir uma alternativa eficaz, mais econômica e bem tolerada para a erradicação do *H. pylori* em idosos.

Cabe citar que o envelhecimento, indiretamente, e a função renal, diretamente, têm impacto na farmacocinética de medicamentos utilizados na erradicação do *H. pylori*. Apesar de pequeno, o aumento observado nas concentrações séricas de medicamentos poderiam explicar, em parte, porque em idosos, tem sido encontradas taxas mais elevadas de erradicação do *H. pylori* (AMMON *et al.*, 2000).

## 6.5 RESULTADOS DA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

No presente estudo a avaliação histopatológica, realizada pela classificação de Sidney modificada (DIXON *et al.*, 1996) mostrou, em todos os pacientes estudados, gastrite de antro, corpo ou ambos, de grau leve a acentuado.

No antro gástrico foram encontradas inflamação e atividade em 100% dos casos, com predomínio do grau moderado, respectivamente, 52,2% para inflamação e 55,7% para atividade, em mais da metade dos pacientes.

Nesses pacientes foram identificadas 45,9% de atrofia e 42,6% de metaplasia do antro.

Dentre os pacientes estudados, com relação ao corpo gástrico, foram observados, na sua grande maioria, inflamação (96,7%) e atividade (93,3%). Um pouco mais da metade desses pacientes tinha grau moderado de inflamação (51,7%) e também, um pouco mais da metade (60%) grau moderado para atividade. Mas, no corpo gástrico foram identificadas atrofia em 9,8% e metaplasia em 8,2% desses pacientes.

A infecção por *H. pylori* é a principal causa de gastrite crônica e, se a bactéria não for erradicada com a utilização de antimicrobianos, a maioria das pessoas permanece infectada por toda a vida (DIXON *et al.*, 1996; CORREA & MILLER, 1998). Entretanto, somente uma proporção das pessoas infectadas (10 a 15%) vão desenvolver doenças como úlcera péptica (duodenal ou gástrica), linfoma MALT (*mucosa associated lymphoid*) ou cancer gástrico (KUIPERS *et al.*, 1995). O desenvolvimento dessas doenças está relacionado à virulência das amostras de *H.*

*pylori*, susceptibilidade genética do hospedeiro e co-fatores do meio-ambiente (ATHERTON, 1998).

Segundo a classificação modificada de Sidney há dois tipos de gastrite crônica relacionadas ao *H. pylori*, restrita ao antro e sem atrofia (gastrite antral difusa) e multifocal com atrofia (gastrite atrófica multifocal) (DIXON *et al.*, 1996).

A gastrite antral difusa não predispõe a metaplasia intestinal ou câncer e, a úlcera duodenal é a lesão sintomática mais frequente ocorrendo em menos de 20% das pessoas acometidas (KAPADIA, 2003).

Dentre os fatores que podem produzir progressão da inflamação e desenvolvimento da atrofia na mucosa (gastrite atrófica multifocal), tem-se: diferenças nas amostras *H. pylori* (principalmente amostras CagA positivas), idade de aquisição da infecção, duração da infecção e desenvolvimento da auto-imunidade no hospedeiro (OWEN, 2003). Estima-se o desenvolvimento de gastrite atrófica, em diferentes localizações e graus, em aproximadamente 50% dos pacientes infectados por *H. pylori* ao longo de suas existências (KOKKOLA *et al.*, 2002; LAUWERS, 2003; SIPPONEN & MARSHALL, 2000)

A intensidade da infiltração por neutrófilos é considerada proporcional ao grau de atividade da gastrite e, quase sempre, fenômeno universal nessa afecção (DIXON *et al.*, 1996).

A atrofia e metaplasia ocorrem em locais onde a inflamação é mais grave. A metaplasia intestinal raramente ocorre na ausência de infecção por *H. pylori*

Apresentam maior frequência nas pessoas que foram colonizados por amostras CagA positivas e são encontradas, principalmente, no antro (KUIPERS *et al.*, 1995 a; KUIPERS *et al.*, 1995 b).

ASAKA *et al.* (2001) relataram que ambas, gastrite atrófica e metaplasia intestinal, tiveram forte associação com infecção por *H. pylori* e não com a idade, isoladamente. Entretanto, dentro do grupo de pacientes *H. pylori* positivos a atrofia e metaplasia aumentaram com a idade (KAPADIA, 2003).

No presente estudo, os resultados obtidos podem ser atribuídos, dentre outros, aos seguintes fatores: efeito coorte (infecção adquirida na infância), maior proporção de amostras CagA positivas (66,1%), pacientes com mais de 60 anos (média de idade  $71,1 \pm 7,03$  anos) e maior duração da infecção pelo *H. pylori*.

## **6.6 RESULTADOS DAS CORRELAÇÕES ENTRE ESTUDO HISTOPATOLÓGICO E VARIÁVEIS SELECIONADAS ANTES DO TRATAMENTO.**

Foi observada correlação significativa entre grau de inflamação da mucosa antral e concentração de pepsinogênio II, e correlação inversa entre essa alteração e relação PG I/ PG II. A atividade da mucosa antral mostrou correlação positiva com pepsinogênio I e pepsinogênio II.

Com relação à mucosa do corpo gástrico foram observadas correlação positiva entre a inflamação do corpo e o pepsinogênio II e, correlação inversa entre essa alteração e a relação pepsinogênio I e pepsinogênio II. A atividade da mucosa do corpo mostrou correlação positiva com pepsinogênio II e correlação inversa entre essa alteração e relação pepsinogênio I e pepsinogênio II.

Os níveis séricos dos pepsinogênios (I e II) são indicativos do estado histopatológico da mucosa gástrica permitindo avaliação da sua integridade (ASAKA *et al.*, 1996; BODGER *et al.*, 2001; KIYOHIRA *et al.*, 2004). São utilizados tanto como marcadores para atrofia gástrica assim como para infecção por *H. pylori* e sua erradicação (SAMLOFF & LIEBMAN., 1973; ASAKA *et al.*, 1998; GRITTI *et al.*, 2000; KAGEYAMA, 2002). As concentrações séricas de ambos pepsinogênios estão aumentadas na inflamação da mucosa gástrica por *H. pylori* e a relação PGI/ PG II reduzida (PLEBANI, 1993; KIYOHIRA *et al.*, 2003; BODGER, *et al.*, 2001).

BODGER *et al.* (2001) observaram correlação positiva entre idade dos pacientes *H. pylori* positivos e concentrações de pepsinogênio II e forte correlação negativa entre idade nesse mesmo grupo e relação pepsinogênio I/ pepsinogênio II (PG I/ PG II) quando avaliaram o potencial diagnóstico dos pepsinogênios I e II para indicação da localização e gravidade da gastrite pelo *H. pylori*. A média de idade do grupo era de 49,6 anos e o grupo *H. pylori* positivo apresentou gastrite crônica predominante no antro em 41, 2%, pangastrite em 52,9%, e gastrite predominante no corpo em 5, 9%.

No presente estudo, as correlações encontradas entre a inflamação no antro e corpo e pepsinogênio II, e correlação inversa com relação PG I/ PG II refletem a influência dos graus histopatológicos de inflamação no antro e corpo nos níveis de pepsinogênio II e, conseqüentemente, na relação PG I/ PG II. Estudos experimentais mostraram que o lipossacarídeo do *H. pylori* induziu secreção de pepsinogênio (LORENTE *et al.*, 2002).

Também, nesse estudo, a correlação entre grau de atividade do antro e níveis de pepsinogênios I e II refletem a presença da infecção por *H. pylori* com maior proporção de amostras CagA positivas.

FURUTA *et al.* (2002a) observaram correlações significativas entre graus de inflamação e atrofia do antro e corpo com o pH do suco gástrico em um estudo sobre polimorfismo da interleucina 1- $\beta$  (IL-1  $\beta$ ) e aumento no risco de hipocloridria e gastrite atrófica em 576 pacientes *H. pylori* positivos, com média de idade 51,3  $\pm$  0,5 anos. Entretanto, a análise de regressão múltipla revelou que somente os graus de inflamação e atrofia do corpo foram significativamente associados com o pH do suco gástrico. Assim, inflamação e atrofia do corpo com graus mais graves foram associados com aumento do pH do suco gástrico em jejum e, conseqüentemente, hipocloridria mais acentuada. Também, foram observadas correlações inversas entre o pH do suco gástrico e concentração de pepsinogênio I e relação PG I/ PG II. Todavia, a utilização da análise de regressão múltipla mostrou que somente graus de atrofia e inflamação do corpo foram significativamente associadas com relação PG I/ PG II. Os autores concluíram que a inflamação e atrofia do corpo gástrico por *H. pylori* estão associadas com hipocloridria e redução da relação PG I/ PG II. Estudos recentes tem mostrado a interleucina 1- $\beta$  (IL-1  $\beta$ ) como fator importante do hospedeiro no desenvolvimento da gastrite do corpo (D'ELIOS *et al.*, 2004a, b).

No presente estudo, apesar de as concentrações médias de pepsinogênio I e relação PG I/ PG II terem sido menores nos pacientes com atrofia do corpo, os resultados não foram significativos. A concentração de pepsinogênio I (PGI) decresce com aumento do grau de atrofia do corpo, e concentrações <25  $\mu$ g/l são encontradas em pacientes com atrofia do corpo (graus moderado e grave) (SIPPONEN *et al.*, 2003). A

concentração do pepsinogênio II apresenta redução menos evidente que a concentração do pepsinogênio I, provavelmente, pela sua produção pelas glândulas pilóricas com metaplasia (BODGER *et al.*, 2001).

### 6.6.1 Resultados depois da erradicação da bactéria

Embora o papel do *H. pylori* no desenvolvimento da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> ainda não esteja esclarecido, a bactéria oferece uma explicação atrativa para a associação entre a infecção causada pelo *H. pylori* e aumento da concentração plasmática da homocisteína.

Entretanto, existem poucos estudos na literatura que investigaram a eficácia da erradicação do *H. pylori* sobre as concentrações séricas da vitamina B<sub>12</sub> ou concentrações plasmáticas da homocisteína.

Com relação à vitamina B<sub>12</sub>, até a presente data, existem três estudos que foram realizados na Turquia no início desta década.

KAPTAN *et al.* (2000) avaliaram 138 pacientes, com média de idade de  $59,54 \pm 15,43$  anos, 101 mulheres e 37 homens, com anemia megaloblástica e vitamina B<sub>12</sub>  $< 147$  pmol/l ( $\cong 200$  pg/ml). Dentre esses pacientes, 77 (56%) foram *H. pylori* positivos, confirmados por exames histopatológicos e receberam tratamento medicamentoso. Em 31 desses pacientes (40%), reavaliados por novos exames histopatológicos, houve erradicação da bactéria, depois de um mês do tratamento com melhora significativa das variáveis hematológicas e dos níveis séricos da vitamina B<sub>12</sub>. Os pacientes foram acompanhados por  $42 \pm 19$  meses, e novos exames mostraram melhora significativa dos níveis de vitamina B<sub>12</sub> ( $63 \pm 30$  pmol/l ou  $87 \pm 41$  pg/ml

para  $223 \pm 38$  pmol/l ou  $303 \pm 52$  pg/ml) e, também, no hematócrito e VCM. Os autores sugeriram que a normalização dos níveis da vitamina B<sub>12</sub> e melhora da anemia poderiam estar diretamente correlacionados com erradicação da bactéria e não com a melhora da inflamação.

Em outro estudo, AVCU *et al.* (2001) investigaram 108 pacientes *H. pylori* positivos, média de idade  $44 \pm 1,1$  anos, com a bactéria presente na placa dentária, deficiência de vitamina B<sub>12</sub> e anemia. Depois do tratamento medicamentoso, os exames histopatológicos foram repetidos em 61 pacientes e confirmaram o sucesso da erradicação da bactéria. Houve melhora significativa tanto nas variáveis hematológicas (hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM) como nos níveis séricos da vitamina B<sub>12</sub> (de  $71 \pm 11$  para  $293 \pm 11$  pg/ml), e a média de seguimento desses pacientes foi de  $15 \pm 1$  meses.

SERIN *et al.* (2002) avaliaram um grupo total de 145 pacientes, média de idade  $43 \pm 12$  anos, *H. pylori* positivos, sem atrofia gástrica ao exame histopatológico e submetidos a tratamento medicamentoso para erradicação da bactéria. Dentre esses pacientes, 65 foram avaliados novamente com dois e três meses depois do tratamento. Os níveis basais da vitamina B<sub>12</sub> foram indicativos de deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, embora não houvesse anemia. O tratamento medicamentoso foi eficaz em 33 dos 65 pacientes. Os autores observaram, depois do tratamento, aumento significativo do nível sérico da vitamina B<sub>12</sub> e, também, do nível sérico da hemoglobina independentemente da erradicação do *H. pylori*. Nesse estudo não foi realizada dosagem plasmática da homocisteína.

No presente estudo as concentrações médias da vitamina B<sub>12</sub> foram significativamente maiores depois de três ( $p < 10^{-3}$ ) e seis meses ( $p < 10^{-3}$ ) da erradicação do *H. pylori* quando comparadas com a concentração média inicial.

Com relação à homocisteína, até a presente data, existe um estudo feito por LEUNG *et al.* (2001) onde avaliaram a concentração plasmática dessa substância antes e depois da erradicação da infecção pelo *H. pylori*. Foram tratados 37 pacientes com sintomas dispépticos, *H. pylori* positivos, média de idade  $47 \pm 12$  anos e concentrações iniciais de homocisteína de  $10,5 \pm 3,2$   $\mu\text{mol/l}$ . A erradicação da bactéria foi comprovada por resultados negativos do teste respiratório (uréia marcada com <sup>13</sup>C) depois de seis meses do tratamento. Não foram observadas alterações significativas entre as concentrações da homocisteína antes e seis meses depois do tratamento (respectivamente  $10,5$  e  $10,2$   $\mu\text{mol/l}$ ). Também, nesse estudo não foi evidenciada correlação entre concentrações de homocisteína e alterações histopatológicas da mucosa gástrica. Os autores apontaram como limitação ao estudo a inclusão de pacientes com concentrações basais de homocisteína dentro dos valores de referência, portanto a erradicação do *H. pylori* não teve impacto nos níveis séricos desses pacientes.

No presente estudo as concentrações médias da homocisteína foram significativamente menores ( $p < 10^{-3}$ ) depois do tratamento com três e seis meses quando comparadas com a concentração média inicial. Entretanto naqueles pacientes cuja concentrações plasmáticas de homocisteína antes do tratamento estavam dentro dos valores de referência não apresentaram modificações nessas dosagens, sugerindo que, provavelmente, não apresentavam deficiência de vitamina B<sub>12</sub> em concordância com os achados do estudo de LEUNG *et al.* (2001).

Entretanto no presente estudo as concentrações médias da homocisteína foram significativamente menores depois do tratamento (três e seis meses) quando comparadas com a concentração média inicial, demonstrando que a erradicação da infecção causada pelo *H. pylori* apresentou impacto nos níveis séricos desses pacientes.

Nesse estudo, a média do VCM apresentou redução significativa ( $p=0,002$ ) depois de seis meses de tratamento.

STABLER *et al.* (1990) estudaram, em 86 pacientes com níveis séricos da vitamina B<sub>12</sub> reduzida, os seguintes aspectos: 44% tinham valores para o hematócrito dentro da referência estabelecida, e 36% apresentavam valores dentro da referência para o VCM. Os pacientes que apresentaram resposta ao tratamento com vitamina B<sub>12</sub> mostraram um ou mais dos seguintes efeitos: aumento no hematócrito de, pelo menos, 0,05; redução no VCM, no mínimo, 5 fl; desaparecimento de neutrófilos hipersegmentados ou macroovalócitos no esfregaço e melhora dos sintomas neuropsiquiátricos dentro de três meses.

NILSSON-EHLE *et al.* (1989) e LINDENBAUM *et al.* (1988), mostraram que, se os resultados do tratamento com cobalamina resultarem em decréscimo do VCM e aumento do nível de hemoglobina, mesmo dentro dos valores de referência, essas respostas podem indicar deficiência hematológica.

Também, no presente estudo foram observadas reduções significativas na média das concentrações de pepsinogênio I ( $p = < 10^{-3}$ ) e gastrina ( $p=0,05$ ) depois de seis meses do tratamento.

PILOTTO *et al.* (1996) estudaram em 121 pacientes com dispepsia, 60 homens e 61 mulheres, média de idade 73 anos, variação de 61 a 89, a eficácia da erradicação do *H. pylori* com diferentes esquemas terapêuticos e variações dos pepsinogênios I e II e da relação PG I/ PG II depois do tratamento medicamentoso. Observaram melhores resultados com esquema omeprazol + metronidazol + claritromicina durante uma semana (85 a 90%, respectivamente, na intenção de tratamento e análise por protocolo) e, nos pacientes com erradicação da bactéria, redução significativa ( $p < 0,0001$ ) no pepsinogênio II e aumento na relação PG I/ PG II ( $p < 0,001$ ).

Os dados do presente estudo demonstraram que a erradicação da infecção por *H. pylori* produziu alterações significativas nas diversas variáveis estudadas depois de três e seis meses do tratamento. Nesse estudo, a presença da infecção pelo *H. pylori* pode ser a causa da redução da média da concentração da vitamina B<sub>12</sub> e aumento da média da concentração plasmática da homocisteína.

Com relação à homocisteína, quando as concentrações médias da homocisteína de três ( $16,5 \pm 6,71 \mu\text{mol/l}$ ) e seis meses ( $21,6 \pm 10,1 \mu\text{mol/l}$ ) foram comparadas, diferenças estatisticamente significativas foram observadas ( $p < 10^{-3}$ ). A análise das correlações depois de seis meses do tratamento mostraram correlação significativa ( $p=0,03$ ) entre a concentração média da homocisteína e creatinina que não foi vista antes do tratamento ( $p=0,45$ ). Realmente, esses idosos apresentavam redução na média do *clearance* de creatinina estimado, apesar de a concentração média inicial da creatinina estar dentro do valor de referência.

Uma das hipóteses para este achado poderia ser atribuído a infecção pela bactéria, por meio de suas diversas ações (estímulo de citocinas e outras substâncias), que ,

provavelmente, foram responsáveis pelo aumento da concentração média inicial da homocisteína, sobrepondo-se a alteração renal já existente, pois o grupo estudado é constituído de idosos que tem alterações próprias do processo de envelhecimento. Assim, a erradicação da bactéria mostrou a alteração renal já existente, mas a redução na média da concentração da homocisteína continuou significativa depois de seis meses de tratamento.

Reforçando o fato, quando foi estudada a correlação entre concentração média do pepsinogênio I e o valor médio do *clearance* de creatinina foi vista correlação negativa depois de seis meses de tratamento ( $p=0,008$ ). Antes do tratamento não havia essa correlação ( $p=0,08$ ). Isto confirma que no paciente idoso a presença de co-morbidades, evidentes ou não, sempre devem ser procuradas.

### **6.7 RELAÇÃO ENTRE INFECÇÃO POR *H. pylori* E MALABSORÇÃO DA VITAMINA B<sub>12</sub>.**

Os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela malabsorção da vitamina B<sub>12</sub> ligada ao alimento, causada pela infecção por *H. pylori*, ainda não estão esclarecidos. Dentre os prováveis, tem-se a gastrite crônica atrófica tipo B ou gastrite crônica atrófica multifocal (inicialmente no antro e depois acometimento do corpo), acompanhada da produção reduzida de secreção gástrica de ácido clorídrico e pepsinogênio. Isto produz falha na separação da vitamina B<sub>12</sub> das proteínas do alimento e, conseqüentemente, indisponibilidade dessa vitamina para a ligação com as proteínas R no estômago.

FURUTA *et al.* (2002a) estudaram em 579 pacientes *H. pylori* positivos as correlações entre graus de inflamação e atrofia gástrica, pH gástrico e concentração

de pepsinogênio I e relação PG I/ PG II. Encontraram correlações significativas entre graus de inflamação/ atrofia do corpo e pH do suco gástrico, o que foi observado também com o antro. Porém, a análise de regressão múltipla mostrou que somente os graus de inflamação e atrofia do corpo foram significativamente associados com aumento no pH gástrico e maior hipocloridria ( $p=0,0038$ ,  $p=0,0018$ ). Também, a análise de regressão múltipla observou que somente os graus de inflamação e atrofia do corpo foram significativamente associados com relação PG I/ PG II ( $p=0,007$ ,  $p< 0,0001$ ). Concluíram que inflamação e atrofia do corpo estão associadas com hipocloridria e redução da relação PG I/ PG II.

O mesmo pesquisador e colaboradores estudaram um grupo de 609 pessoas, *H. pylori* positivos, com úlcera gástrica ( $n=246$ ), úlcera duodenal ( $n=232$ ) e gastrite ( $n=131$ ), média de idade de  $48,0 \pm 0,3$  anos, 456 homens e 153 mulheres e outro grupo, com 152 pessoas *H. pylori* negativos, média de idade  $48,8 \pm 0,9$  anos, 111 homens e 41 mulheres, que constituiu o grupo controle. Foram diagnosticados com base nos achados endoscópicos e nos exames histopatológicos. A confirmação de infecção pelo *H. pylori* foi feita com teste rápido da urease, cultura e histologia. Durante a endoscopia foram aspirados 10 ml de suco gástrico, cujo pH foi medido com eletrodo para tal, logo depois da colheita. Os pacientes *H. pylori* positivos receberam tratamento antimicrobiano e a erradicação da infecção pelo *H. pylori* foi avaliada um mes depois do tratamento, com cultura, teste rápido da urese, histologia, PCR e teste respiratório com uréia marcada com  $^{13}\text{C}$ . Se qualquer um dos exames apresentasse resultado positivo era considerado falha do tratamento, e os pacientes submetidos a nova endoscopia e colheita do suco gástrico. Os efeitos da erradicação da bactéria foram avaliados por meio de variáveis ligadas à nutrição

e, houve alterações significativas, tais como: aumento da albumina, proteínas totais e do peso corporal e melhora da função pancreática em alguns pacientes. Neste estudo o pH do suco gástrico reduziu depois da erradicação do *H. pylori*. Os pesquisadores concluíram que, embora não tenham conseguido uma explicação objetiva e apropriada para a redução da habilidade “digestiva ou absorptiva” observada em pacientes *H.pylori* positivos, eles assumiam que a secreção ácida alterada pela infecção por *H. pylori* deveria estar envolvida, porque a média do pH do suco gástrico dos pacientes com hipoproteinemia estava muito maior (4,8) do que o grupo com nível normal de proteínas. Depois da erradicação da infecção pelo *H. pylori* o pH do suco gástrico diminuiu (FURUTA *et al.*, 2002b).

Neste processo, o desenvolvimento da deficiência da vitamina B<sub>12</sub> requer anos e depende principalmente da presença da hipocloridria e, também do fator intrínseco porque esse é necessário para manter o círculo êntero-hepático, responsável por 70% de absorção da vitamina B<sub>12</sub>. A natureza parcial dessa alteração não impede a absorção da vitamina B<sub>12</sub> livre ou a reabsorção diária da vitamina B<sub>12</sub> reciclada pela circulação êntero-hepática (STOPECK, 2000; CARMEL, 1997; CARMEL, 2000; ANNIBALE *et al.*, 2002; RUSSEL, 2000; RUSSEL, 2001). Assim, a gastrite atrófica secundária à infecção pelo *H. pylori* é uma explicação para a malabsorção da vitamina B<sub>12</sub>. Também, a hipo ou acloridria podem promover super-crescimento bacteriano. A vitamina B<sub>12</sub> disponível seria usada pelas bactérias no estômago com hipocloridria e mesmo no intestino delgado (SUTER *et al.*, 1991).

No presente estudo, foi encontrada na maioria dos pacientes grau acentuado de gastrite, e a presença de atrofia gástrica não foi significativa.

Alguns pacientes com gastrite pelo *H. pylori* apresentam malabsorção grave da vitamina B<sub>12</sub> ligada ao alimento, mas tem somente hipocloridria leve com secreção normal de pepsina (COHEN *et al.*, 2000). Autores sugerem que o *H. pylori* por si só ou os efeitos da infecção (inflamação e outros fatores) podem promover a malabsorção da vitamina B<sub>12</sub> da proteína alimentar (SERIN *et al.*, 2002; GUMURDULU *et al.*, 2003). A inflamação da mucosa gástrica pode reduzir a secreção ácida com a combinação de mecanismos, tais como: decréscimo da resposta da gastrina devido a perda de células e glândulas do antro, supressão de somatostatina, citocinas e outros (MCCOLL *et al.*, 1998; COHEN *et al.*, 2000; SERIN *et al.*, 2002; GUMURDULU *et al.*, 2003).

Também, a infecção crônica por *H. pylori* reduz a secreção de ácido ascórbico pela mucosa gástrica e aumenta o pH gástrico. Porém, esses efeitos são mais evidentes sobre o ácido fólico e o ferro (BARABINO, 2002).

Assim, a deficiência de vitamina B<sub>12</sub> observada pode se dever ao grau acentuado de gastrite presente nos pacientes, que altera a fisiologia gástrica, como a secreção ácida, necessária para a biodisponibilidade da vitamina B<sub>12</sub>.

Dentre as causas de deficiência da vitamina B<sub>12</sub> em idosos a infecção pelo *H. pylori* deve ser sempre pesquisada e tratada. Os resultados do presente estudo, também, confirmam que o aumento nas concentrações de homocisteína são decorrentes da infecção pela bactéria.

O tratamento medicamentoso produziu redução nas diversas variáveis estudadas, homocisteína, pepsinogênio I, gastrina e VCM, e também, aumento na concentração

sérica da vitamina B<sub>12</sub> depois de seis meses. A melhora da qualidade de vida pode ser alcançada com o tratamento desses pacientes.

Mudam-se os tempos, mudam-se as vontades,  
muda-se o ser, muda-se a confiança:  
todo mundo é composto de mudança,  
tomando sempre as novas qualidades.

Continuamente vemos novidades,  
...

Soneto 92 - Luís de Camões

## **7. CONCLUSÕES**

## 7.CONCLUSÕES

1. O esquema terapêutico usado para a erradicação do *H. pylori* na população idosa, mostrou-se eficaz e bem tolerado, com taxa de erradicação de 95,2% na avaliação de três meses depois do tratamento. Um esquema alternativo foi usado para o tratamento dos pacientes que não responderam ao tratamento inicial. Depois de seis meses do término do tratamento, o microorganismo foi erradicado em 100% dos pacientes.
2. Pela primeira vez foi demonstrado que a erradicação do *H. pylori* foi acompanhada, simultaneamente, de aumento dos níveis séricos da vitamina B<sub>12</sub> e queda significativa na concentração plasmática da homocisteína, marcador de deficiência da vitamina B<sub>12</sub>, visto que foram afastadas as demais causas de aumento da homocisteína na população estudada. Assim, idosos *H. pylori* positivos com deficiência de vitamina B<sub>12</sub> podem se beneficiar com a erradicação da bactéria pela correção da deficiência dessa vitamina e pela diminuição de risco de doenças associadas à hiperhomocisteinemia.
3. A intensidade e atividade da gastrite do antro, corpo ou de ambas as regiões foi vista ser de grau moderado à acentuado em mais de 50% dos idosos, provavelmente porque há um aumento progressivo da gastrite com a idade.
4. O status CagA positivo foi visto estar associado com inflamação e atividade do corpo gástrico, mas não com inflamação da mucosa antral, que se mostrava com inflamação de grau moderado e acentuado em mais de 90% dos casos, independentemente do status CagA.
5. Outros parâmetros que avaliam gastrite, como níveis sanguíneos de pepsinogênio I e II, correlacionaram-se positivamente com os graus de gastrite, tanto do antro quanto do corpo gástrico, assim como os níveis plasmáticos de homocisteína.

6. Como a maioria dos pacientes não tinha atrofia gástrica, a deficiência de vitamina B<sub>12</sub> observada pode se dever ao grau acentuado de gastrite presente nos pacientes, que altera a fisiologia gástrica, como a secreção ácida, necessária para a biodisponibilidade da vitamina B<sub>12</sub>.

Dois horizontes fecham nossa vida:

Um horizonte, — a saudade

Do que não há de voltar;

Outro horizonte, — a esperança

Dos tempos que hão de chegar;

No presente, — sempre escuro, —

Vive a alma ambiciosa

Na ilusão voluptuosa

Do passado e do futuro.

...

Nunca o presente é passado,

Nunca o futuro é presente.

...

Que cismas, homem? — Perdido,

No mar de recordações,

Escuto um eco sem sentido

Das passadas ilusões.

Que buscas, homem? — Procuro,

Através da imensidade,

Len a doce realidade

Das ilusões do futuro.

Dois horizontes fecham nossa vida.

Os dois horizontes

Machado de Assis

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1 2</sup>

1. Aceti A, Are R, Sabino G, Fenu L, Pasquazzi C, Quaranta G, *et al.* *Helicobacter pylori* active infection in patients with heart disease. *J Infection* 2004;49:8-12.
2. Adcock BB, Mcknight JT. Cobalamin pseudodeficiency due to transcobalamin I deficiency. *South Med J* 2002;95:1060-62.
3. Alderuccio F, Toh BH. Immunopathology of autoimmune gastritis: Lessons from mouse models. *Histol Histopathol* 2000;15:869-79.
4. Aleman G, Tovar AR, Torres N. Homocysteine metabolism and risk of cardiovascular disease: importance of nutritious status in folic acid, vitamins B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub>. *Rev Invest Clin* 2001;53:141-51.
5. Alemohammad MM, Foley TJ, Cohen H. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Helicobacter pylori* in urine by an enzyme immunoassay method. *J Clin Microbiol* 1993;31:2174-77.
6. Alemohammad MM, Foley TJ, Cohen H. Is urine a suitable specimen for the detection of anti-*H. pylori* IgG? *Am J Gastroenterol* 1991;86:a71.
7. Allen RH, Stabler, SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency I: usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990;34:90-8.
8. Amedei A, Bergman MP, Appelmelk BJ, Azzurri A, Benagiano M, Tamburini C, van der Zee R, Telford JL, Vandenbroucke-Grauls CM, D'Elios MM, Del Prete G. Molecular mimicry between *Helicobacter pylori* antigens and H+,

---

<sup>1</sup> De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

<sup>2</sup> As Referências Bibliográficas foram finalizadas e atualizadas até dezembro de 2004.

- K<sup>+</sup>-adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity. *J Exp Med* 2003;198:1147-56.
9. Ammon S, Treiber G, Keest F, Klotz U. Influence of age on the steady state disposition of drugs commonly uses for eradication of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:759-66.
  10. Amos RJ, Dawson DW, Fish DI, Leeminig RJ, Linnel JC. Guidelines on the investigation and diagnosis of cobalamin and folate deficiencies. *Clin Lab Haemat* 1994;16:101-15.
  11. Andreasen JJ, Andersen LP. "In vitro" susceptibility of *C. pyloridis* to cimetidine, sucralfate, bismuth and sixteen antibiotics. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1987;95:147-49.
  12. Andres E, Noureddine HL, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, *et al.* Vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) deficiency in elderly patients. *Can Med J Assoc* 2004;171:251-64.
  13. Andres E, Kaltenbach G, Noel E. Efficacy of short-term oral cobalamin therapy for the treatment of cobalamin deficiencies related to food-cobalamin malabsorption: a study of 30 patients. *Clin Lab Haematol* 2003;25:161-66.
  14. Andres E, Noel E, Kalenback G, Perrin AE, Vinzio S, Goichot B, *et al.* Vitamin B<sub>12</sub> deficiency with normal schilling test or non-dissociation of vitamin B<sub>12</sub> and its carrier proteins in elderly patients. A study of 60 patients (in French). *Rev Méd Interne* 2003;24:218-223.
  15. Annibale B, Capurso G, Delle Fave. Consequences of *Helicobacter pylori* infection on the absorption of micronutrients. *Dig Liver Dis* 2002;34 Suppl 2:572-7.
  16. Annibale B, Lahner E, Bordi C, Martino G, Caruana P, Grossi C, *et al.* Role of *Helicobacter pylori* infection in pernicious anemia. *Dig Liver Dis* 2000;32:756-62.

17. Annibale B, Negrini R, Caruana P, Lahner E, Grossi C, Bordi C, *et al.* Two-thirds atrophic body gastritis patients have evidence of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2001;6:225-33.
18. Antoine C, Lozniewski A, de Korwin JD, Conroy MC, Feldmann L, Duprez A, *et al.* Étude comparative de quatre méthodes sérologiques commercialisées pour le diagnostic de l'infection gastrique à *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin Biol* 1995;19:182-8.
19. Appelmelck BJ, Faller G, Clayes D, Kirchner T, Vandenbroucke-Grauls CMJE. Bugs on trial: the case of *Helicobacter pylori* and autoimmunity. *Immunol Today* 1998;19:96-99.
20. Arnadottir M, Hultberg B, Nilsson EP, Thysell H. The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentrations. *Scand J Clin Lab Invest* 1996;56:41-6.
21. Aronow WS. Homocysteine: The association with atherosclerotic vascular disease in older persons. *Geriatrics* 2003;58:22-8.
22. Asaka M, Kato M, Kudo M, Katagiri M, Nishiwawa K, Koshiyama H, *et al.* Atrophic changes of mucosa gastric are caused by *Helicobacter pylori* infection rather than ageing: studies in asymptomatic Japanese adults. *Helicobacter* 1996;1:52-6.
23. Asaka M, Kudo M, Kato M, Sugiyama T, Takeda H. Review article: long-term *Helicobacter pylori* infection – from gastritis to gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12;(suppl.1):9-15.
24. Asaka M, Sugiyama T, Nobuta A, Kate M, Takeda N, Graham DY. Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in Japan: results of a large multicenter study. *Helicobacter* 2001;6:194-9.
25. Atherton JC. *H. pylori* virulence factors. *Br Med Bull* 1998;54:105-20.
26. Auer J, Berent R, Eber B. Homocysteine and risk of cardiovascular disease. *J Clin Basic Cardiol* 2001;4:261-4.

27. Avcu N, Avcu F, Beyan C, Ural AU, Kaptan K, Ozyurt M, *et al.* The relationship between gastric-oral *Helicobacter pylori* with vitamin B<sub>12</sub> deficient anemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92:166-9.
28. Baik HW, Russel, RM. Vitamina B<sub>12</sub> deficiency and elderly. *Annu Rev Nutr* 1999;19:357-77.
29. Banatvala N, Mayo K, Megraud F, Jennings R, Deeks JJ, Feldman RA. The cohort effect and *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis* 1993;168:219-21.
30. Barabino A. *Helicobacter pylori* – Related iron deficiency anemia: a review. *Helicobacter* 2002;7:71-5.
31. Basso D, Gallo N, Zambon CF, Baron M, Navaglia F, Stockreiter E, *et al.* Antigastric autoantibodies in *Helicobacter pylori* infection: role in gastric mucosal inflammation. *Int J Clin Lab Res* 2000;30:173-78.
32. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V, *et al.* Increased intake of calcium reverses vitamin B<sub>12</sub> malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000;23:1227-31.
33. Bazzano LA, He J, Munster P, Vupputuri S, Wheiton PK. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Inter Med* 2003;138:891-97.
34. Bender DA. Megaloblastic anaemia in vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Br J Nutr* 2003;89:439-41.
35. Berlin H, Berlin R, Brante G. Oral treatment of pernicious anemia with high doses of vitamin B<sub>12</sub> without intrinsic factor. *Acta Med Scand* 1968;184:247-58.
36. Björkegren K, Svärdsudd K. Serum cobalamin, folate, methylamlonic acid and total homocysteine as vitamin B<sub>12</sub> folate tissue deficiency markers

- amongst elderly Swedes- a population-based study. *J Int Med* 2001;249:423-32.
37. Björkegren K. Studies on vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency markers in the elderly. A population-based study. *Acta Universitatis Upsaliensis*. [Comprehensive Summaries of Uppsala dissertation from the Faculty of Medicine 1242] Uppsala; 2003;45p.
38. Blaser MJ, Atherton JC. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004;113:321-33.
39. Blaser MJ, Berg DE. *H pylori* diversity and risk of human disease. *J Clin Invest* 2001;107:767-73.
40. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastric diseases. *Br Med J* 1998;316:1507-10.
41. Blaser MJ. Ecology of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *J Clin Invest* 1997;100:67-70.
42. Blechman MB, Gelb AM. Aging and gastrointestinal physiology. *Clin Geriatr Med* 1999;15:429-38.
43. Bloemenkamp DG, Mali WP, Tanis BC, Rosendaal FR, van den Bosch MAAJ, Kemmeren JM, *et al.* The relation between *Helicobacter pylori* and atherosclerosis cannot be explained by a high homocysteine concentration. *Eur J Clin Invest* 2002;32:549-55.
44. Bodger K, Wyatt JI, Heatley RV. Variation in serum pepsinogens with the severity and topography of *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis in dyspeptic patients referred for endoscopy. *Helicobacter* 2001;6:216-24.
45. Bollan BJ, Solli JD, Schneede J, Grottum KA, Loraas A, Stokkeland M, *et al.* Evaluation of indicators of cobalamin deficiency defined as cobalamin-induced reduction in increased serum methylmalonic acid. *Clin Chem* 2000;46:1744-1750.

46. Borum ML. Peptic-ulcer disease in the elderly. *Clin Geriatr Med* 1999;15:457-71.
47. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.
48. Boyce Jr WH. The sniff test for demonstration the lowe esophageal ring and hiatus hernia. In: abstract of the congresso Internacional de Endoscopia gastrointestinal, 1997; Resumenes, Ciudad del Mexico. Mexico: 1997.
49. Brada N, Gordon MM, Wen, J, Alpers, DH. Transfer of cobalamin from intrinsic factor to transcobalamin II. *J Nutr Biochem* 2001;12:200-06.
50. Briddon A. Homocysteine in the context of cobalamin metabolism and deficiency states. *Amino Acids* 2003;24:1-12.
51. Buckley MJ, O'Morain CA. *Helicobacter* biology - discovery. *Br Med Bull* 1998;54:7-16.
52. Camarano AA. Envelhecimento da população brasileira: uma contribuição demográfica. In: Freitas EV, *et al.* Tratado de Geriatria e Gerontologia. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p. 58-71.
53. Cançado FAX. Epidemiologia do envelhecimento. In: Noções práticas de geriatria. Belo Horizonte, Coopmed Ed./Healt CR Ltda, 1994, p17-43.
54. Carethers M. Diagnosing vitamin B<sub>12</sub> deficiency, a common geriatric disorder. *Geriatrics* 1988;43:89-112.
55. Carlsen SM, Folling I, Grill V, bjerve KS, Schneede J, Refsum H. Metformin increases total serum homocysteine levels in non-diabetic male patients with coronary disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1997;57:521-27; 1997.
56. Carmel R, Brar SB, Frouhar Z. Plasma total transcobalamin I: ethnic/racial patterns and comparison with lactoferrin. *Am J Clin Pathol* 2001;116:2001.

57. Carmel R, Green R, Brittenham GM. Red cells nutrients: genes, metabolism and disease. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 1997;195-207.
58. Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2003:62-81.
59. Carmel R, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter* infection and food-cobalamin malabsorption. *Dig Dis Sci* 1994;39:309-14.
60. Carmel R, Rasmussen K, Jacobsen DW, Green R. Comparison of the deoxyuridine suppression test with serum levels of methylmalonic acid and homocysteine in mild cobalamin deficiency. *Br J Haematol* 1996;93:311-18.
61. Carmel R. Cobalamin, the stomach and aging. *Am J Clin Nutr* 1997;66:750-59.
62. Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu Rev Med* 2000;51:357-75.
63. Carmel R. Ethnic and racial factors in cobalamin metabolism and its disorders. *Sem Hematol* 1999; 36:88-100.
64. Carmel R. Malabsorption of food cobalamin. *Baillière's Clinical Haemat* 1995;8:639-55.
65. Carmel R. Mild transcobalamin I (haptocorrin) deficiency and low serum cobalamin concentrations. *Clin Chem* 2003;49:1367-74.
66. Carmel R. Pernicious anemia: the expected findings of very low serum cobalamin levels, anemia and macrocytosis are often lacking. *Arch Intern Med* 1988;148:1712-14.
67. Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med* 1996;156:1097-100.
68. Carmel R. Subtle and atypical cobalamin deficiency states. *Am J Hematol* 1990;34:108-14.

69. Cave DR. How is *Helicobacter pylori* transmitted? *Gastroenterology* 1997;113(6 Suppl):S9-14.
70. Caviglia R, Ribolsi M, Maggiano N. Dilated intercellular spaces in non erosive reflux disease patients with physiological esophageal acid exposure. *Gastroenterology* 2004;126 (4 Suppl 2): a-82
71. Cenerelli S, Bonazzi O, Galeazzi R, Testa I, Bonfigli AR, Sirolla C, *et al.* *Helicobacter pylori* differences in homocysteine plasma levels between controls and type 2 diabetic patients. *Eur J Clin Invest* 2002;32:158-62.
72. Champe PC, Harvey RA. *Bioquímica ilustrada 2ª. ed.* Porto Alegre: Artmed 2000.
73. Chan FKL, Leung WK. Peptic-ulcer disease. *Lancet* 2002;360:933-41.
74. Chanarin I. A history of pernicious anaemia. *Br J Haematol* 2000;111:407-15.
75. Chattopadhyay I. Measuring renal function in old age. *Rev Clin Gerontol* 2003;13:297-302.
76. Clarke R, Lewington S, Landray M. Homocysteine, renal function and risk of cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl* 2003a;84:S131-3.
77. Clarke R, Refsum H, Birks J, Evans JG, Johnston C, Sherliker P, *et al.* Screening for vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency in older persons. *Am J Clin Nutr* 2003b;77:1241-7.
78. Clarke R, Evans JG, Schneede J, Nexo E, Bates C, Fletcher A, *et al.* Vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency in later life. *Age Ageing* 2004;33:34-41.
79. Clemens J, Albert MJ, Rao M, Huda S, Qadri F, Van Loon FP, Pradhan B, Naficy A, Banik A, *et al.* Sociodemographic, hygienic and nutritional correlates of *Helicobacter pylori* infection of young Bangladeshi children. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:1113-18.
80. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976;16:31-41

81. Coelho LGV, León-Barúa R, Quigley EMM. Latin American Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. Am J Gastroenterol 2000;95:2688-91.
82. Coelho LGV, Mattos AA, Francisconi FM, Castro LP, André SB. Eficácia do regime terapêutico empregando a associação de pantoparazol, claritromicina e amoxicilina, durante uma semana, na erradicação do *Helicobacter pylori* em pacientes com úlcera péptica. Arq Gastroenterol 2004;41:71-6.
83. Cohen H, Weinstein WM, Carmel R. Heterogeneity of gastric histology and function in food malabsorption: absence of atrophic gastritis and achlorhydria in some patients with severe malabsorption. Gut 2000;47:638-45.
84. Correa P, Miller MJS. Carcinogenesis, apoptosis and cell proliferation. Br Med Bull 1998;54:151-62.
85. Cover TL, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer. ASM News 1995;61:21-6.
86. Coyle JM, Bhowmick BK, Meara RJ. Measuring renal function in old age. Rev Clin Gerontol 1999;9:215-19.
87. Cutler AF, Suzanne H, Ma CK, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Shubert TT. Accuracy of invasive and noninvasive tests to diagnose *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterology 1995;109:136-41.
88. Czaplak K. Management of chronic renal insufficiency in frail older patients who are unfit for renal replacement therapy. Rev Clin Gerontol 2003;13:25-37.
89. D'Elia MM, Appelmeck BJ, Amedei A, Bergman MP, Del Prete G. Gastric autoimmunity: the role of *Helicobacter pylori* and molecular mimicry. Trends Mol Med 2004a;10:316-23.

90. D'Elcios MM, Bergman MP, Amedei A, Appelmeck BJ, Del Prete G. *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity. *Mic Inf* 2004b; In Press, Uncorrected Proof, Available online 5 November 2004.
91. Dahele A, Ghosh S. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in untreated celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2001;96:743-50.
92. Dani R, Queiroz DMM, Dias MGM, Franco JMM, Magalhães LCR, Mendes GS, *et al.* Omeprazole, claritromycin and furazolidone for the eradication of *Helicobacter pylori* in patients with duodenal ulcer. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:1647-52.
93. De Block CEM, Leeuw IH, Bogers JJPM, Pelckman PA, Ievens MM, Van Marck EAE, *et al.* *Helicobacter pylori*, parietal cells antibodies and autoimmune gastropathy in type 1 diabetes mellitus. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:281-89.
94. De Bree A, Verschuren WM, Kromhout D, Kluijtmans LA, Blom HJ. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev* 2002;54:599-618.
95. De Luis DA, Fernandez N, Arranz ML, Aller R, Izaola O, Romero E. Total homocysteine levels relation with chronic complications of diabetes, body composition, and other cardiovascular factors in a population of patients with diabetes mellitus type 2. *J Diab Compl* 2004;18:1-5.
96. Dharmarajan TS, Adiga GU, Norkus EP. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency: recognizing subtle symptoms in older adults. *Geriatrics* 2003; 58:30-8.
97. Dharmarajan TS, Norkus EP. Approaches to vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Postgrad Med* 2001;110:99-105.
98. Dhonukshe-Rutten RAM, Lips M, Jong N, Paw MJMC, Hiddink GJ, Dusseldorp M, *et al.* Vitamin B<sub>12</sub>-status is associated with bone mineral

- content and bone mineral density in frail elderly women but not in men. *J Nutr* 2003;133:801-07.
99. Diekman MJ, van der Put NM, Tijssen JG, Wiersinga WM. Determinants of change in plasma homocysteine in hyperthyroidism and hypothyroidism. *Clin Endocrinol* 2001;54:194-204.
100. Dierkes J, Ebert M, Malfertheiner P, Luley C. *Helicobacter pylori* infection, vitamin B<sub>12</sub> and homocysteine. *Dig Dis* 2003;21:237-44.
101. Diniz MFHS. Contribuição ao estudo da sensibilidade esofágica na Doença do Refluxo Gastroesofágico: sua avaliação por meio das biópsias endoscópicas e pelas perfusões perendoscópicas de ácido clorídrico decinormal [tese]. Belo-Horizonte: Faculdade de Medicina da UFMG;1999.
102. Diomedi M, Pietrouisti A, Silvestrini M, Rizzato B, Cupini LM, Ferrante F, *et al.* Cag-A positive *Helicobacter pylori* strains may influence the natural history of atherosclerotic stroke. *Neurology* 2004;63:800-4.
103. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis: the Updated Sydney System. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1161-81.
104. Dobbs SM, Dobbs RJ, Weller C, Charlett A. Link between *Helicobacter pylori* infection and idiopathic parkinsonism. *Med Hypotheses* 2000;55:93-8.
105. Dorcherholmen A, Swain WR. Impaired assimilation of egg Co<sup>57</sup> vitamin B<sub>12</sub> in patients with hypochlorhydria and after gastric resection. *Gastroenterology* 1973;64:913-19.
106. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest* 2001;81:645-72.
107. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:720-41.

108. Ecclissato C, Marchioretto MAM, Mendonça S, Godoy APO, Guersoni RA, Deguer M, *et al.* Increased primary resistance to recommended antibiotics negatively affects *Helicobacter pylori* eradication. *Helicobacter* 2002; 7:53-9.
109. Eggers RH, *et al.* A methodological analysis of the <sup>13</sup>C-urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* infection: High sensitivity and specificity within 30 min using 75mg of <sup>13</sup>C-urea. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1990;2:437-44.
110. Elia M. Oral or parenteral therapy for B<sub>12</sub> deficiency. *Lancet* 1998;352:1721-22.
111. Elin RJ, Winter RJ. Methylmalonic acid: a test whose time has come. *Arch Pathol Lab Med* 2001;125:824-27.
112. Ellinson M, Thomas J, Patterson A. A critical evaluation of the relationship between serum vitamin B<sub>12</sub>, folate and total homocysteine with cognitive impairment in the elderly. *J Hum Nutr Dietet* 2004;17:371-83.
113. Enroth HE, Engstrand L. Immunomagnetic separation and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in water and stool specimens. *J Clin Microbiol* 1995;33:2162-65.
114. Ermens AAM, Vlasveld LT, Lindemans J. Significance of elevated cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) levels in blood. *Clin Biochemistry* 2003;36:585-90.
115. Eurogast Study Group. Epidemiology of, and risk factors for, *Helicobacter pylori* infection among 3194 asymptomatic subjects in 17 populations. *Gut* 1993;34:1672-76.
116. Everhart JE. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 2000;29:559-78.
117. Faller G, Steininger H, Eck M, Hensen J, Hahn EG, Kirchner T. Antigastric autoantibodies in *Helicobacter pylori* gastritis: prevalence, in situ binding sites and clues for clinical relevance. *Virchow Arch* 1996;427:483-86.

- 118.Faller G, Winter M, Steininger H, Konturek P, Konturec SJ, Kirchner T. Antigastric autoantibodies and gastric secretory function in *Helicobacter pylori*-infected patients with duodenal ulcer and non-ulcer dyspepsia. *Scan J Gastroenterol* 1998; 33:276-82.
- 119.Faller G, Ruff S, Reiche N, Hochberger J, Hahn EG, Kirchner T. Mucosal production of antigastric autoantibodies in *Helicobacter pylori* gastritis. *Helicobacter* 2000;5:129-34.
- 120.Fata FT, Herzlich BC, Schiffman G, Ast AL. Impaired antibody response to pneumococcal polysaccharide in elderly patients with low serum vitamin B<sub>12</sub> levels. *Ann Intern Med* 1996;124:299-304.
- 121.Fauchère JL. Evaluation of the anti- *Helicobacter pylori* serum antibody response. In:Lee A, Mégraud F. *Helicobacter pylori: Techniques for Clinical Diagnosis and Basic Research*. London: WB Saunders Company LTD, 1996:50-73.
- 122.Feldman RA, Eccersley AJP, Hardie JM. Epidemiology of *Helicobacter pylori*: acquisition, transmission, population prevalence and disease-to-infection ratio. *Br Med Bull* 1998;54:39-53.
- 123.Festen HP. Intrinsic factor secretion and cobalamin absorption. Physiology and pathophysiology in the gastrointestinal tract. *Scand J Gastroenterol* 1991;Suppl.1888:1-7.
- 124.Fine E, Soria E. Myths about vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *South J Med* 1991;84:1475-81.
- 125.Finkelstein JD. Homocysteine: a history in progress. *Nutr Rev* 2000;58:193-204
- 126.Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Bioch* 1990;1:228-37.
- 127.Finkelstein JD, Martin JJ. Homocysteine. *Intern J Bioch Cell Biol* 2000;32:385-89.

- 128.Fong TL, Dooley CP, Dehesa M, Cohen H, Carmel R, Fitzgibbons PL, *et al.* *Helicobacter pylori* infection in pernicious anemia: a prospective controlled study. *Gastroenterology* 1991;100:328-32.
- 129.Fonseca V, Guba SC, Fink, LM. Hyperhomocysteinemia and the endocrine system:Implications for atherosclerosis and thrombosis. *Endocrine Rev* 1999;20:738-60.
- 130.Forman D, Newel DG, Fullerton F, Yamell JWG, Stacey AR, Wald N, *et al.* Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer:evidence from a prospective investigation. *Br Med J* 1991;302:1302-5.
- 131.Frenck RW, Clemens J. *Helicobacter* in the developing world. *Microbes Inf* 2003;5:705-13.
- 132.Friedman NA, Bostom AG, Selhub J, Levey AS, Rosenberg IH. The kidney and homocysteine metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2181-89.
- 133.Fukuda S, Shimoyama T, Umegaki N, Mikami T, Nakano H, Munakata A. Effect of *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of japanese patients with chronic idiopathic urticaria. *J Gastroenterol* 2004;39:827-30.
- 134.Furuta T, El-Omar E, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H. Interleukin 1 $\beta$  polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology* 2002a;123:92-105.
- 135.Furuta T, Shirai N, Xiao F, Takashima M, Hanai H. Effect of *Helicobacter pylori* infection and its eradication on nutrition. *Aliment Pharmacol Ther* 2002b; 16:799-806.
- 136.Gasbarrini A, Carloni E, Gasbarrini G, Ménard A. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases-other Helicobacters. *Helicobacter* 2003;8:68-76.
- 137.Gasbarrini A, Carloni E, gasbarrini G, Chisholm SA. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases-other helicobacters. *Helicobacter* 2004;9(Suppl.1):57-66.

138. Glupczynski Y. The diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a microbiologist's perspective. *Rev Med Microbiol* 1994;5:199-208.
139. Glusker JP. Vitamin B<sub>12</sub> and the B<sub>12</sub> coenzymes. *Vitamin Hormones* 1995;50:2-76.
140. Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16(Suppl.1):3-15.
141. Goodman KJ, Correa P, Aux HJT, Ramirez H, DeLany JP, Pepinosa OG, *et al.* *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol* 1996;144:290-9.
142. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins CM, Sly LI, *et al.* Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov. , respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989;39:397-405.
143. Goodwin CS, McCulloch RK, Aarmstrong JA, Wee SH, Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*campilobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *J Med Microbiol* 1985;19:257-67.
144. Goodwin CS, Mendall MM, Northford TC. *H.pylori* infection. *Lancet* 1997; 349: 265-69.
145. Goor L, Woiski MD, Lagaay AM. Review: Cobalamin deficiency and mental impairment in elderly people. *Age Ageing* 1995;24:536-42.
146. Goossens H, Glupczynski Y, Burette A, Van den Borre C, Butzler JP. Evaluation of a commercially available second-generation immunoglobulin G enzyme immunoassay for detection of *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Microbiol* 1992;30:176-80.
147. Graham DY, Klein PH, Evans DG, Opekun AR, Boutton TW. *Campylobacter pylori* detected non invasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test. *Lancet* 1987;i:1174-77.

148. Graham DY, Malaty HM, Evasns DG, Evans Jr DJ, Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in the asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 1991;100:1495-501.
149. Green R, Kinsella LJ. Current concepts in the diagnosis of cobalamin deficiency. *Neurology* 1995;45:1495-40.
150. Green R, Miller JW. Folate deficiency beyond megaloblastic anemia: Hyperhomocysteinemia and other manifestations of dysfunctional folate status. *Sem Hematol* 1999;36:47-64.
151. Green R. Metabolite assays in cobalamin and folate deficiency. *Baillière's Clin Haematol* 1995;8:533-66.
152. Griend R, Biesna DH, Banga JD. Hyperhomocysteinemia as a cardiovascular risk factor: an update. *Netherl J Med* 2000;56:119-30.
153. Gritti I, Banfi G, Roi GS. Pepsinogens: physiology, pharmacology pathophysiology and exercise. *Pharmacol Res* 2000;41:265-79.
154. Gumurdulu Y, Serin E, Ozer B, Kayaselçuk F, Kul K, Pata C, *et al.* Predictors of vitamin B<sub>12</sub>-deficiency: age and *Helicobacter pylori* load of antral mucosa. *Turk J Gastroenterol* 2003;14:44-9.
155. Haller J. The vitamin status and its adequacy in the elderly: international overview. *Int J Vitam Nutr Res* 1999;69:160-8.
156. Haltmayer M, Mueller T, Poelz W. Erythrocyte mean cellular volume and its relation to serum homocysteine, vitamin B<sub>12</sub> and folate. *Acta Med. Austriaca* 2002;29:57-60.
157. Hamilton SR. Esophagitis. In: Goldman H, Appelman HD, Kaufman N. *Gastrointestinal Patology*. Williams & Wilkins, 1992. p 383-438.

158. Hammar M, Tyszkiewicz T, Wadstrom T, O'Toole PW. Rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy material by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1992;30:54-58.
159. Hanger HC, Sainsbury R, Gilchrist NL, Beard ME, Duncan JM. A community study of vitamin B<sub>12</sub> and folate levels in the elderly. *J Am Geriatr Soc* 1991;39:1155-59.
160. Haruma K, Kamada T, Kawaguchi H, Okamoto S, Yoshihara M, Sumii K, *et al*. Effect of age and *Helicobacter pylori* infection on gastric secretion. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:277-83.
161. Haruma K, Komoto K, Kawaguchi H, Okamoto S, Yoshihara M, Sumii K, *et al*. Pernicious anaemia and *Helicobacter pylori* infection in Japan: Evaluation in a country with a high prevalence of infection. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1107-10.
162. Hattori K, Winans CS, Archer F, Kirsner JB. Endoscopic diagnosis of esophageal inflammation. *Gastrointestinal Endoscopy* 1974;20:102-04
163. Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of epithelium. *J Infect Dis* 1986;153:658-63.
164. Heaton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Lindenbaum J. Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *Medicine* 1991;70:229-45.
165. Hibert CA, Belsey R. Incompetency of the gastric cardia without radiologic evidence of hiatal hernia. The diagnosis and management of 71 cases. *J Thor Cardiovasc Surg* 1961;42:352-62.
166. Heimvaara O, Palva IP. Malabsorption of vitamin B<sub>12</sub> during treatment with para-aminosalicylic acid. *Acta Med Scand* 1964;175:469.
167. Herbert V. Staging vitamin B<sub>12</sub> status in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1987;59 (suppl):1213S-22S.

168. Herbert V. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency. 2. ed. London: Royal Society of Medicine Press; 2002.
169. Herbert V. Vitamin B<sub>12</sub>. In: Ziegler E, Filer LJ. Present Knowledge in Nutrition. Washington, DC: International Life Sciences Institute Press; 1996. p. 191-205.
170. Herrmann W, Obeid R, Jouma M. Hyperhomocysteinemia and vitamin B<sub>12</sub> deficiency are more striking in Syrians than in Germans-causes and implications. *Atherosclerosis* 2003;166:143-50.
171. Herrmann W, Quast S, Ulrich H, Schultze H, Bodis M, Geisel J. Hyperhomocysteinemia in high-aged subjects: relation of B-vitamins, folic acid renal function and the methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Atherosclerosis* 1999;144:91-101.
172. Herrmann W, Geisel J. Vegetarian lifestyle and monitoring of vitamin B<sub>12</sub> status. *Clin Chim Acta* 2002;326:47-59.
173. Herrmann W, Schorr H, Bodis M, Knapp JP, Müller A, Stein G, Geisel J. Role of homocysteine, cystathionine and methylmalonic acid measurement for diagnosis of vitamin deficiency in high-aged subjects. *European Journal of clinical investigation* 2000; 30:1083-89.
174. Ho C, Kauwell GPA, Bailey LB. Practitioners' Guide to meeting the vitamin B<sub>12</sub> recommended dietary allowance for people aged 51 years and older. *J Am Diet Assoc* 1999;99:725-27.
175. Hocker M, Hohenberger P. *Helicobacter pylori* virulence factors-one part of a big picture. *Lancet* 2003;362:1231-33.
176. Hoffbrand AV, Herbert V. Nutritional anemias. *Sem Hematol* 1999;4:13-23.
177. Hoffbrand AV, Weir DG. Historical review: the history of folic acid. *Br J Haematol* 2001;113:579-89.

- 178.Holleland G, Schneede J, Ueland PM, Lund PK, Refsum H, Sandeberg S. Cobalamin deficiency in general practice. Assessment of the diagnostic utility and cost-benefit analysis of methylmalonic acid determination in relation to current diagnostic strategies. *Clin Chem* 1999;45:189-98.
- 179.Hoshino FB, Katayama K, Watanabe K, Takahashi S, Uchimura H, Ando T. Heterogeneity found in the *cagA* gene of *Helicobacter pylori* from japanese and non-japanese isolates. *J Gastroenterol* 2000;35:890-97
- 180.Hulten K, Han SW, Enroth H, Klein PD, Opekun AR, Gilman RH, *et al.* *Helicobacter pylori* in the drinking water in Peru. *Gastroenterology* 1996;110:1031-35.
- 181.Ingenbleek Y, Hardillier E, Jung L. Subclinical protein malnutrition is a determinant of hyperhomocysteinemia. *Nutrition* 2002;18:40-6.
- 182.Ito Y, Azuma T, Ito S, Miyaji H, Hirai M, Yamazaki Y, *et al.* Analysis and typing of the *vacA* gene from *cagA*-positive strains of *Helicobacter pylori* isolated in Japan. *J Clin Microbiol* 1997;35:1710-4.
- 183.Jacobson ED. An experimental malabsorption syndrome induced by neomycin. *Am J Med* 1960;28:524.
- 184.Jacques PF, Rosenberg IH, Rogers G, Selhub J, Bowman BA, Gunter EW, *et al.* Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adults americans:results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr* 1999;69:482-9.
- 185.Jakubowski H, Zhang I, Bardeguet A, Aviv A. Homocysteine thiolactone and protein homocysteinylation in human endothelial cells. Implications for atherosclerosis. *Circ Res* 2000;87:45-51.
- 186.Jakubowski H. Molecular basis of homocysteine toxicity in human. *Cell Mol Life Sci* 2004;61:470-87.
- 187.James, SP. Immunologic, gastroenterologic and hepatobiliary disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:S645-48.

188. Jensen E, Dehlin O, Erfurth EM, Hagberg B, Samuelsson G, Svensson T, *et al.* Plasma homocysteine in 80-year-olds. Relationships to medical, psychological and social variables. *Arch Gerontol Geriatr* 1998;26:215-26.
189. Johnson MA, Hawthorne NA, Brackett WR, Fischer JG, Gunter EW, Allen RH, *et al.* Hyperhomocysteinemia and vitamin B<sub>12</sub> deficiency in elderly using Title IIIc nutrition services. *Am J Clin Nutr* 2003;77:211-20.
190. Jones DM, Lessels AM, Eldridge J. *Campylobacter*-like organisms on the gastric mucosa: culture, histological and serological studies. *J Clin Pathol* 1984;37:1002-6.
191. Jones JIW, Hawkey CJ. Physiology and organs-related pathology of the elderly: stomach ulcers. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001;15:943-61.
192. Kado DM, Bucur A, Selhub J, Rowe JW, Seeman T. Homocysteine levels and decline in physical function: MacArthur Studies of Successful Aging. *Am J Med* 2002;113:537-42.
193. Kageyama T. Pepsinogens, progastricsins, and prochymosins: structure, function, evolution, and development. *Cell Mol Life Sci* 2002;59:288-302
194. Kapadia C. Gastric atrophy, metaplasia and dysplasia: a clinical perspective. *J Clin Gastroenterol* 2003;36(5 Suppl):S29-36.
195. Kapadia CR. Vitamin B<sub>12</sub> in health and disease: part I- Inherited disorders of function, absorption and transport. *Gastroenterologist* 1995;3:329-44.
196. Kaptan K, Beyan C, Ural AU, Cettin T, Avcu F, Gulsen M, *et al.* *Helicobacter pylori* -is it a novel causative agent in vitamin B<sub>12</sub> deficiency? *Arch Intern Med* 2000;160:1349-53.
197. Karabiber H, Sonmezgoz E, Ozerol E, Yakinci C, Otlu B, Yoluglu S. Effects of valproate and carmazepine on serum levels of homocysteine, vitamin B<sub>12</sub> and folic acid. *Brain Development* 2003;25:113-15.

- 198.Karlsson FA, Burman P, Loof L, Mardh S. Major parietal cell antigen in autoimmune gastritis with pernicious anemia in the acid-producing H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - adenosine triphosphatase of the stomach. J Clin Invest 1988;81:475-9
- 199.Kato M, *et al.* Clinical usefulness of urine-based ELISA for detection of antibody to *Helicobacter pylori*: a collaborative study in nine medical institute in Japan. Helicobacter 2000;5:109-19.
- 200.Kemppainen H, Raiha I, Sourander L. Clinical presentation of peptic ulcer in the elderly. Gerontology 1997;43:283-88.
- 201.Kidd M, Modlin IM. A century of *Helicobacter pylori* . Digestion 1998;59:1-15.
- 202.Kittang E, Schjonsby H. Effect of gastric anacidity on release of cobalamin from food and their subsequent binding to R-protein. Scand J Gastroenterol 1987;22:1031-37.
- 203.Kiyohira K, Yoshihara M, Ito M, Haruma K, Tanaka S, Chayama K. Serum pepsinogen concentration as a marker of *Helicobacter pylori* infection and the histologic grade of gastritis;evaluation of gastric mucosa by serum pepsinogen levels. J Gastroenterol 2003;38:322-38.
- 204.Klee GG. Cobalamin and folate evaluation:measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B<sub>12</sub> and folate. Clinical Chemistry 2000;46:1277-83.
- 205.Klein PD, Graham DY, Gaillour A, Opekun AR, Smith O'Brian. Water source as risk factor for *Helicobacter pylori* infection in Peruvian children. Lancet 1991;337:1503-6.
- 206.Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for the detection of *Helicobacter pylori* infection by the <sup>13</sup>C-urea breath test. Am J Gastroenterol 1993;88:1865-69.

207. Kodaira MS, Escobar AMU, Grisi S. Epidemiological aspects of *Helicobacter pylori* infection in childhood and adolescence. *Revista de Saúde Pública* 2002;36:1-29.
208. Kokkola A, Siponen P, Rautelin H, Harkonen M, Kosunen TU, Haapianen R, *et al.* The effect of *Helicobacter pylori* eradication on the natural course of atrophic gastritis with dysplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:505-20.
209. Koning ABL, Werstuck GH, Zhou J, Austin RC. Hyperhomocysteinemia and its role in the development of atherosclerosis. *Clin Biochem* 2003;36:431-41.
210. Kosunen TU, Aromaa A, Knekt P, Salomaa A, Rautelin H, Lohi P, Heinonen OP. *Helicobacter pylori* antibodies in 1973 and 1994 in the adult population of Vammala, Finland. *Epidemiol Infect* 1997;119:29-34.
211. Krasinski SD, Russel RM, Samloff IM, Jacob RA, Dallal GE, McGandy RB, *et al.* Fundic atrophic gastritis in an elderly population. *J Am Geriatr Soc* 1986;34:800-06.
212. Kuipers EJ. Review article: relationship between *Helicobacter pylori*, atrophic gastritis and gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12(Suppl. 1):25-36.
213. Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Vanden-broucke-Grauls CM, Appelmelk BJ, Schenk BE, Meuwissen SG. Role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of atrophic gastritis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1997;223:28-34.
214. Kuipers EJ, Pérez-Pérez GI, Meuwissen SGM, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis; importance of the CagA status. *J Natl Cancer Inst* 1995 b;87:1777-80.
215. Kuipers EJ, Thijs JC, Festen HPM. The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9(Suppl 2):59-70.
216. Kuipers EJ, Uytterlinde AM, Peña AS, Roosendaal R, Pals G, Neils HP, *et al.* Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. *Lancet* 1995;345:1512-28.

217. Kunkel RW, George EB. Colchicine neuropathy or vitamin B<sub>12</sub> deficiency neuropathy? *N Engl J Med* 1987;317:1290-1.
218. Kuzmiński A, Giacco, EJ, Allen, RH. Effective treatment of cobalamin deficiency with or without cobalamin *Blood* 1998;92:1191-98.
219. Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A, Butzler JP, Bollen A, *et al.* Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: comparison with other invasive techniques and detection of *CagA* gene in gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 1995;33:2752-56.
220. Lambert D, Benhayoun S, Adjalla C, Gelot MA, Renkes P, Felden F, *et al.* Chron's disease and vitamin B<sub>12</sub> metabolism. *Dig Dis Sci* 1996;41:1417-22.
221. Langman LJ, Cole DEC. Homocysteine: cholesterol of the 90s? *Clin Chimica Acta* 1999;286:63-80.
222. Langenbleek Y, Hardillier E, Jung L. Subclinical protein malnutrition is a determinant of hyperhomocysteinemia. *Nutrition* 2002;18:40-6.
223. Larkin M. Kilmer McCully: pioneer of the homocysteine theory. *Lancet* 1998;352:1364.
224. Lauwers G. Defining the pathologic diagnosis of metaplasia, atrophy, dysplasia and gastric adenocarcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2003;36;Suppl;S37-S43.
225. Lee A, Fox JG, Hazell SL. Pathogenicity of *Helicobacter pylori*: a perspective. *Infect Immun* 1993;61:1601-10.
226. Lee A, Fox JG, Otto G, Hedegues Dick E, Krakowa S. Transmission of *Helicobacter sp.* A challenge to the dogma of faecal-oral spread. *Epidemiol Infect* 1991;107:99-109.
227. Lee GR. Megaloblastic and nonmegaloblastic macrocytic anemias. In: Wintrobe MM. *Clinical Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger;1995.p.745-70.

228. Lehn N, Mégraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. Curr Opin Gastroenterol 1996;12(suppl 1):6-10.
229. Leung WK, Ma PK, Choi PCL, Ching JYL, Ng ACW, Poon P, Woo KS, Sung JY. Correlation between *Helicobacter pylori* infection, gastric inflammation and serum homocysteine concentration. Helicobacter 2001;6:146-50.
230. Lewis SJ, Potts LF, Malhotra R, Mountford R. Small bowel bacterial overgrowth in subjects living in residential care homes. Age and Ageing 1999;28:181-85.
231. Lindenbaum J, Healton EB, Savage DG, Brust CM, Garrel TJ, Podell, *et al*. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. N Engl J Med 1988;318:1720-8.
232. Lindenbaum J, Savage DJ, Stabler SP, Allen, RH. Diagnosis of cobalamin deficiency:II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. Am J Hematol 1990;34:99-107.
233. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PWF, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. Am J Clin Nutr 1994;60:2-11.
234. Lindengren A, Bagge E, Cederblad A, Nilsson O, Persson H, Kilander AF. Schilling and pretein-bound cobalamin absorption tests are poor instruments for diagnosing cobalamin malabsorption. J Intern Med 1997;241:477-84.
235. Lindengren A, Burman P, Kilander AF Serum antibodies to H, K, ATP-ase, serum pepsinogen A and *Helicobacter pylori* in relation to gastric mucosa morphology in patients with low or low-normal concentrations of serum cobalamins. Eur J Gastroenterol Hepatol 1998a;10:583-8.
236. Lindengren A, Lindstedt G, Kilander AF. Advantages of serum pepsinogen A combined with gastrin or pepsinogen C as first-line analytes in the evaluation of suspected cobalamin deficiency: a study in patients previously not subjected to gastrointestinal surgery. J Intern Med 1998b;244:341-49.

237. Lindemans J, Kroes ACM, van Geel J, Van Kapel J, Schoester M, Abels J. Uptake of transcobalamin II-bound cobalamin by HL-60 cells: effects of differentiation induction. *J Exp Cell Res* 1989; 184:449-60.
238. Lingenfelser T, Ell C. Gastrointestinal bleeding in the elderly. *Best Prac Res Gastroenterol* 2001;15:963-82.
239. Lingwood CA, Huesca M, Kuksis A. The glycerolipid receptor for *Helicobacter pylori* (and exoenzyme S) is phosphatidylethanolamine. *Infect Immun* 1992;60:2470-4
240. Loew D, Wanitschke R, Schoroedter A. Studies on vitamin B<sub>12</sub> status in the elderly-prophylactic and therapeutic consequences. *Int J Nutr Res* 1999;69:228-33.
241. Logan RPH, Walker MM. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* 2001;323:920-22.
242. Lökk J, Nilsson M, Norberg B, Hultdin J, Sandström H, Westman G. Shifts in B<sub>12</sub> opinions in primary health care of Sweden. *Scand J Public Health* 2001;29:122-28.
243. Lorente S, Doiz O, Serrano T, Castillo J, Lanas A. *Helicobacter pylori* stimulates pepsin secretion from isolated human peptic cells. *Gut* 2002;50:13-8.
244. Lucock M. Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ* 2004;328:211-14.
245. Luzzi F, Maletta M, Imeneo M, Marcheggiano A, Iannoni C, Biancone L, *et al.* Salivary-specific immunoglobulin G in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1820-3.
246. Ma JY, Borch K, Sjostrand SE, Janzon L, Mardh S. Positive correlation between H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-adenosine triphosphatase autoantibodies and *Helicobacter pylori* antibodies in patients with pernicious anaemia. *Scand J Gastroenterol* 1994;29:961-65.

247. Magalhães AF, Macedo C, Hauck JR, Carvalhaes A, De Nucci G, Magna LA, *et al.* Acid suppression with ranitidine plus oral triple therapy improves ulcer healing but *Helicobacter pylori* eradication. *Hepatogastroenterology* 1998;45:2161-4.
248. Magalhães PP, Queiroz DMM, Barbosa DVC, Rocha GA, Mendes EN, *et al.* *Helicobacter pylori* primary resistance to metronidazol and clarithromycin in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:2021-23.
249. Mahmoud MY, Logan M, Anderson CC. Unexplained macrocytosis in elderly patients. *Age Ageing* 1996;25:310-2.
250. Makristathis A, *et al.* Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1998;36:2772-74.
251. Malaty HM, Nyren O. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2003;8(1 Supp):8-12.
252. Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungins APS, Jones R, Axon A, *et al.* Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection- The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:167-80.
253. Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain, C Hungins APS, Jones R, Axon A, *et al.* Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht consensus report. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997;9:1-2.
254. Malaguarnera M, Bella R, Alagona G, Ferri R, Carnemolla A, Pennisi G. *Helicobacter pylori* and Alzheimer's disease: a possible link. *Eur J Intern Med* 2004;15:381-6.
255. Mapstone NP, Lynch DA, Lewis FA, Axon ATR, Tompkins DS, Dixon MF, *et al.* Identification of *Helicobacter pylori* DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. *J Clin Pathol* 1993;46:540-43.

256. Marais A, Mendz GL, Hazell SL, Mégraud F. Metabolism and genetics of *Helicobacter pylori*: the Genome Era. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999;63:642-74.
257. Marcell PD, Stabler SP, Allen RH. Quantitation of methylmalonic acid and other dycarboxylic acids in normal serum and urine using capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem* 1985;150:58-66.
258. Marengoni A, Cossi S, De Martinis M, Calabrese PA, Orini S, Grassi V. Homocysteine and disability in hospitalized geriatric patients. *Metabolism* 2004;53:1016-20.
259. Marignani M, Delle Fave G, Mecarocci S, Bordi C, Angeletti S, D'Ambra G, *et al.* High prevalence of atrophic body gastritis in patients with unexplained microcytic and macrocytic anaemia: a prospective screening study. *Am J Gastroenterol* 1999;94:766-72.
260. Markle HV. Cobalamin. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1996;33:247-356.
261. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985;142:436-9.
262. Marshall BJ, Goodwin CS. Revised nomenclature of *Campylobacter pyloridis*. *Int J Syst Bacteriol* 1987;37:68.
263. Marshall BJ, Royce H, Annear DL. Original isolation of *Campylobacter pyloridis* from human gastric mucosa. *Microbiol Lett* 1984;25:83-8.
264. Marshall BJ, Surveyor I. Carbon<sup>14</sup> urea breath test for the diagnosis of *Campylobacter pylori* associated with gastritis. *J Nucl Med* 1988;29:11-16.
265. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomachs of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;I:1311-5.
266. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1994;89:116-28.
267. Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;i:1273-75.

268. Mason JB. Biomarkers of nutrient exposure and status in one-carbon (methyl) metabolism. *J Nutr* 2003;133:941S-47.
269. Matthews JH, Clark DM, Abrahamson GM. Effect of therapy with vitamins B<sub>12</sub> and folic acid on elderly patients with low concentrations of serum vitamin B<sub>12</sub> or erythrocyte folate but normal blood counts. *Acta Haematol* 1988;79:84-7.
270. Mayer A, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:517-27.
271. Medina MA, Urdiales JL, Amores-Sánchez MI. Roles of homocysteine in cell metabolism. Old and new functions. *Eur J Biochem* 2001;268:3871-82.
272. McCaddon A, Hudson P, Davies G. Homocysteine and cognitive decline in healthy elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001;12:309-13.
273. McColl KE, El-Omar E, Gillen D. Interactions between *H. pylori* infection, gastric acid secretion anti-secretory therapy. *Br Med Bull* 1998;54:121-38.
274. McCully KM. Homocysteine, vitamin deficiency and prevention of atherosclerosis. *Int Med* 1998;1:3-9.
275. McCully KM. The biomedical significance of homocysteine. *J Sci Expl* 2001;15:5-20.
276. McCully KM. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-21.
277. McLoughlin R, Racz I, Buckley M, O'Connor HJ, O'Morain C. Therapy of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2004;9(Suppl. I):42-8.
278. McNulty CAM, Dent JC, Uff JS, Gear MWL, Wikinson SP. Detection of *Campylobacter pylori* by the biopsy urease test: an assessment in 1445 patients. *Gut* 1989;30:1058-62.
279. McNulty CAM, Dent JC. Rapid identification of *Campylobacter pylori* (*C. pyloridis*) by preformed enzymes. *J Clin Microbiol* 1987;25:1683-86.

280. Medina MA, Urdiales JL, Sanchez-Amores MI. Roles of homocysteine in cell metabolism: old and new functions. *Eur J Bioch* 2001;3871-3882. 2001.
281. Mégraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scand J Gastroenterol* 1996;31(suppl 215):57-62.
282. Mégraud F. Transmission of *Helicobacter pylori*: faecal-oral versus oral-oral route. *Aliment Pharmacol Ther* 1995a;9(suppl 2):85-91.
283. Mégraud F. Rationale for the choice of antibiotics for eradication of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol* 1995b;7:49-54.
284. Mendonça S, Ecclissato C, Godoy APO, Guerzoni RA, Degger M, Pedrazzoli Jr J. Prevalence of *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicilin, tetracycline, and furazolidone in Brazil. *Helicobacter* 2000; 5:79-83.
285. Merkel M. Homocysteine as a risk factor of cardiovascular disease. *Intern Congress Series* 2004;1262:376-9.
286. Metz J, Bell AH, Flicker L, Bottiglieri T, Ibrahim J, Seal E , *et al.* The significance of subnormal serum vitamin B<sub>12</sub> concentration in older people: a case control study. *J Am Geriatr Soc* 1996;44:1355-61.
287. Mina S, Marniemi J, Laakso M, Seppo L, Tapani R. Elevated plasma homocysteine level is an independent predictor of coronary heart events in patients with type 2 Diabetes Mellitus. *Ann Intern Med* 2004;140:94-100.
288. Minot GR, Murphy WP. The treatment of pernicious anemia by a special diet. *J Am Med Assoc* 1926;87:470-76
289. Mitchell HM, Lee A, Berkowickz J, Borody T. The use of serology to diagnose active *Campylobacter pylori* infection. *Med J Aust* 1988;149:604-9.
290. Mitchell HM, Li YY, Liu Q, Chen M, Du GG, Wang ZJ, Lee A, Hazell SL. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in Southern China: identification of

- early childhood as the critical period for acquisition. *J Infect Dis* 1992;166:149-53.
291. Moat SJ, Lang D, McDowell IFW, Clarke ZL, Madhavan AK, Lewis MJ, Goodfellow J. Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. *J Nutr Biochem* 2004;15:64-79.
292. Moelby L, Nielsen G, Rasmussen K, Jensen MK, Pedersen KO. Metabolic cobalamin deficiency with low to low-normal plasma cobalamins. *Scand j Clin Lab Invest* 1997;57:209-16.
293. Montecucco C, Rappuoli R. Living dangerously: How *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. *Nature Rev* 2001;2:457-66.
294. Montgomery EA, Martin DF, Peura DA. Rapid diagnosis of *C. pylori* by Gram's stain. *Am J Clin Pathol* 1988;90:606-9.
295. Morton D, Bardham KD. Effect of transport medium and transportation time on culture of *Helicobacter pylori* from gastric biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1995;48:91.
296. Mudd SH, Skovby F, Levy HL. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985;37:1-31.
297. Nagga K, Rajani R, Mardh E, Borch K, Mardh S, Marcusson. Cobalamin, folate, methylmalonic acid, homocysteine and gastritis markers in dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2003;16:269-75.
298. National Kidney Foundation. Kidney Disease outcome Quality Initiative: Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39(1 suppl):S1-S266.
299. Nexo E, Hansen M, Rasmussen K, Lindgren A, Grasbeck R. How to diagnose cobalamin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 1994;54 (Suppl):219:61-76.
300. Nexo E. Vitamin B<sub>12</sub> absorption and metabolism. *Scand J Clin Lab Invest* 1998;58(Suppl):228:11-12.

301. Nexo E, Christensen AL, Petersen TE, Fedosov SN Measurement of Transcobalamin by ELISA Clin Chem , 2000; 46:1643-49.
302. Nguyen AM, Engstrand L, Genta RM, Graham DY, El-Zaatari FA. Detection of *Helicobacter pylori* in dental plaque by reverse transcription-polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1993;31:783-87.
303. Nilsson-Ehle H. Age related changes in cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) handling. Drugs Aging 1998;12:277-92.
304. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehang JE, *et al.* Total homocysteine and cardiovascular risk profile. J Am Med Assoc 1995;274:1526-33.
305. O'Callaghan P, Meleady R, Fitzgerald T, Graham I, European Com group. Smoking and plasma homocysteine. Eur Heart J 2002;23:1580-6.
306. Obeid R, Schorr H, Eckert R, Herrmann W. Vitamin B<sub>12</sub> status in the elderly as judged available biochemical marks. Clin Chem 2004;50:238-41.
307. Obesity: preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser 2000;894:1-253.
308. Oh RC, Brown DJ. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency. Am Fam Physician 2003;67:979-86.
309. Ohkuda T, Miwa H, Nomura T, Asaoka D, Kurosawa A, Sakamoto N, *et al.* Improvement in serum pepsinogens and gastrin in long-term monitoring after eradication of *Helicobacter pylori*: comparison with *H. pylori*-negative patients. Aliment Pharmacol Ther 2004;20(Suppl. I):25-32
310. Ohkura R, *et al.* Usefulness of a novel enzyme immunoassay for the detection of *Helicobacter pylori* in feces. Scand J Gastroenterol 2000;35:49-53.
311. Okuda K. Discovery of vitamin B<sub>12</sub> in the liver and its absorption factor in the stomach. J Gastroenterol Hepatol 1999;14:301-08.

- 312.Oliveira AG, Santos A, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AMC, Oliveira CA, *et al.* BabA2- and CagA-positive *Helicobacter pylori* strains are associated with duodenal ulcer and gastric carcinoma in Brazil. *J Clin Microbiol* 2003;41:3964-66.
- 313.Oliveira AMR, Queiroz DMM, Rocha GA, Mendes EN. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in two different populations from Minas Gerais, Brazil. *Am J Gastroenterol* 1994;89:2201-04.
- 314.Oliveira AMR, Rocha GA, Queiroz DMM. Evaluation of an ELISA for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children from different age groups with and without duodenal ulcer. *J Ped Gastroenterol Nutr*, 1999;28:157-61.
- 315.Oliveira AMR. Validação de testes imunoenzimáticos para a pesquisa de anticorpos séricos anti- *Helicobacter pylori* e anti-CagA e seu emprego para o diagnóstico e estudos de prevalência e incidência da infecção [tese]. Belo-Horizonte: Faculdade de Medicina da UFMG. 1999.
- 316.Oliveira CA, Lima Jr G. Contribuição da endoscopia para o diagnóstico de hérnia gástrica hiatal e da esofagite por refluxo. In:Endoscopia Digestiva. Rio de Janeiro:Fundação Smithline;1984;p77-95.
- 317.Oosterhuis WP, Niessen RWLM, Bossuyt MM, Sanders GTB, Sturk A. Diagnostic value of the mean corpuscular volume in the detection of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60:9-18.
- 318.Ottesen M, Feldt-Rasmussen U, Anderson J, Hippe E, Schouboe A. Thyroid function and autoimmunity in pernicious anemia before and during cyanocobalamin treatment. *J Endocrinol* 1995;18:91-7.
- 319.Owen D. Gastritis and carditis. *Mod Pathol* 2003;16:325-41.
- 320.Palmer ED. Investigation of the gastric spirochaetes of the human. *Gastroenterology* 1954;27:218-20

321. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Zeimbekis A, Chrysohoou C, Stefanadis C. The association between lifestyle-related factors and plasma-homocysteine levels in health individuals from the “ATTICA” Study. *Intern J Cardiol* 2004;69:9-18.
322. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelmann JH, Orentreich N, *et al.* *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991;325:1127-31.
323. Parsonnet J. *H. pylori*-the size of the problem. *Gut* 1998;(suppl I):3247-49.
324. Parsonnet J. The incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Therapeut* 1995;9 (suppl 2):45-51.
325. Patel P, Khulusi S, Mendall Ma, Lloyd R, Jazrawi R, Maxwell JD, *et al.* Salivary antibodies to *Helicobacter pylori*: screening dyspeptic patients before endoscopy. *Lancet* 1994;344:511-12.
326. Peek Jr RM, Miller GG, Tham K, Perez-Perez GI, Cover TL, Atherton JC, *et al.* Detection of *Helicobacter pylori* gene expression in human gastric mucosa. *J Clin Microbiol* 1995;33:28-32.
327. Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, Matthews LM, Grigsby J, Kaye K, *et al.* High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J Am Geriatr Soc* 1992;40:1197-1204.
328. Perri F, Qasim A, Marras L, O’Morain. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2003;8(Suppl I):53-60.
329. Perna AF, Ingrosso D, De Santo NG. Homocysteine and oxidative stress. *Amino Acids* 2003;25:409-17.
330. Peterson WL. *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16 (1 Suppl):40-6
331. Pilotto A, Di Mario F, Franceschi M. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in elderly subjects. *Age Ageing* 2000;29:103-09.

332. Pilotto A, Fabrello R, Franceschi M, Scagnelli M, Soffiati G, Mario F, *et al.* *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic elderly subjects living at home or in a nursing home: effects on gastric function and nutritional status. *Age Ageing* 1996;25:245-49.
333. Pilotto A, Franceschi M, Leandro G, Di Mario F, Soffiati G, Scagnelli M, *et al.* The usefulness of serum pepsinogens, specific IgG anti-HP antibodies and gastrin for monitoring *Helicobacter pylori* treatment in older people. *J Am Geriatr Soc* 1996;44:665-70.
334. Pilotto A, Franceschi M, Leandro G, Longo MG, Perri F, Scarcelli C. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastro-duodenal damage in symptomatic elderly low-dose aspirin users: effect of antisecretory drugs. *Age Ageing* 2004;33:402-04.
335. Pilotto A, Malfertheiner P. Review article: an approach to *Helicobacter pylori* infection in the elderly. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:683-91.
336. Pilotto A, Rassa M, Bozzola L, Gioacchino L, Franceschi M, Furlan F, *et al.* Cytotoxin-associated gene A-positive *Helicobacter pylori* infection in the elderly: association with gastric atrophy and intestinal metaplasia. *J Clin Gastroenterol* 1998;26:18-22.
337. Pilotto A, Salles N. *Helicobacter pylori* infection in geriatrics. *Helicobacter* 2002;7(Suppl I):56-62.
338. Pilotto A. *Helicobacter pylori* associated peptic ulcer disease in older patients. Current management strategies. *Drugs Aging* 2001;18:487-94.
339. Plebanni M. Pepsinogens in health and disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1993;30:273-328.
340. Podell RN. Understanding the transition from alternative medicine to mainstream science: the homocysteine theory of heart disease and the crucial role of effective mentoring. *Medical Hypotheses* 2003;61:340-45.

341. Porush JG, Faubert PF. Renal disease in the aged. 1. ed. Boston: Little, Brown and Company; 1991.
342. Pruthi RK, Tefferi A. Pernicious anemia revisited. *Mayo Clin Proc* 1994;69:144-50.
343. Quadros, EV ; Regee A, Faisal K. Transcobalamin II synthesized in the intestinal villi facilitates transfer of cobalamin to the portal blood. *APJ- Gastrointestinal and Liver Physiology* 1999; 277:G161-166.
344. Queiroz DMM, Mendes EN, Rocha GA. Indicator medium for isolation of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1987;25:2378-79.
345. Queiroz DMM, Barbosa, AGA, Mendes EN, Rocha GA, Cisalpino, EO, Lima Jr GF, Oliveira CA. Distribution of *Campylobacter pylori* and gastritis in the stomach of patients with and without duodenal ulcer. *Am J Gastroenterol* 1988;83:1368-70.
346. Queiroz DMM, Coimbra RS, Mendes EN. Metronidazole-resistant *Helicobacter pylori* in a developing country. *Am J Gastroenterol* 1993;88:223-3.
347. Queiroz DMM, Mendes EN, Carvalho AST, Rocha GA, Oliveira AMR, Soares TF, *et al.* Factors associated with *Helicobacter pylori* infection by a CagA-positive strain in children. *J Infect Dis* 2000;181:626-30.
348. Queiroz DMM, Mendes EN, Rocha GA, Oliveira AMR, Oliveira CA, Cabral MMDA, *et al.* Cag-A positive *Helicobacter pylori* and risk for developing gastric carcinoma in Brazil. *Int J Cancer* 1998;78:1-5.
349. Queiroz DMM, Dani R, Silva LD, Santos A, Moreira LS, Rocha GA, *et al.* Factors associated with treatment failure of *Helicobacter pylori* in a developing country. *J Clin Gastroenterol* 2002;35:315-20.
350. Refsum H, Smith DA, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, *et al.* Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004;50:3-32.

351. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998;49:31-62.
352. Resende LMH, Queiroz DMM, Mendes EN, Rocha GA, Coelho LVG, Passos MCF, *et al.* Comparison of the urease test and of direct smear examination in the control of treatment of *Helicobacter pylori* -induced infection. *Braz J Med Biol Res* 1993;26:699-702.
353. Rocha GA, Oliveira AM, Queiroz DM, Mendes EN, Moura SB, Oliveira CA, Ferrari TCA. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection by Cobas Core ELISA in adults from Minas Gerais, Brazil. *Braz J Med Biol Res* 1998;31:1263-8.
354. Rocha GA, Queiroz DMM, Mendes EN, Carvalho AST, Oliveira AMR, Moura SB. Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children by an indirect immunofluorescence test. *J Ped Gastroenterol Nut* 1993;16:247-51.
355. Rocha GA, Queiroz DMM, Mendes EN, Oliveira AMR, Moura SB, Barbosa MT, *et al.* Simple carbolfuchsin staining for showing *C. pylori* and other spiral bacteria in gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1989;42:1004-5.
356. Rockall TA, Logan RF, Devlin HB, Northfield TC. Incidence and mortality from upper gastrointestinal haemorrhage in the United Kingdom. Screening Committee and members of the national Audit of Acute Upper Gastrointestinal Haemorrhage. *Brist Med Journal* 1995;311:222-26.
357. Rogers JD, Saffon AS, Frol AB, Arrastia RD. Elevated plasma homocysteine levels in patients treated with levodopa. *Arch Neurol* 2003;60:59-64.
358. Rosenblatt DS, Whitehead MV. Cobalamin and folate deficiency: Acquired and hereditary disorders in children. *Sem Hematol* 1999;36:19-34.
359. Rosenfeld L. Vitamine-vitamin. The early years of discovery. *Clin Chem* 1997;43:680-85.

360. Ruscin JM, Page RL, Valuck RJ. Vitamin B<sub>12</sub> associated with histamine-2-receptor antagonists and a proton-pump inhibitor. *Ann Pharmacother* 2000;36:812-16.
361. Russel RM. Factors in aging that effect the bioavailability of nutrients. *J Nutr* 2001;131:1359S-1361.
362. Russel RM. The aging process as a modifier of metabolism. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2 Suppl):592S-32.
363. Samloff I, Liebman WM. Cellular localiztion of the group II pepsinogens in human stomach and duodenum by immunofluorescence. *Gastroenterology* 1973;65:36-42.
364. Samloff IM. Peptic ulcer: the many proteinases of agression. *Gastroenterology* 1989;96:586-95.
365. Samloff IM, Varis K, Ihamaki T. Relationship among serum pepsinogen I, Serum Pepsinogen II and gastric mucosal histology. A study in relatives of patients with pernicious anemia. *Gastroenterology* 1988;83:204-9.
366. Sant VP, Kusters PFMM, Harthoorn-Lasthuizen EJ. Dependency of MCV and haemoglobin concentration on plasma vitamin B<sub>12</sub> levels in relation to Sex and age. *Clin Lab Haem* 1997;19:27-31.
367. Santarelli L, Gabrielli M, Cremoni F, Santoliquido A, Candelli M, Nista EC, *et al.* Atrophic gastritis as a cause of hyperhomocysteinemia. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;19:107-11.
368. Saperstein DS, Wolfe GI, Gronseth GS, Nations SP, Herbelin LL, Wilson B, *et al.* Challenges in the identification of cobalamin-deficient polyneuropathy. *Arch Neurol* 2003;60:1296-1301.
369. Sathar MA, Gouwens E, Simjee AE, Mayat AM. Seroepidemiological study of *Helicobacter pylori* infection in South African children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1997;91:393-95.

370. Sato R, Murakami K, Watanabe K, Okimoto T, Miyajima H, Ogata M, *et al.* Effect of *Helicobacter pylori* eradication on platelet recovery in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Arch Intern Med* 2004;164:1904-7.
371. Savage DG, Ogundipe A, Allen RH, Stabler S, Lindenbaum J. Etiology and diagnostic evaluation of macrocytosis. *Am J Med Sci* 2000;319:343-52.
372. Savage DJ, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994;96:239-46.
373. Schneede J, Ueland PM, Kjaestad SI. Routine determination of serum methylmalonic acid and plasma total homocysteine in Norway. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63:355-68.
374. Schneede J. Prerequisites for establishing general recommendations for diagnosis and treatment of vitamin B<sub>12</sub> deficiency and cost-utility evaluation of these guidelines. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63:369-76.
375. Schwaninger M, Ringleb P, Winter R, Kohl B, Fiehn W, Rieser PA, Sack I. Elevated plasma concentrations of homocysteine in antiepileptic treatment. *Epilepsia* 1999;40:345-50.
376. Scott JM, Weir DG. Folic acid, homocysteine and one-carbon metabolism: a review of essential biochemistry. *J Cardiovasc Risk* 1998;5:223-27.
377. Scott JM. Bioavailability of vitamin B<sub>12</sub>. *Eur J Clin Nutr* 1997;51S1:S49-53.
378. Seetharam B, Alpers DH, Allen RH. Isolation and characterization of the ileal receptor for intrinsic factor-cobalamin. *J Biol Chem* 1981;256:3785-90.
379. Seetharam B, Bose S, Li N. Cellular import of cobalamin (vitamin B<sub>12</sub>). *J. Nutr* 1999;129:1761-64.
380. Seetharam B, Li N. Transcobalamin II and its cell surface receptor. *Vitam Horm* 2000;59:337-66.

381. Seetharam B, Yammani RR. Cobalamin transport proteins and their cell-surface receptors. *Exp Rev Mol Med* 2003;5:1-18
382. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693-8.
383. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999;19:217-46.
384. Serin E, Gumurdulu Y, Ozer B, Kayaselçuk F, Yilmaz U, Koçak R. Impact of *Helicobacter pylori* on the development of vitamin B<sub>12</sub> deficiency in the absence of gastric atrophy. *Helicobacter* 2002;7:337-41.
385. Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB, *et al.* Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346:476-83.
386. Singhal S, Bowling TE. Upper gastrointestinal disease in elderly patients. *Rev Clin Gerontol* 2000;10:223-33.
387. Sipanuck MH. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. *Annu Rev Nutr* 2004;24:539-77.
388. Sipponen P, Laxen F, Huotari K, Harkonen. Prevalence of low vitamin B<sub>12</sub> and high association in serum in an elderly male population: association with atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:1209-19.
389. Sipponen P, Marshall BJ. Gastritis and gastric cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 2000;29:579-90.
390. Slomianski A, Schubert T, Cutler AF. <sup>13</sup>C urea breath test to confirm eradication of *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* 1995;90:224-6.
391. Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B<sub>12</sub> and folate deficiency. *Arch Intern Med* 1999;131:348-51.

392. Souto FJD, Fontes CJF, Rocha GA, Oliveira AMR, Mendes EN, Queiroz DMM. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a rural area of the state of Mato Grosso, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1998;93:171-74.
393. Staat MA, Kruszon-Moran D, McQuillan GM, Kaslow RA. A population-based serologic survey of *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents in the United States. J Infect Dis 1996;174:1120-23.
394. Stabler SP, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency. Blood 1990;5:871-81.
395. Stabler SP, Allen RH. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency as a worldwide problem. Annu Rev Nutr 2004;24:299-326.
396. Stabler SP. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in older people: improving diagnosis and preventing disability. J Am Geriatr Soc 1998;46:1317-19.
397. Stampfer M, Malinow R, Willet E. A prospective study of plasma homocysteine and risk factor for vascular disease. J Am Med Assoc 1992;268:877-81.
398. Stanger O, Hermann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J, *et al.* Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid, and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases- Guidelines and Recommendation- 2003;May (english version). [www.dach-liga-homocystein.org](http://www.dach-liga-homocystein.org).
399. Steer HW. Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. J Clin Pathol 1975;28:639-46.
400. Stein GN, Finkelstein AK, Markowitz RI. The X-ray diagnosis of hiatus and diaphragmatic hernia. In: Bocxkus HL. Gastroenterology. Philadelphia:W. B. Saunders;1974. vol 1, cap IV.
401. Stopeck A. Links between *Helicobacter pylori* infection, cobalamin deficiency and pernicious anemia. Arch Intern Med 2000;160:1-7.

402. Streeter AM, Duraiappah B, Boyle R. Malabsorption of vitamin B<sub>12</sub> after vagotomy. *Am J Surg* 1974;128:340-43.
403. Strickland RG, Hooper B. The parietal cell heteroantibody in human sera: prevalence in a normal population and relationship to parietal cell autoantibody. *Pathology* 1972;4:259-63.
404. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter infection*. *N Engl J Med* 2002;347:1175-86.
405. Suter PM, Golner BB, Goldin BR, Morrow FD, Russel RM. Reversal of protein-bound vitamin B<sub>12</sub> malabsorption with antibiotics in atrophic gastritis. *Gastroenterology* 1991;101:1031-45.
406. Swain R. Stages of B<sub>12</sub> deficiency. In: Herbert V. *Vitamin B<sub>12</sub> deficiency*. 2. ed. London: Royal Society of Medicine Press; 2002. p.19-20.
407. Tamura A, Fujioka T, Nasu M. Relation of *Helicobacter pylori* infection to plasma vitamin B<sub>12</sub>, folic acid and homocysteine levels in patients who underwent diagnostic coronary arteriography. *Am J Gastroenterol* 2002;97:861-66.
408. Tamura H, Tokushima H, Murakawa M, Matsumara O, Itoyama S, Mitarai T, *et al.* Influences of *Helicobacter pylori* on serum pepsinogen concentrations in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:113-17.
409. Tamura T, Aiso K., Johnston KE. *et al.* Homocysteine, folate, vitamin B<sub>12</sub> and vitamin B<sub>6</sub> in patients receiving antiepileptic drug monotherapy. *Epilepsy* 2000;40:7-15.
410. Taylor DN, Hargraves JA, Lai-King NG, Sherbaniuk RW, Jewell LD. Isolation and characterization of *Campylobacter pyloridis* from gastric biopsies. *Am J Clin Pathol* 1987;87:49-54.

411. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.
412. Thijs JC, Van Zwet AA, Thijs WJ, Oey HB, Karrenbeld A, Stellaard F, Luijt DS, Meyer BC, Kleibeuker JH. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. *Am J Gastroenterol* 1996;91:2125-9.
413. Thompson WG, Babitz L, Cassino C, Freedman M, Lipkin M. Evaluation of current criteria used to measure vitamin B<sub>12</sub> levels. *Am J Med* 1987;82:291-94.
414. Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997;337:1441-48.
415. Tompkins DS. Isolation and characteristics of *Helicobacter pylori*. In: Rathbone BJ, Heatley RV. *Helicobacter pylori* and Gastrointestinal Diseases. Oxford: Blackwell Scientific Publication 1992:19-28.
416. Trevisani L, *et al.* *Helicobacter pylori* stool antigen test - Clinical evaluation and cost analysis of a new enzyme immunoassay. *Dig Dis Sci* 1999;44:2303-6.
417. Trowell, JE, Yoong AKH, Saul KJ, Gant PW, Bell GD. Simple half-Gram stain for showing presence of *Campylobacter pylori* in sections. *J Clin Pathol* 1987;40:702.
418. Tucker KL, Buranapin S. Nutrition and aging in developing countries. *J Nutr* 2001;131:2423S-27.
419. Uibo R, Vorobjova T, Metskulla K, Kisand K, Wadstrom T, Kivik T. Association of *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity: a population-based study. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1995;11:65-8.

420. Vaira D, Ricci M, Menegatti L, Gatta A, Geminiani M, Miglioli M. Clinical role of fecal antigen determination in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Clin Lab 2000;46:487-91.
421. Valle J, Kekki M, Sipponen P, Ihamaki T, Siuraia M. Long-term course and consequences of *Helicobacter pylori* gastritis. Results of a 32-year follow-up study. Scand J Gastroenterol 1996;31:546-50.
422. Valuck R, Ruscin JM. A case-control found an association between acid suppressant drug use and vitamin B<sub>12</sub> deficiency in older adults. J Clin Epidemiol 2004;57:422-8.
423. Van der Noortgate NJ, Janssens WH, Delanghe JR, Afschrift MB, Lameire MH. Serum cystatin C concentration compared with other markers of glomerular filtration rate in the old. J Am Geriatr Soc 2002;15:1278-82.
424. Varis K, Samloff IM, Ihamaki T, Siurala M. An appraisal of tests for severe atrophic gastritis in relatives of patients with pernicious anemia. Dig Dis Sci 1979;24:187-91
425. Versalovic J. *Helicobacter pylori*: pathology and diagnostic strategies. Am J Clin Pathol 2003;119:403-12.
426. Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, Nygard O, Nordrehaug JE, Tell GS, *et al.* Plasma total homocysteine and cardiovascular and non cardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. Am J Clin Nutr 2001;74:130-6.
427. Vorobjova T, Faller G, Maaros HI, Sipponen P, Villako K, Uibo RT. Significant increase in antigastric autoantibodies in a long-term follow-up study of *H. pylori* gastritis. Virchows Arch 2000;437:37-45.
428. Wahlfors J, Meurman JH, Toskala J, Korhonen A, Alakuiajaia P, Janatuinen E, *et al.* Development of a rapid PCR method for identification of *Helicobacter pylori* in dental plaque and gastric biopsy specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995;14:780-86.

429. Wahlin A, Backman I, Hultdin J, Adolfsson R, Nilsson LG. Reference values for serum levels of vitamin B<sub>12</sub> and folic acid in a population-based sample of adults between 35 and 80 years old. *Public Health Nutrition* 2001;5:505-11.
430. Walters LL, Budin RE, Paull G. Acridine orange to identify *Campylobacter pyloridis* in formalin fixed paraffin-embedded gastric biopsies. *Lancet* 1986;i:42.
431. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease:evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002;325:1-7.
432. Ward PCG. Modern approaches to the investigation of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Clin Lab Med* 2002;22:435-45.
433. Warren J. R. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983;i:1273.
434. Warren JR. Gastric pathology associated with *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North American* 2000;29:705-50.
435. Webb DJ, Chodos RB, Mahar,CQ. Mechanism of vitamin B<sub>12</sub> malabsorption in patients receiving colchicine. *N Engl J Med* 1968;279:845.
436. Webb PM, Knight T, Greaves S, Wilson A, Newell DG, Elder J, *et al.* Relation between infection with *Helicobacter pylori* and living conditions in childhood:Evidence for person to person transmission in early life. *Br Med J* 1994;308:750-53.
437. Weimann J. Toxicity of nitrous oxide. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2003;17:47-61.
438. Wichcramasinghe SN. The wide spectrum and unresolved issues of megaloblastic anemia. *Sem Hematol* 1999;38:3-18.
439. Wilcken DEL, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease: a possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976;57:1079-82.

440. Wihelmensen I. Quality of the life and *Helicobacter pylori* eradication. Scand J Gastroenterol 1996;31(Suppl 22):18-20.
441. Wolf BS. Sliding hiatal hernia: the need for redefinition. Am J Roentgenol Rad Therapy & Nuclear Med 1973;117:231-47
442. Wolters M, Strohle A, Hahn A. Cobalamin: a critical vitamin in the elderly. Preventive Medicine 2004;47:1-11.
443. Wotherspoon AC, Path MRC. Gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue and *Helicobacter pylori*. Annu Rev Med 1998;49:289-99.
444. Zitton J, Zitton R. Modern clinical strategies in cobalamin and folate deficiency. Semin Hematol 1999;36:35-45.

vento varria as folhas,  
 vento varria os frutos,  
 vento varria as flores....  
    E a minha vida ficava  
    Cada vez mais cheia  
    De frutos, de flores, de folhas.

vento varria as luzes  
 vento varria as músicas  
 vento varria os aromas  
    E a minha vida ficava  
    Cada vez mais cheia  
    De aromas, de estrelas, de cânticos.

.....  
 vento varria os meses  
E varria os teus sorrisos...  
 vento varria tudo!  
    E a minha vida ficava  
    Cada vez mais cheia  
    De tudo.

Canção do Vento e da Minha Vida  
Manoel Bandeira

## ANEXOS

### ANEXO A: ESOFAGOGASTRODUODENOSCOPIA

#### ***Material***

-VÍdeo-endoscópio eletrônico da marca FUJINON, composto de vídeo HRTriniton da SONY, processador de imagem EPX-305EVE FUJINON, de impressora de fotografias Mavigrah SONY e endoscópio da marca FUJINON EVE EG-300HR (super-imagem).

-Pinças de biópsias: as utilizadas rotineiramente em Serviços de Endoscopia Digestiva.

#### ***Preparo psicológico dos pacientes e recomendações dietéticas antes do exame***

Solicitou-se aos pacientes que fizessem jejum por dez horas, sendo-lhes permitido apenas a ingestão de água ou chás adoçados antes do exame. O preparo psicológico foi feito pelo médico-endoscopista, durante a tomada da anamnese do sistema digestório, completando-o com os esclarecimentos sobre a técnica e os objetivos do exame.

#### ***Preparo medicamentoso e anestesia da orofaringe***

Administrou-se intravenosa e imediatamente antes da introdução do endoscópio, meperidina e midazolam para uma sedação de grau leve:

- a) de uma ampola de 2 ml, contendo 100 mg de cloridrato de meperidina, retirou-se, com uma seringa,  $\frac{1}{3}$  de seu conteúdo (33,3 mg), que foi, em seguida, diluído com água destilada para um volume de 5 ml (seringa 1);
- b) de uma ampola de 5 ml, contendo 5 mg de midazolam, e retirou-se  $\frac{1}{4}$  de seu conteúdo (1,25 mg), também diluído com água destilada para 5 ml (seringa 2);
- c) injetou-se lenta e intravenosamente todo o conteúdo da seringa 1 e, em seguida, somente 3 dos 5 ml da seringa 2. Se necessário, logo depois da introdução do endoscópio, injetaram-se mais 1 ou 2 ml da seringa 2.
- d) a anestesia da orofaringe foi feita com lidocaína à 10%, sob forma de aerossol, respeitando-se a dose máxima de 200 mg do anestésico.
- e) os pacientes permaneceram levemente sedados, respondendo prontamente às indagações do médico-endoscopista e, em geral, com boa tolerância ao exame.

### ***Técnica do exame endoscópico***

Depois da administração intravenosa dos sedativos e da anestesia da orofaringe, o paciente era posicionado na mesa de exame em decúbito lateral esquerdo e com os membros inferiores fletidos.

A introdução do endoscópio, protegido por um bucal de plástico, foi feita com auxílio do dedo indicador da mão esquerda ou sob visão direta através do monitor de vídeo, até sua passagem pelo esfíncter superior do esôfago.

Ultrapassado o esfíncter, o endoscópio era levado lentamente pela luz do órgão, para que o paciente se acomodasse e permitisse um exame tranqüilo e inspeção minuciosa da mucosa. Quando junto da junção esôfago-gástrica, solicitava-se ao paciente que fizesse uma inspiração profunda, com interrupção da respiração – “apnéia pós-inspiração”.

Neste momento, insuflava-se ar através do endoscópio para distender as paredes do esôfago e demonstrar o “anel esofágico inferior”<sup>\*</sup> e a hérnia hiatal, quando presentes (BOYCE, 1997). A hérnia, foi dimensionada como de pequeno (1 a 2 cm), de médio (3 a 4 cm) e de grande tamanho (5 ou mais cm), por analogia com achados radiológicos (STEIN *et al.*, 1974). Em seguida, o endoscópio era introduzido na cavidade gástrica, o conteúdo líquido aspirado e imediatamente insuflava-se ar na cavidade para permitir a retroflexão da ponta do endoscópio. Examinava-se a mucosa do fundo gástrico e, também, o orifício superior do estômago, que era denominado orifício cárdico, na ausência de hérnia hiatal, e de orifício hiatal, na presença de hérnia. Quando os orifícios cárdico e hiatal estiverem abertos, foram dimensionados em pouco, moderadamente ou bastante alargados. O orifício cárdico quando aberto recebe a denominação de “cárdia pátula”, tanto radiológica, como endoscópicamente (WOLF, 1973; HIBERT & BELSEY, 1961).

***Dados endoscópicos sucintos para os diagnósticos da mucosa esofágica normal e de esofagite por refluxo:***

1 – mucosa esofágica endoscopicamente normal: a que se mostra íntegra, lisa, com coloração homogênea, deixando transparecer o plexo vascular da submucosa da extremidade distal do esôfago, segundo KOGURE *et al.* (1972), citado por HATTORI *et al.* (1974), e tornando-o bem visível, notadamente com o paciente em apnéia pós-inspiração;

2 – esofagite por refluxo de leve intensidade: a mucosa esofágica mostra-se edemaciada, parcial ou completamente opaca, brancacenta, sem solução de continuidade e com o plexo vascular da submucosa pouco ou não visível. Foi

---

<sup>\*</sup> Esta nomenclatura “anel esofágico inferior” (“anel B”) foi modificada em 1990; atualmente é empregada somente para caracterizar o “anel de Schatzki-Gary”. O anel “A” para “anel muscular”, como também, “divertículo de Zenker” para “divertículo faríngeo”. Esta nomenclatura foi adotada pela Sociedade Brasileira de História da Medicina, em seu Congresso Brasileiro, realizado em 2000, na cidade de Santos/SP. (Comunicação nos foi fornecida pelo Prof. Joffre Marcondes de Resende – Goiânia).

denominada “esofagite edematosa” por OLIVEIRA & LIMA, 1984, para não definir um conceito negativamente, como por exemplo “esofagite não erosiva”. Recentemente, CAVIGLIA *et al.* (2004) demonstraram associação de sintomas típicos da doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) com dilatação dos espaços intercelulares por edema da mucosa, que serve como marcador morfológico de dano tecidual em pacientes com do “esofagite não erosiva”, na microscopia eletrônica de transmissão. A presença de erosões ou ulcerações indica, por si só, processo inflamatório, da mucosa esofágica. A esofagite ulcerada é considerada histologicamente de alto grau, com maiores probabilidades para futuras complicações (HAMILTON, 1992);

3 – os diagnósticos de mucosa esofágica normal e de esofagite por refluxo devem ser sempre comprovados por achados histopatológicos. Foram colhidos três fragmentos da mucosa da extremidade distal do esôfago, de modo rotineiro, independentemente do aspecto macroscópico da mucosa e da presença ou não de hérnia hiatal. A sensibilidade da mucosa esofágica às biópsias tem importância fundamental: mucosa esofágica sensível às biópsias tem o mesmo significado de pirose, o que indica presença de refluxos gastroácidos repetitivos, independentemente do estágio evolutivo em que se encontra a doença do refluxo gastroesofágico (DINIZ, 1999). A sensibilidade da mucosa não está relacionada com o processo inflamatório.

***Dados endoscópicos sucintos para diagnóstico da mucosa oxíntica normal e das suas alterações:***

O diagnóstico macroscópico de mucosa gástrica oxíntica normal pode ser feito com relativa facilidade, pela presença de pregas mucosas uniformes, íntegras, sinuosas, com superfície lisa e coloração homogênea e, principalmente, quando os orifícios das fossetas das glândulas gástricas estiverem visíveis. Quando os orifícios das fossetas não estão visíveis, observam-se as chamadas “áreas gástricas”, à semelhança de “favos de mel de uma colméia” ou aspecto em “mosaico”. A causa do edema da mucosa pode ser ou não de origem inflamatória. Seu diagnóstico

diferencial se faz com edema hipoprotéico, hipertensão portal ou com gastropatia reativa, seja de causa medicamentosa ou por refluxo duodenogástrico. A gastrite crônica atrófica do corpo gástrico mostra pregas mucosas diminuídas em número e em suas dimensões, retificadas, desaparecendo completa ou quase completamente com moderada insuflação de ar, e tornando a mucosa pálida e brancacenta, permitindo a observação parcial ou completa do plexo vascular da submucosa.

***Dados endoscópicos sucintos para diagnóstico da mucosa do antro normal e das suas alterações:***

A mucosa do antro, quando normal, mostra-se com superfície lisa, íntegra, com coloração homogênea e sem sinais de processo infiltrativo e, também, com os orifícios das fossetas visíveis. Não há edema, nem pregas mucosas pré-pilóricas.

Na gastrite crônica do antro, a mucosa pode mostrar nodosidades finas ou grosseiras, achados estes patognomônicos de processo inflamatório por *H. pylori*. A presença de erosões planas ou elevadas e alterações intra-mucosas, como edema e enantema (gastrite endoscópica enantematosa), com ou sem pregas mucosas pré-pilóricas completam o diagnóstico de gastrite crônica antral sem atrofia. Seu diagnóstico macroscópico de gastrite crônica antral atrófica é praticamente impossível e seu diagnóstico é histológico. Na mucosa antral com edema e enantema, o diagnóstico diferencial se faz sempre com gastropatia reativa de causa exógena ou endógena. O diagnóstico de certeza é sempre baseado nos achados histopatológicos.

***Dados endoscópicos sucintos para diagnóstico da mucosa da região angular e suas alterações***

É importante a observação minuciosa da mucosa da região angular, tanto em suas porções sub-angular e supra-angular, locais de frequentes alterações patológicas. O peristaltismo antral está sempre presente e só se desfaz quando chega no piloro. A interrupção da onda peristáltica antes de atingir o piloro, é sinal provável de processo infiltrativo da mucosa. Por isso, deve-se acompanhar o movimento da onda peristáltica antral até sua chegada ao piloro, que é, em condições normais, arredondado, concêntrico e sem deformidade.

**ANEXO B: RESULTADOS DE EXAMES ENDOSCÓPICOS**

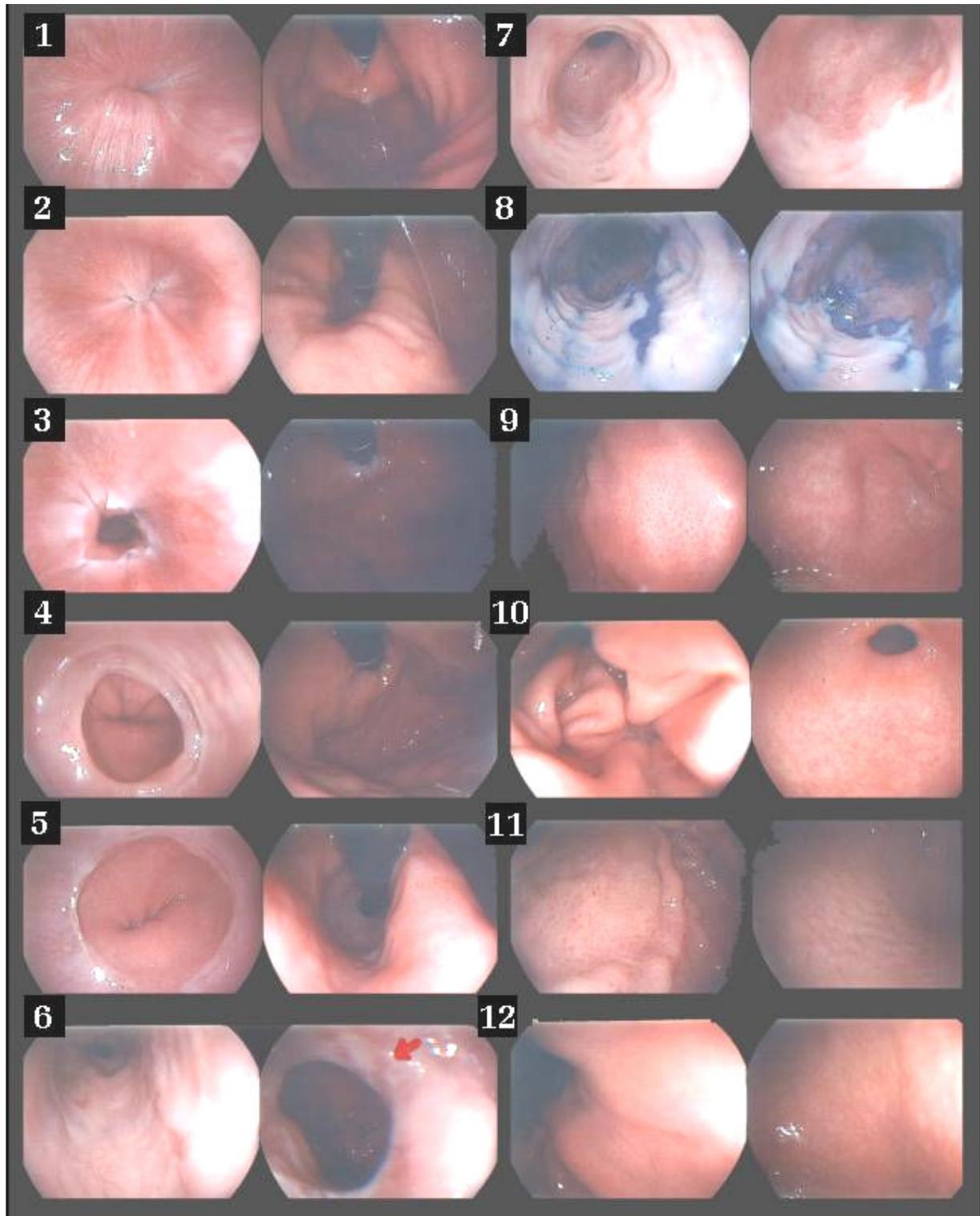


Figura 9.1: Resultados de exames endoscópicos

Legenda do anexo A:

- 1A: ausência de hérnia hiatal;
- 1B: orifício cárdico fechado;
- 2A: ausência de hérnia hiatal, PVC (plexo vascular capilar) parcial visível.;
- 2B: cárdia-pátula (orifício cárdico aberto sem hérnia hiatal);
- 3A: ausência do hérnia hiatal, transição escamo-colunar na mesma altura do pinçamento, vertente proximal. (T3);
- 3B: orifício cárdico fechado;
- 4A: hérnia hiatal com 2cm de extensão e mucosa esofágica opaca (plexo vascular subcutâneo) não visível);
- 4B: orifício hiatal fechado;
- 5A: hérnia hiatal 2cm, mucosa esofágica opaca sem erosão;
- 5B: orifício hiatal aberto, bastante alargado;
- 6A: esofagite erosiva, com várias erosões;
- 6B: além de esofagite, ulcerada junto à transição escamo-colunar, hérnia hiatal, com 5cm de extensão (de grande tamanho);
- 7A: esofagite ulcerada com retração de pregas mucosas, o que traduz fibrose sub-epitelial;
- 7B: epitélio metaplásico especializado (Barret), confirmação à histologia;
- 8A e B: as mesmas alterações de 7A e B, após coloração, em azul de metileno;
- 9A: mucosa oxíntica endoscópica e histologicamente normal. Áreas gástricas visíveis, que indicam mucosa oxíntica não insuflada (normal);
- 9B: mucosa antral com superfície lisa sem alterações macroscópicas (normal à histologia);
- 10A: mucosa oxíntica normal à endoscopia e à histologia;
- 10B: mucosa antral normal à histologia;
- 11A: mucosa oxíntica com áreas gástricas bem visíveis, o que produz processos inflamatórios;
- 11B: mucosa antral com aspecto calcetado, com nodosidades moderadas, achado patognomônico de infecção por *H. pylori*;
- 12A: mucosa oxíntica com áreas gástricas com processo inflamatório;
- 12B: mucosa antral com nodosidades finas indicativas de infecção por *H. pylori*.

**ANEXO C: PROTOCOLOS PARA TRATAMENTO DE B<sub>12</sub> E *H. pylori***

Paciente no:		Nome:		Reg.:											
FICHA DE ACOMPANHAMENTO DO PACIENTE															
EVOLUÇÃO ( tempo do tratamento )															
Parâmetros	INICIAL ( / / )	3 MÊSES ( / / )	6 MÊSES ( / / )												
Vitamina B <sub>12</sub>	pg/ml				pg/ml										
Ácido Fólico	µg/ml				µg/ml										
HEMOGRAMA	Eritograma	Hb	HEM	HTC	VCM	HCM	CHCM	RDW	Hb	HEM	HTC	VCM	HCM	CHCM	RDW
	Leucograma	LG	N	L	M	E	B	NHS	LG	N	L	M	E	B	NHS
	Plaquetas	NO			MPV			NO			MPV				
	Reticulócitos														
Hematos cópia															
Teste Respiratório															
MMA															
HCY															
Endoscopia															
Biópsia															

## ANEXO D: PROTOCOLO DE CONTROLE DO TRATAMENTO

### TRATAMENTO: B<sub>12</sub> e *H. pylori*

NOME: \_\_\_\_\_

IDADE: \_\_\_\_\_ REGISTRO: \_\_\_\_\_

I - TRATAMENTO PARA *H. pylori* - Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

A - Esquema utilizado - \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1 - ( ) Omeprazol + Claritromicina + Furazolidona - BID - 7 dias

2 - ( ) Omeprazol + Oxitetraciclina + Bismuto + Furazolidona - TID - 10 dias

#### B - Completou o tratamento prescrito:

( ) Sim

( ) Não - Motivo:

( ) Reações adversas

( ) Outros: \_\_\_\_\_

#### C - Reações adversas:

( ) Sim / ( ) Não - Esquema ( )

( ) Cefaléia

( ) Vômitos

( ) Gosto metálico

( ) Dor abdominal

( ) Diarréia

( ) Tontura

( ) Náuseas

( ) Fraqueza

( ) Prurido

( ) Rash cutâneo

( ) Outros: \_\_\_\_\_

#### D - Mudança de esquema:

( ) Sim

( ) Não

Tipo - Esquema 1 para 2 ( )

Motivo: \_\_\_\_\_

Duração do tratamento anterior: \_\_\_\_\_

**Reações adversas:**

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Sim / <input type="checkbox"/> Não - Esquema ( ) | <input type="checkbox"/> Tontura       |
| <input type="checkbox"/> Cefaléia   | <input type="checkbox"/> Náuseas       |
| <input type="checkbox"/> Vômitos  | <input type="checkbox"/> Fraqueza      |
| <input type="checkbox"/> Gosto metálico                                   | <input type="checkbox"/> Prurido       |
| <input type="checkbox"/> Dor abdominal                                    | <input type="checkbox"/> Rash cutâneo  |
| <input type="checkbox"/> Diarréia   | <input type="checkbox"/> Outros: _____ |

**II - UTILIZAÇÃO DE VITAMINA B12**

Sim       Não      Tratamento para H. P.     Sim       Não

Tipo: \_\_\_\_\_

Motivo: \_\_\_\_\_

**III - CONTROLE DE CURA:**

**UREASE**

Tempo: 3 meses - Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Teste da Urease:  Sim     Não -

Valor: \_\_\_\_\_

**MMA**

Tempo: 3 meses - Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_( )  
Sim     Não

Valor: \_\_\_\_\_

**HCY**

Tempo: 3 meses - Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_( )  
Sim     Não

Valor: \_\_\_\_\_

**VITAMINA B12**

Tempo: 3 meses - Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_( )  
Sim     Não

Valor: \_\_\_\_\_

**ÁCIDO FÓLICO**

Valor: \_\_\_\_\_

OUTROS: \_\_\_\_\_

OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ANEXO E: CRITÉRIOS DE ATROFIA DO CORPO GÁSTRICO

Critérios de Atrofia do Corpo Gástrico com base na concentração sérica do do Pepsinogênio I e da Relação Pepsinogênio I/ Pepsinogênio II (PG I/PG II).

Considerou-se a presença de gastrite atrófica do corpo quando os valores de pepsinogênio I foram  $< 30 \mu\text{g/l}$  e a relação PG I/ PG II foi  $< 3,0$ .

Valores de pepsinogênio I  $< 25 \mu\text{g/l}$  foram considerados como grau avançado (moderado ou grave) de gastrite atrófica do corpo (SIPPONEN *et al.*, 2003). O valor da relação PG I/ PG II é  $< 2,5$  quando a gastrite atrófica do corpo é avançada (moderada ou grave) (VARIS *et al.*, 1979).

## ANEXO F: AVALIAÇÃO FUNCIONAL DOS PACIENTES

## REVISÃO DAS FUNÇÕES (AVALIAÇÃO FUNCIONAL)

## 1) AUTO-CUIDADO

FUNÇÃO	INDEPENDÊNCIA		DEPENDÊNCIA		
	Faz sozinho, totalmente-habitualmente corretamente atividade considerada		PARCIAL		COMPLETA
			Faz parcialmente ou não corretamente a atividade ou com dificuldade		0 idoso não faz a atividade considerada
		Ajuda não humana	Ajuda humana		
BANHAR-SE	Independente para entrar e sair da banheira.		Necessidade de ajuda com uso de órtese ou algum apoio material para o banho	Necessidade de ajuda humana para lavar algumas partes do corpo (costas; ou pernas) ou supervisão	Recebe assistência no banho para mais de uma parte do corpo (ou não se banha)
Usa adequadamente chuveiro, e/ou esponja					
VESTIR-SE	Independente para pegar a roupa e se vestir		Necessidade de apoio de algum objeto para se vestir.	Necessidade de ajuda humana Para pegar a roupa	Dependência total para vestir-se
Apanha a roupa do armário ou gaveta. veste-se e consegue despir-se. Exclui-se calçados.					
USO DO BANHEIRO	Independente para entrar ou sair do banheiro e se limpar.		Necessidade de ajuda com uso de órtese ou marreco, comadre e urinol para a higiene	Necessidade de ajuda humana para ir ao banheiro ou se limpar	Não vai ao banheiro para o processo de eliminação
Locomove-se até o banheiro, despe-se e limpa-se e arruma a roupa.					
TRANSFERIR-SE	Independente para entrar ou sair do leito, sentar e levantar da cadeira.		Necessidade de ajuda com uso de órtese ou de algum apoio material para realizar a transferência	Necessidade de ajuda humana parcial para entrar e sair do leito, sentar e levantar da cadeira	Não sai da cama. Restrito ao leito
Locomove-se da cama para a cadeira e vice-versa					
CONTROLE ESFINCTERIANO	Micção	Independência para controlar a micção	Necessidade de ajuda com uso regular de urinol, comadre ou marreco para controle da micção e defecação	Necessidade de ajuda humana para controle da micção ou usa fralda noturna somente	Dependência total com uso de cateteres ou fraldas
	Evacuação	independência para controlar os movimentos intestinais	Necessidade de ajuda com uso regular de urinol, comadre ou marreco para controle da micção e defecação	Necessidade de ajuda humana para controle da micção ou usa fralda noturna somente	Dependência total com uso de cateteres ou fraldas
ALIMENTAR-SE	Independente para pegar o alimento e levá-lo até a boca		Necessidade de ajuda com uso de adaptadores para a alimentação	Alimenta-se sozinho, exceto pela assistência para cortar carne e passar manteiga no pão	Dependência total para a alimentação
Consegue apanhar a comida do prato ou equivalente e levar à boca					

Modificado de KATZ *et al.* Gerontologist 1970; 10:20-30.

2) ATIVIDADES INSTRUMENTAIS DE VIDA DIÁRIA.

FUNÇÃO	INDEPENDÊNCIA	DEPENDÊNCIA	
	Faz sozinho. Totalmente, habitualmente corretamente atividade considerada	PARCIAL Faz parcialmente ou não corretamente a atividade ou com dificuldade	COMPLETA O idoso não faz a atividade considerada
Voce é capaz de preparar as sua refeições?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de tomar os seus remédios?	Sem ajuda: nas doses e horários corretos	Alguém prepara as drogas ou lembra o horário	Incapaz
Voce é capaz de fazer compras de mercearia, padaria, etc.?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de controlar o seu dinheiro?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de usar o telefone?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de arrumar a sua casa?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de lavar a sua roupa?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de fazer pequenos trabalhos domésticos?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de sair de casa sozinho para lugares mais distantes?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de sair de condução?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de pentear o cabelo?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz
Voce é capaz de cortar as unhas do pé?	Sem ajuda	Com alguma ajuda	Incapaz

Modificado de LAWTON & BRODYEN. Gerontologist 1969; 9:179-83.

## ANEXO G: CONVERSÃO DE VALORES DA VITAMINA B<sub>12</sub>

Conversão da Vitamina B<sub>12</sub> em pmol/l para pg/ml : **pmol x 1,36**

Conversão da Vitamina B<sub>12</sub> em pg/ml para pmol/l: **pg/ml x 0,738**

(HO *et al.*, 1999)

## ANEXO H: RESULTADOS INDIVIDUAIS DE PACIENTES ESTUDADOS

Paciente	Sexo M/F	Idade (anos)	Anti- corpo célula parietal	PG I			Relação PGI/PGII	Gastrina pg/ml		B <sub>12</sub> pg/ml			Homocisteína μmol/l		
				PG II μg/ml	A	D		A	D	A	3M	6M	A	3M	6M
1	M	85	+	9	13	13	1,4	361	236	100	169	173	109,5	23	34,2
2	F	66	+	8	6	5	0,7	630	394	133	136	158	17,6	17,8	22,6
3	F	69	+	6	69	51	11,5	37	35,5	169	257	199	33,6	13,4	20,3
4	F	72	+	32	80	43	2,5	41,4	43,3	240	269	243	39,3	15,7	20,7
5	F	82	+	65	190	80	2,9	230	71,6	148	275	308	52,5	23,1	39,6
6	F	60	+	7	13	17	7,8	507	247	263	277	385	35,7	16,4	24,8
7	F	72	+	24	210	162	8,3	45,2	57,4	254	313	210	13,5	17	18,3

Quadro 9.1: Quadro de resultados individuais de 7 pacientes estudados

### ANEXO I: RESULTADOS GERAIS ANTES E DEPOIS DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO: GRÁFICOS, FIGURAS E TABELAS.

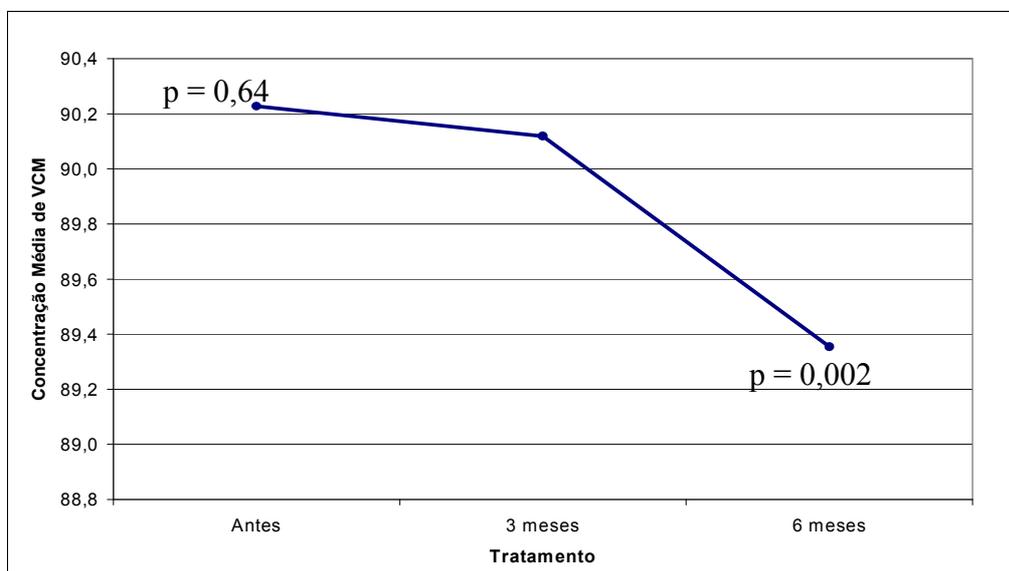


Gráfico 9.1: Comparação entre as concentrações médias do VCM antes e depois do tratamento (três e seis meses)

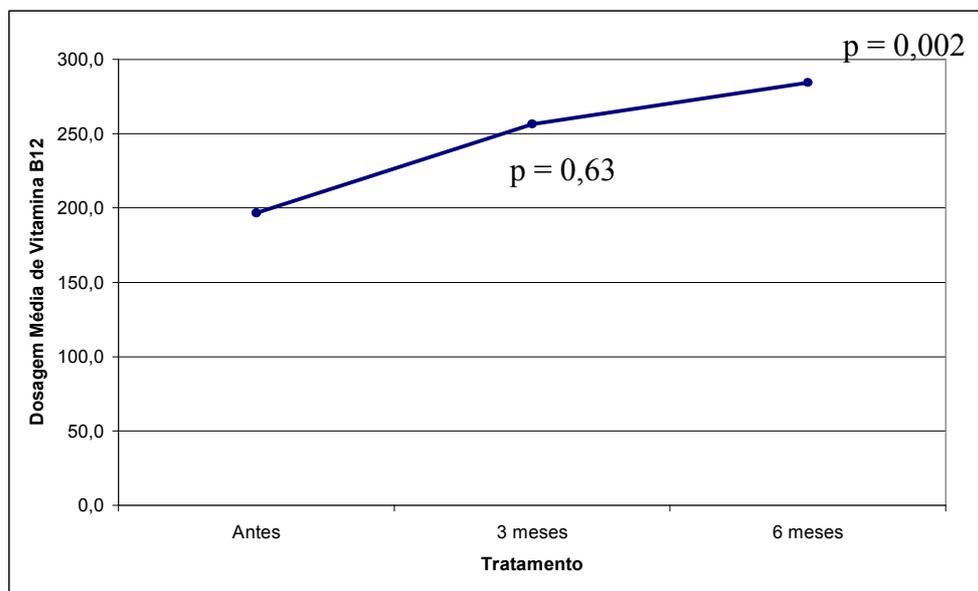


Gráfico 9.2 Comparação entre as concentrações médias da Vitamina B<sub>12</sub> antes e depois do tratamento (três e seis meses)

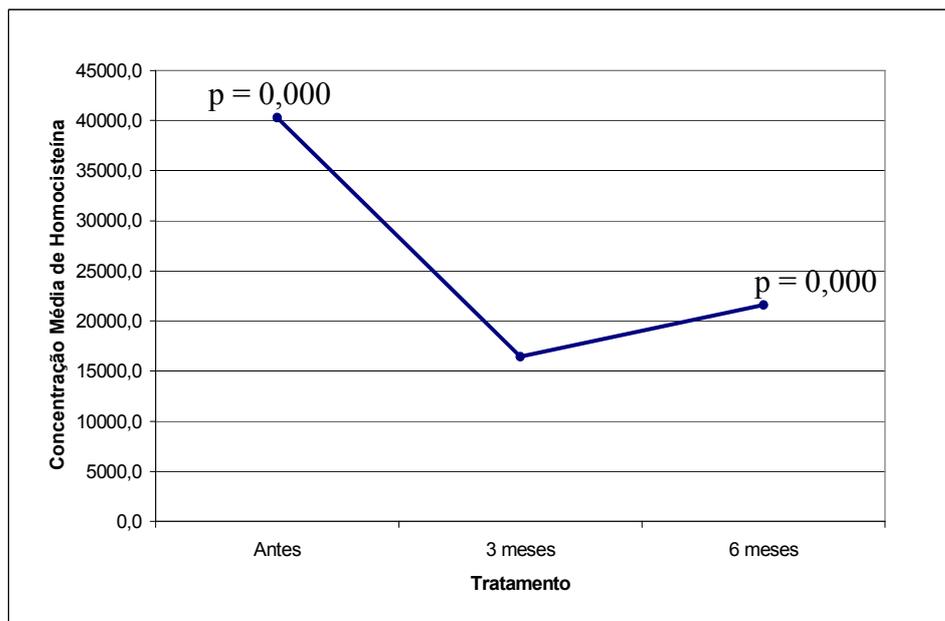


Gráfico 9.3: Comparação entre as concentrações médias da Homocisteína antes e depois do tratamento (três e seis meses)

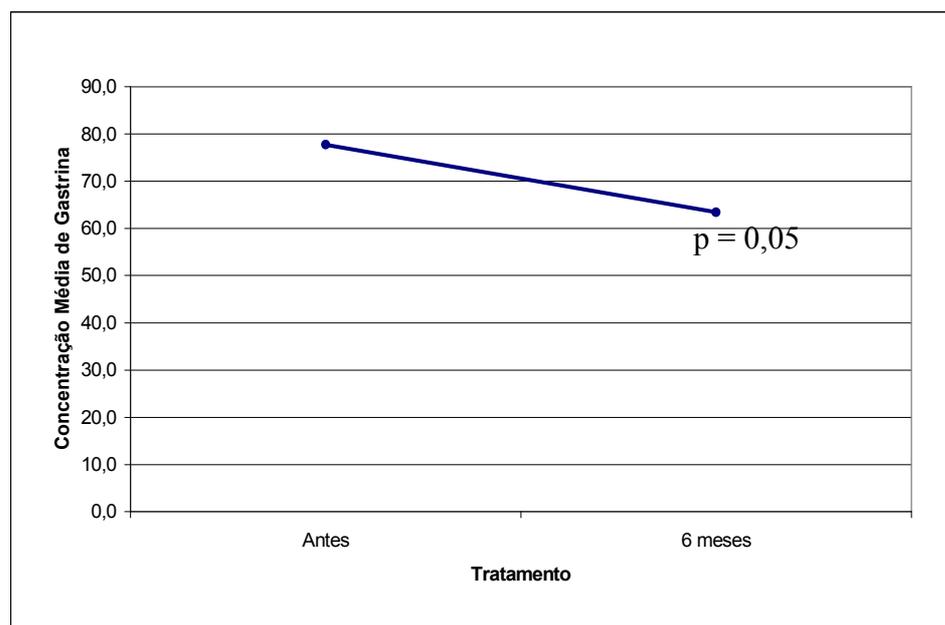


Gráfico 9.4: Comparação entre as concentrações médias da Gastrina antes e depois do tratamento (seis meses)

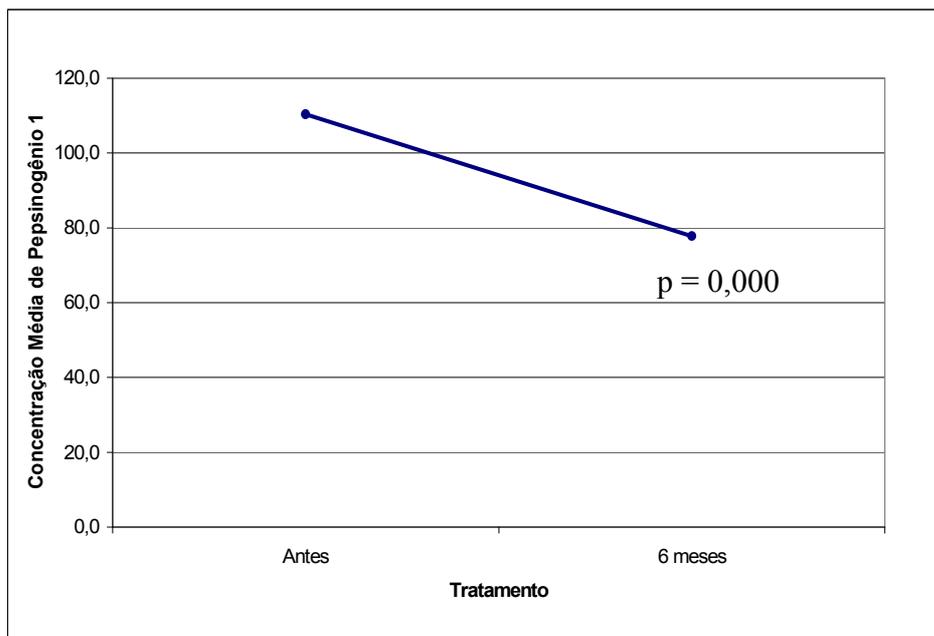
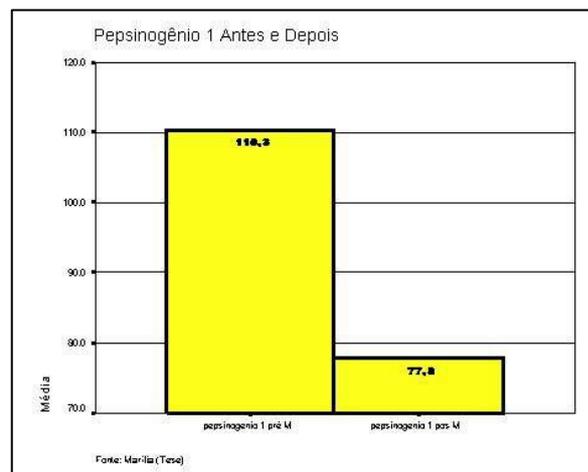
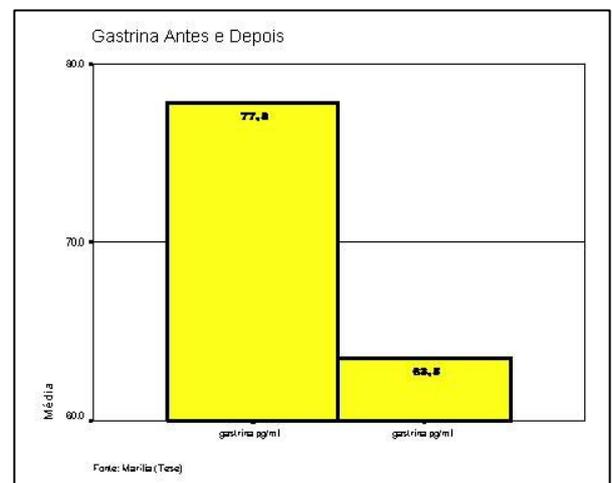
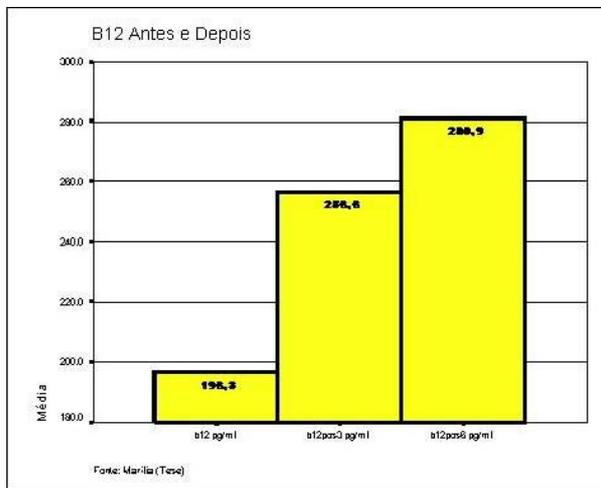
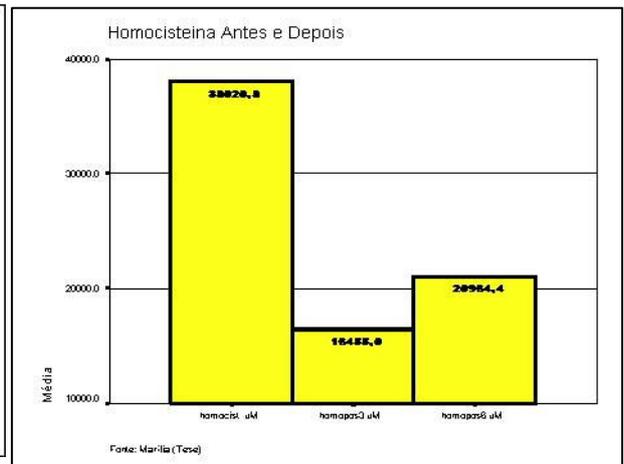
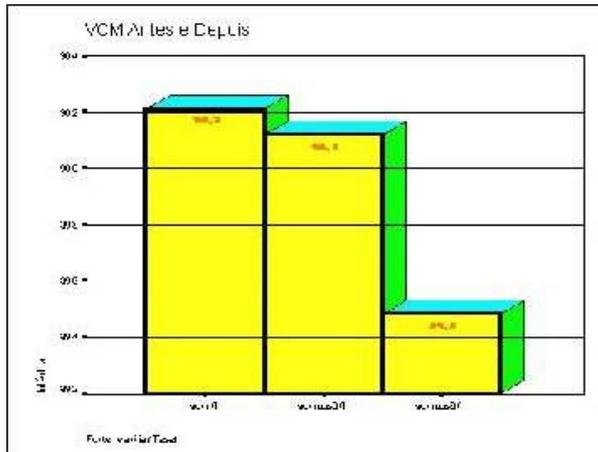


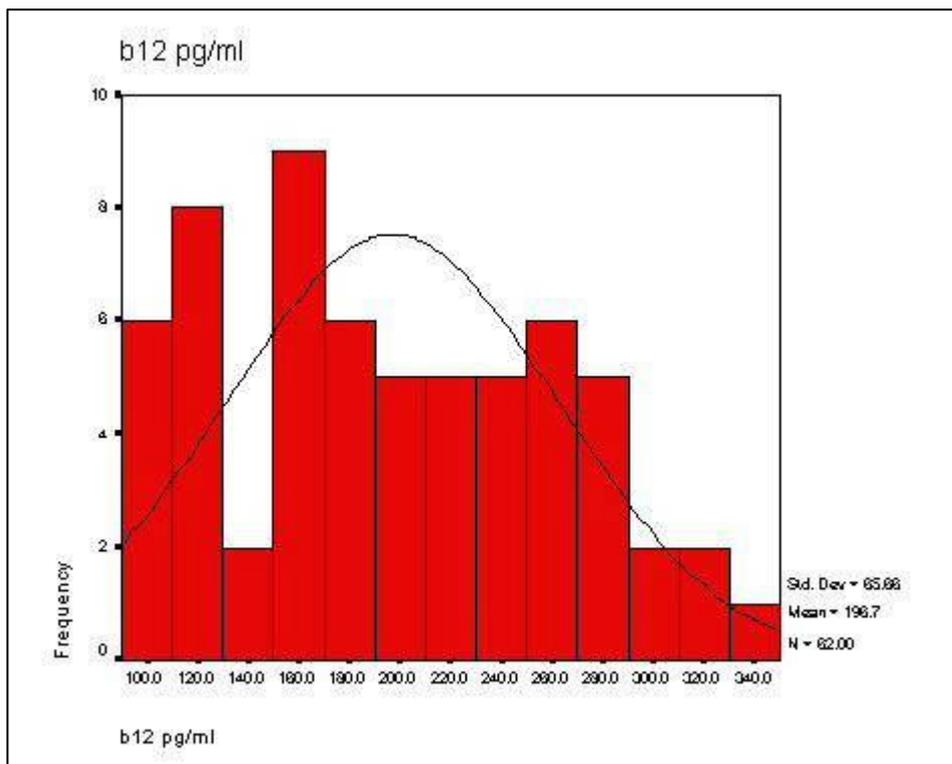
Gráfico 9.5: Comparação entre as concentrações médias do Pepsinogênio 1 antes e depois do tratamento (seis meses)

Primeiros resultados demonstrados com o uso do SPSS



B <sub>12</sub> pg/ml					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
<b>Valid</b>	100	4	6,5	6,5	6,5
	102	2	3,2	3,2	9,7
	114	1	1,6	1,6	11,3
	116	1	1,6	1,6	12,9
	118	1	1,6	1,6	14,5
	119	1	1,6	1,6	16,1
	121	1	1,6	1,6	17,7
	123	1	1,6	1,6	19,4
	124	1	1,6	1,6	21,0
	127	1	1,6	1,6	22,6
	136	1	1,6	1,6	24,2
	148	1	1,6	1,6	25,8
	153	1	1,6	1,6	27,4
	155	2	3,2	3,2	30,6
	157	1	1,6	1,6	32,3
	159	1	1,6	1,6	33,9
	160	1	1,6	1,6	35,5
	166	1	1,6	1,6	37,1
	168	1	1,6	1,6	38,7
	169	1	1,6	1,6	40,3
171	1	1,6	1,6	41,9	
185	3	4,8	4,8	46,8	
189	2	3,2	3,2	50,0	
190	1	1,6	1,6	51,6	
192	1	1,6	1,6	53,2	
196	1	1,6	1,6	54,8	

203	1	1,6	1,6	56,5
204	1	1,6	1,6	58,1
213	1	1,6	1,6	59,7
216	1	1,6	1,6	61,3
224	1	1,6	1,6	62,9
225	1	1,6	1,6	64,5
226	1	1,6	1,6	66,1
230	1	1,6	1,6	67,7
233	1	1,6	1,6	69,4
234	1	1,6	1,6	71,0
240	1	1,6	1,6	72,6
241	1	1,6	1,6	74,2
254	1	1,6	1,6	75,8
259	1	1,6	1,6	77,4
262	1	1,6	1,6	79,0
263	2	3,2	3,2	82,3
267	1	1,6	1,6	83,9
271	2	3,2	3,2	87,1
273	1	1,6	1,6	88,7
283	1	1,6	1,6	90,3
285	1	1,6	1,6	91,9
290	1	1,6	1,6	93,5
307	1	1,6	1,6	95,2
317	1	1,6	1,6	96,8
320	1	1,6	1,6	98,4
347	1	1,6	1,6	100,0
Total	62	100,0	100,0	



Frequencies

Statistics			
		B <sub>12</sub> pg/ml	pepsinogenio 1 pré Mcg/l
N	Valid	62	62
	Missing	0	0

Frequency Table

B <sub>12</sub> pg/ml					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	100	4	6,5	6,5	6,5
	102	2	3,2	3,2	9,7
	114	1	1,6	1,6	11,3
	116	1	1,6	1,6	12,9
	118	1	1,6	1,6	14,5
	119	1	1,6	1,6	16,1

121	1	1,6	1,6	17,7
123	1	1,6	1,6	19,4
124	1	1,6	1,6	21,0
127	1	1,6	1,6	22,6
136	1	1,6	1,6	24,2
148	1	1,6	1,6	25,8
153	1	1,6	1,6	27,4
155	2	3,2	3,2	30,6
157	1	1,6	1,6	32,3
159	1	1,6	1,6	33,9
160	1	1,6	1,6	35,5
166	1	1,6	1,6	37,1
168	1	1,6	1,6	38,7
169	1	1,6	1,6	40,3
171	1	1,6	1,6	41,9
185	3	4,8	4,8	46,8
189	2	3,2	3,2	50,0
190	1	1,6	1,6	51,6
192	1	1,6	1,6	53,2
196	1	1,6	1,6	54,8
203	1	1,6	1,6	56,5
204	1	1,6	1,6	58,1
213	1	1,6	1,6	59,7
216	1	1,6	1,6	61,3
224	1	1,6	1,6	62,9
225	1	1,6	1,6	64,5
226	1	1,6	1,6	66,1
230	1	1,6	1,6	67,7
233	1	1,6	1,6	69,4

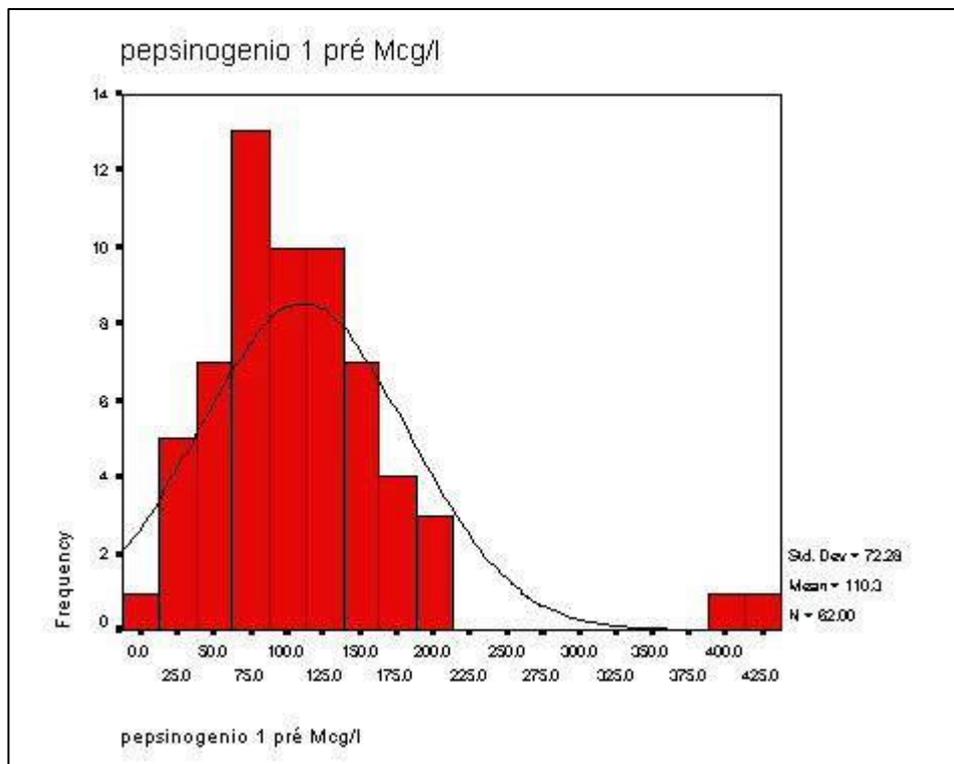
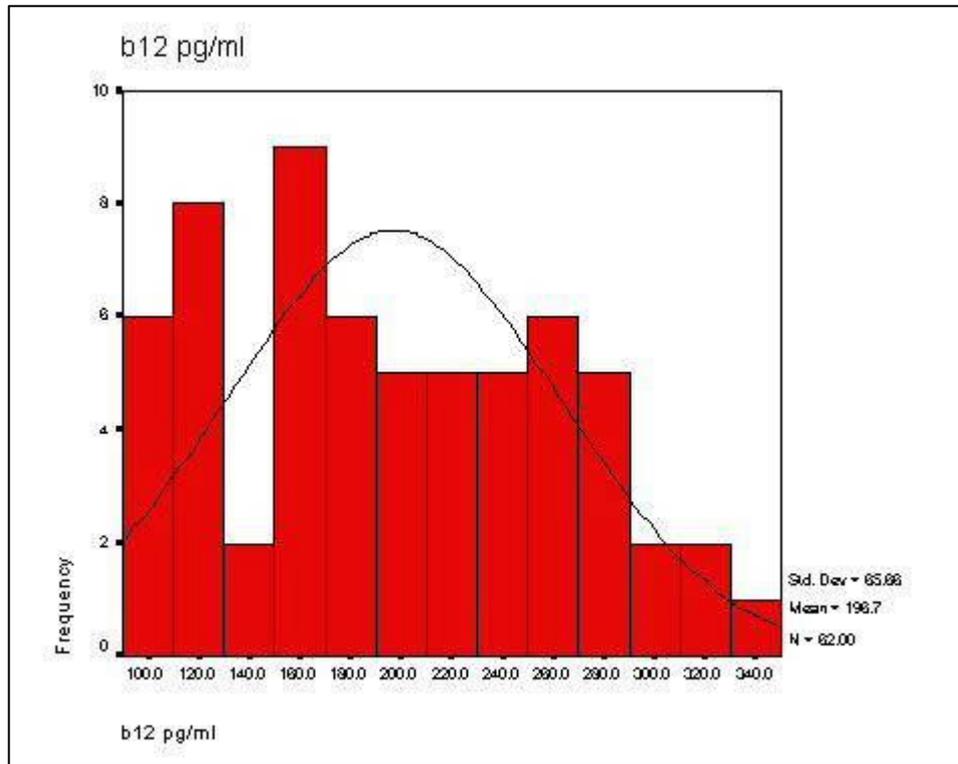
234	1	1,6	1,6	71,0
240	1	1,6	1,6	72,6
241	1	1,6	1,6	74,2
254	1	1,6	1,6	75,8
259	1	1,6	1,6	77,4
262	1	1,6	1,6	79,0
263	2	3,2	3,2	82,3
267	1	1,6	1,6	83,9
271	2	3,2	3,2	87,1
273	1	1,6	1,6	88,7
283	1	1,6	1,6	90,3
285	1	1,6	1,6	91,9
290	1	1,6	1,6	93,5
307	1	1,6	1,6	95,2
317	1	1,6	1,6	96,8
320	1	1,6	1,6	98,4
347	1	1,6	1,6	100,0
Total	62	100,0	100,0	

pepsinogenio 1 pré Mcg/l					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	6,0	1	1,6	1,6	1,6
	13,0	2	3,2	3,2	4,8
	25,0	1	1,6	1,6	6,5
	31,0	1	1,6	1,6	8,1
	37,0	1	1,6	1,6	9,7
	40,0	1	1,6	1,6	11,3
	43,0	1	1,6	1,6	12,9
	49,0	2	3,2	3,2	16,1

51,0	2	3,2	3,2	19,4
55,0	1	1,6	1,6	21,0
64,0	1	1,6	1,6	22,6
69,0	1	1,6	1,6	24,2
71,0	1	1,6	1,6	25,8
73,0	1	1,6	1,6	27,4
77,0	1	1,6	1,6	29,0
79,0	1	1,6	1,6	30,6
80,0	1	1,6	1,6	32,3
81,0	1	1,6	1,6	33,9
82,0	1	1,6	1,6	35,5
84,0	1	1,6	1,6	37,1
85,0	1	1,6	1,6	38,7
86,0	1	1,6	1,6	40,3
87,0	1	1,6	1,6	41,9
91,0	1	1,6	1,6	43,5
93,0	2	3,2	3,2	46,8
94,0	1	1,6	1,6	48,4
99,0	1	1,6	1,6	50,0
102,0	1	1,6	1,6	51,6
103,0	1	1,6	1,6	53,2
104,0	1	1,6	1,6	54,8
107,0	1	1,6	1,6	56,5
109,0	1	1,6	1,6	58,1
116,0	1	1,6	1,6	59,7
118,0	1	1,6	1,6	61,3
120,0	1	1,6	1,6	62,9
121,0	1	1,6	1,6	64,5
124,0	2	3,2	3,2	67,7

125,0	1	1,6	1,6	69,4
126,0	1	1,6	1,6	71,0
132,0	1	1,6	1,6	72,6
137,0	1	1,6	1,6	74,2
138,0	2	3,2	3,2	77,4
142,0	1	1,6	1,6	79,0
144,0	1	1,6	1,6	80,6
151,0	2	3,2	3,2	83,9
155,0	1	1,6	1,6	85,5
164,0	1	1,6	1,6	87,1
172,0	1	1,6	1,6	88,7
173,0	1	1,6	1,6	90,3
185,0	1	1,6	1,6	91,9
189,0	1	1,6	1,6	93,5
190,0	1	1,6	1,6	95,2
210,0	1	1,6	1,6	96,8
400,0	1	1,6	1,6	98,4
416,0	1	1,6	1,6	100,0
Total	62	100,0	100,0	

Histogram



Frequencies

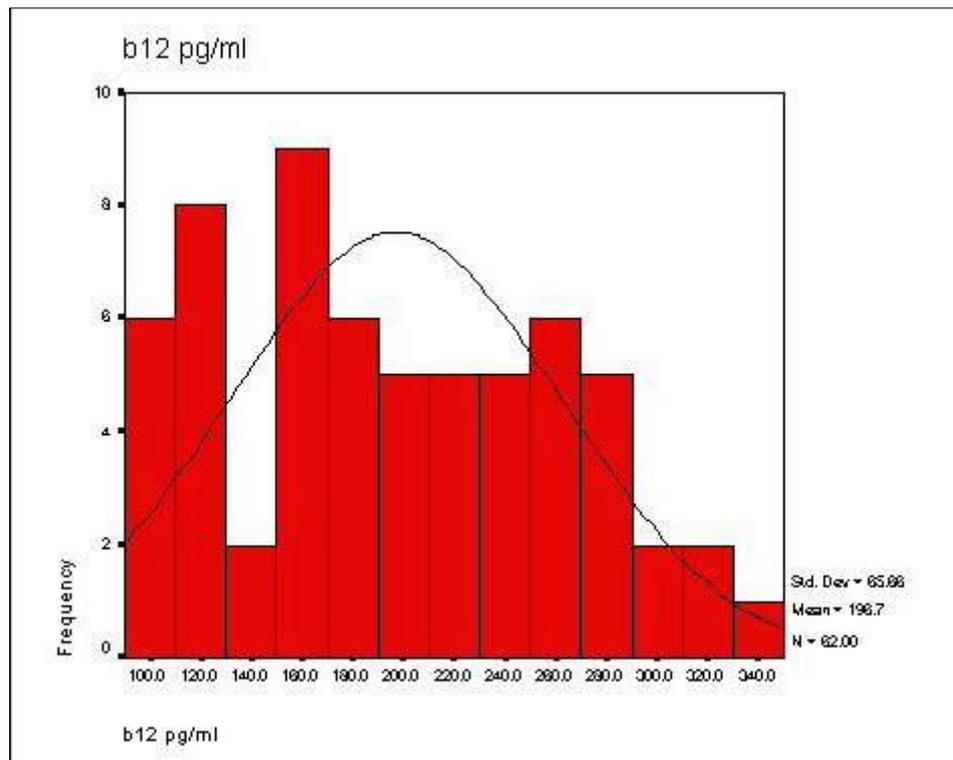
Statistics B <sub>12</sub> pg/ml		
N	Valid	62
	Missing	0
Mean		196,69
Median		189,50
Mode		100
Range		247
Minimum		100
Maximum		347
Percentiles	25	145,00
	50	189,50
	75	255,25

B <sub>12</sub> pg/ml					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	100	4	6,5	6,5	6,5
	102	2	3,2	3,2	9,7
	114	1	1,6	1,6	11,3
	116	1	1,6	1,6	12,9
	118	1	1,6	1,6	14,5
	119	1	1,6	1,6	16,1
	121	1	1,6	1,6	17,7
	123	1	1,6	1,6	19,4
	124	1	1,6	1,6	21,0
	127	1	1,6	1,6	22,6
	136	1	1,6	1,6	24,2
	148	1	1,6	1,6	25,8

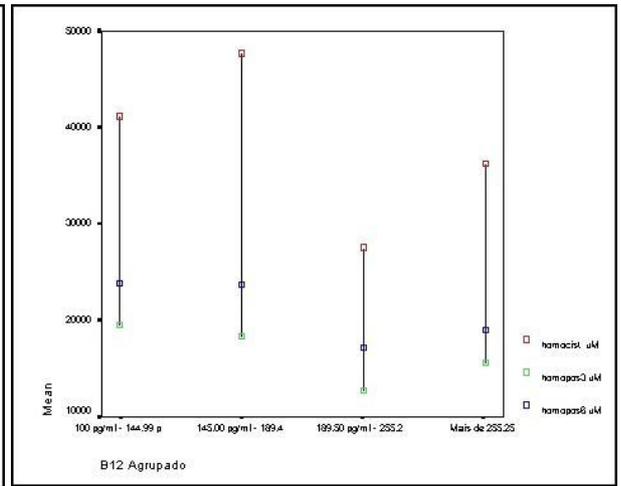
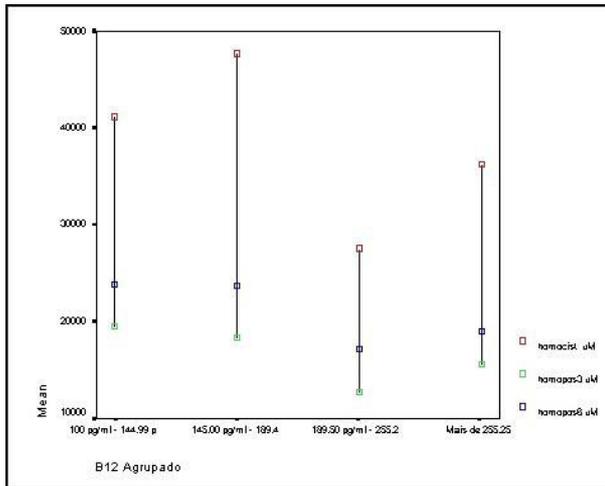
153	1	1,6	1,6	27,4
155	2	3,2	3,2	30,6
157	1	1,6	1,6	32,3
159	1	1,6	1,6	33,9
160	1	1,6	1,6	35,5
166	1	1,6	1,6	37,1
168	1	1,6	1,6	38,7
169	1	1,6	1,6	40,3
171	1	1,6	1,6	41,9
185	3	4,8	4,8	46,8
189	2	3,2	3,2	50,0
190	1	1,6	1,6	51,6
192	1	1,6	1,6	53,2
196	1	1,6	1,6	54,8
203	1	1,6	1,6	56,5
204	1	1,6	1,6	58,1
213	1	1,6	1,6	59,7
216	1	1,6	1,6	61,3
224	1	1,6	1,6	62,9
225	1	1,6	1,6	64,5
226	1	1,6	1,6	66,1
230	1	1,6	1,6	67,7
233	1	1,6	1,6	69,4
234	1	1,6	1,6	71,0
240	1	1,6	1,6	72,6
241	1	1,6	1,6	74,2
254	1	1,6	1,6	75,8
259	1	1,6	1,6	77,4
262	1	1,6	1,6	79,0

263	2	3,2	3,2	82,3
267	1	1,6	1,6	83,9
271	2	3,2	3,2	87,1
273	1	1,6	1,6	88,7
283	1	1,6	1,6	90,3
285	1	1,6	1,6	91,9
290	1	1,6	1,6	93,5
307	1	1,6	1,6	95,2
317	1	1,6	1,6	96,8
320	1	1,6	1,6	98,4
347	1	1,6	1,6	100,0
Total	62	100,0	100,0	

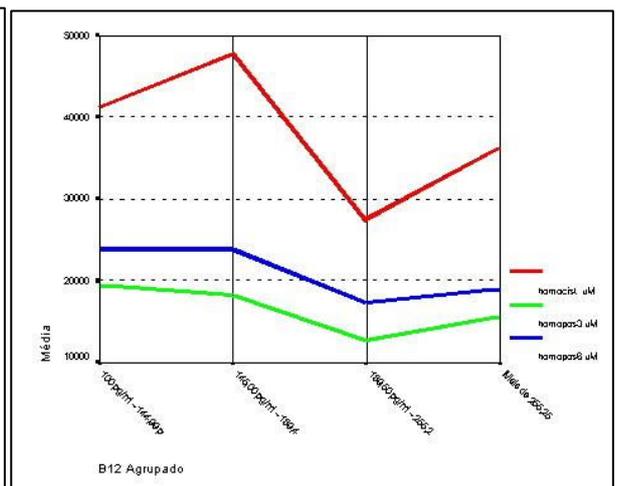
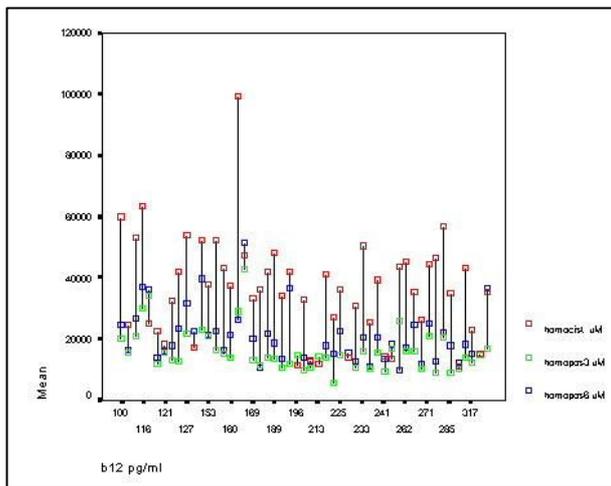
Graph



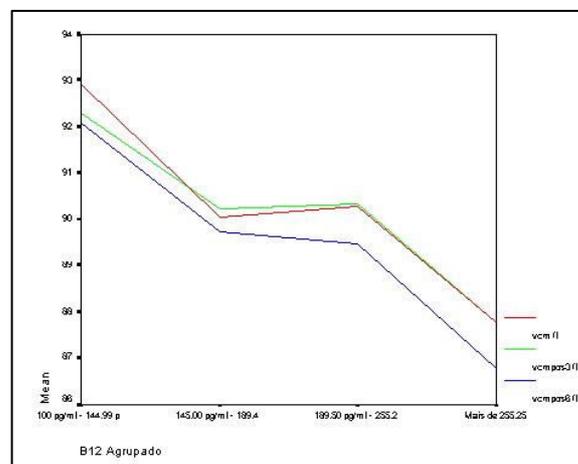
Graph



Graph



Graph



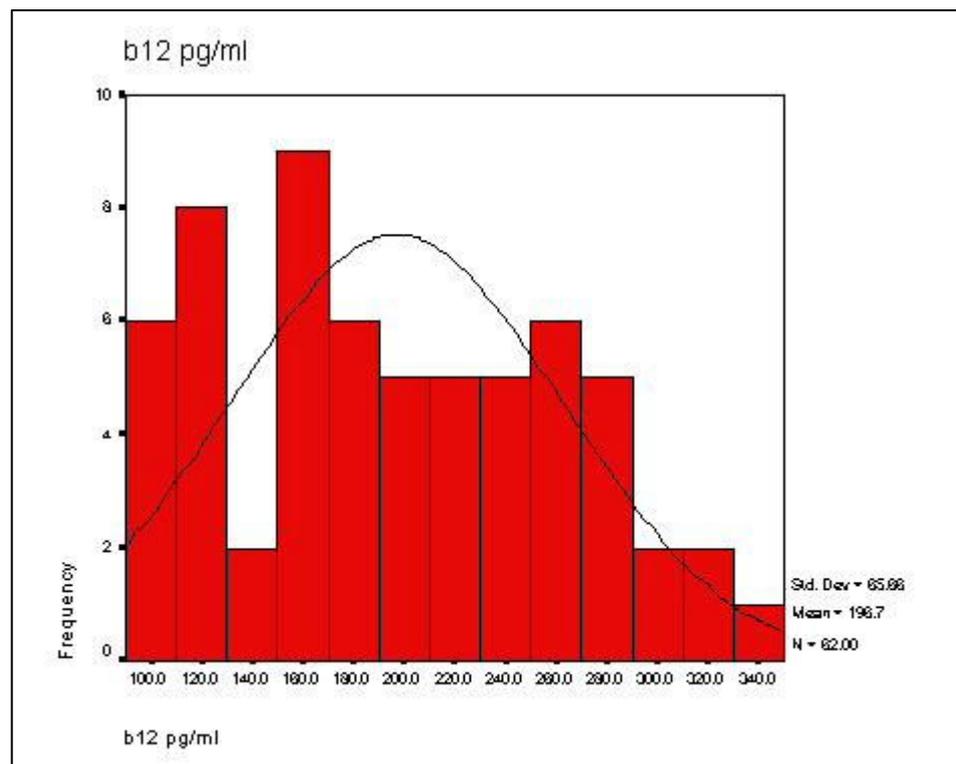
Frequencies

Statistics B <sub>12</sub> pg/ml		
N	Valid	62
	Missing	0
Mean		196,69
Median		189,50
Mode		100
Range		247
Minimum		100
Maximum		347
Percentiles	25	145,00
	50	189,50
	75	255,25

B <sub>12</sub> pg/ml					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	100	4	6,5	6,5	6,5
	102	2	3,2	3,2	9,7
	114	1	1,6	1,6	11,3
	116	1	1,6	1,6	12,9
	118	1	1,6	1,6	14,5
	119	1	1,6	1,6	16,1
	121	1	1,6	1,6	17,7
	123	1	1,6	1,6	19,4
	124	1	1,6	1,6	21,0
	127	1	1,6	1,6	22,6
	136	1	1,6	1,6	24,2
	148	1	1,6	1,6	25,8

153	1	1,6	1,6	27,4
155	2	3,2	3,2	30,6
157	1	1,6	1,6	32,3
159	1	1,6	1,6	33,9
160	1	1,6	1,6	35,5
166	1	1,6	1,6	37,1
168	1	1,6	1,6	38,7
169	1	1,6	1,6	40,3
171	1	1,6	1,6	41,9
185	3	4,8	4,8	46,8
189	2	3,2	3,2	50,0
190	1	1,6	1,6	51,6
192	1	1,6	1,6	53,2
196	1	1,6	1,6	54,8
203	1	1,6	1,6	56,5
204	1	1,6	1,6	58,1
213	1	1,6	1,6	59,7
216	1	1,6	1,6	61,3
224	1	1,6	1,6	62,9
225	1	1,6	1,6	64,5
226	1	1,6	1,6	66,1
230	1	1,6	1,6	67,7
233	1	1,6	1,6	69,4
234	1	1,6	1,6	71,0
240	1	1,6	1,6	72,6
241	1	1,6	1,6	74,2
254	1	1,6	1,6	75,8
259	1	1,6	1,6	77,4
262	1	1,6	1,6	79,0

263	2	3,2	3,2	82,3
267	1	1,6	1,6	83,9
271	2	3,2	3,2	87,1
273	1	1,6	1,6	88,7
283	1	1,6	1,6	90,3
285	1	1,6	1,6	91,9
290	1	1,6	1,6	93,5
307	1	1,6	1,6	95,2
317	1	1,6	1,6	96,8
320	1	1,6	1,6	98,4
347	1	1,6	1,6	100,0
Total	62	100,0	100,0	



anativi 0=neg 1=leve 2=mod 3=grave					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	leve	15	24,2	24,6	24,6
	moderada	34	54,8	55,7	80,3
	acentuada	12	19,4	19,7	100,0
	Total	61	98,4	100,0	
Missing	System	1	1,6		
Total		62	100,0		
aninfla 0=neg 1=leve 2=moderada 3=grave					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	leve	6	9,7	9,8	9,8
	moderada	32	51,6	52,5	62,3
	acentuada	23	37,1	37,7	100,0
	Total	61	98,4	100,0	
Missing	System	1	1,6		
Total		62	100,0		
corinfla 0=neg 1=leve 2=mod 3=grave					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	ausente	2	3,2	3,3	3,3
	leve	12	19,4	20,0	23,3
	moderada	31	50,0	51,7	75,0
	acentuada	15	24,2	25,0	100,0
	Total	60	96,8	100,0	
Missing	System	2	3,2		
Total		62	100,0		

corativi 0=neg 1=leve 2=mod 3=grave					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	ausente	4	6,5	6,7	6,7
	leve	14	22,6	23,3	30,0
	moderada	36	58,1	60,0	90,0
	acentuada	6	9,7	10,0	100,0
	Total	60	96,8	100,0	
Missing	System	2	3,2		
Total		62	100,0		
0=ausente 1=presente					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	ausente	55	88,7	90,2	90,2
	presente	6	9,7	9,8	100,0
	Total	61	98,4	100,0	
Missing	System	1	1,6		
Total		62	100,0		
0=ausente 1=presente					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	ausente	33	53,2	54,1	54,1
	presente	28	45,2	45,9	100,0
	Total	61	98,4	100,0	
Missing	System	1	1,6		
Total		62	100,0		

0=ausente 1=presente					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	ausente	56	90,3	91,8	91,8
	presente	5	8,1	8,2	100,0
	Total	61	98,4	100,0	
Missing	System	1	1,6		
Total		62	100,0		

0=ausente 1=presente					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	ausente	35	56,5	57,4	57,4
	presente	26	41,9	42,6	100,0
	Total	61	98,4	100,0	
Missing	System	1	1,6		
Total		62	100,0		

Means

Report homocist uM			
cag 0=neg 1=pos	Mean	N	Std. Deviation
neg	47561,05	21	26089,79
pos	36543,90	41	26455,69
Total	40275,52	62	26641,30

Frequency Table

0=masc 1=fem					
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	masc	11	17,7	17,7	17,7
	fem	51	82,3	82,3	100,0
	Total	62	100,0	100,0	
cag 0=neg 1=pos					

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	neg	21	33,9	33,9	33,9
	pos	41	66,1	66,1	100,0
	Total	62	100,0	100,0	

Descriptives

Descriptive Statistics					
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
anos	62	60	86	71,10	7,03
Valid N (listwise)	62				

Graph

