



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
DIAGNÓSTICO GENÉTICO E MOLECULAR**

**Análise dos genótipos do gene CYP2C19 em pacientes dispépticos funcionais
infectados por *Helicobacter pylori*.**

Dissertação de Mestrado
apresentada como requisito
para obtenção do título de
Mestre em Diagnóstico
Genético e Molecular.

Marília Corrêa Osório

Orientador: Dr. Daniel Simon

Canoas
2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genética Molecular Humana do Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular da Universidade Luterana do Brasil, subvencionado pela Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, pelo inestimável apoio em todos os meus projetos.

Em especial ao meu pai, no qual tenho minha inspiração profissional.

Ao meu filho, pelo que representa em todos os âmbitos da minha vida.

Ao meu orientador Daniel Simon, pela dedicação e constante disponibilidade.

Aos autores do estudo clínico HEROES, Luis Edmundo Mazzoleni, Carlos Fernando Francesconi e Guilherme Becker Sander.

E às colegas de laboratório, pela agradável convivência e contribuição na parte prática deste trabalho.

ÍNDICE

Resumo.....	5
Abstract.....	6
INTRODUÇÃO.....	7
Dispepsia funcional.....	8
<i>Helicobacter pylori</i>	10
<i>Helicobater pylori</i> e dispepsia funcional.....	12
Farmacogenética.....	15
JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
Indivíduos.....	21
Critérios de inclusão.....	21
Critérios de exclusão.....	22
Variáveis clínicas analisadas nos pacientes.....	23
Análises genéticas.....	23
Aspectos éticos.....	24
Análises estatísticas.....	25
RESULTADOS.....	26
DISCUSSÃO.....	32
PERSPECTIVAS.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
ANEXO 1.....	45
Delineamento do estudo e randomização.....	45
Avaliação das variáveis endoscópicas.....	46
Avaliação da <i>Helicobacter pylori</i> e das variáveis histológicas.....	47
Avaliação dos sintomas e do uso de medicações.....	48
Seguimento de variáveis clínicas.....	48
Medidas de desfechos.....	48
ANEXO 2.....	50

RESUMO

A etiologia da dispepsia funcional é desconhecida na maioria dos pacientes. Presume-se que a causa desta patologia possa estar relacionada com a infecção pelo *Helicobacter pylori*, e a terapia de erradicação da bactéria têm sido amplamente usada no manejo destes pacientes. A terapia mais utilizada consiste na administração conjunta de um inibidor de bomba de prótons (PPI) e de dois antibióticos e é chamada de terapia tripla. A metabolização dos PPIs e sua farmacocinética dependem das enzimas do citocromo P450 do fígado, principalmente a S-mefenitoína hidroxilase, que é codificada pelo gene CYP2C19. Falhas no tratamento de erradicação do *H. pylori* têm sido relacionadas a polimorfismos do gene CYP2C19. Este trabalho tem como objetivo verificar as freqüências alélicas e genótípicas do gene CYP2C19 em uma amostra de pacientes brasileiros, diagnosticados como dispépticos funcionais, participantes de um estudo clínico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre ainda em andamento (“Evolução dos sintomas da dispepsia funcional após a erradicação do *Helicobacter pylori* em pacientes com diferentes achados endoscópicos: ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo, com 12 meses de seguimento **HEROES** Trial [**H**elicobacter **E**rradication **R**elief **O**f Dyspeptic **S**ymptoms]”). Os polimorfismos CYP2C19*2 (NCBI ref. SNP ID rs4244285) e CYP2C19*3 (NCBI ref. SNP ID rs4986893) foram analisados em 202 pacientes dispépticos funcionais, positivos para a infecção pelo *H. pylori*. Os genótipos foram determinados através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) seguida de clivagem com enzimas de restrição. A verificação dos fragmentos gerados pela clivagem foi realizada por eletroforese em gel de poliacrilamida. Os resultados obtidos demonstraram uma freqüência maior do genótipo do metabolizador rápido (HomEM, 78,8%), seguido do genótipo heterozigoto (HetEM, 18,7%). Apenas 2,5% dos pacientes apresentaram genótipo homozigoto de metabolização lenta (PM). As freqüências genótípicas do CYP2C19 na população estudada foram semelhantes às descritas em outros estudos em populações caucasóides. A finalização do projeto HEROES abrirá possibilidade de correlacionarmos os resultados dos genótipos encontrados com o sucesso da terapia de erradicação do *H. pylori* e com a sintomatologia da doença.

ABSTRACT

The etiology of functional dyspepsia is unknown in most patients. It is assumed that the cause for this pathology may be related with an infection by *Helicobacter pylori*, and the bacteria eradication therapy has been widely used in the management of these patients. The most used therapy consists of the combined administration of a proton-pump inhibitor (PPI) and two antibiotics, and is named triple therapy. The PPI metabolism and its pharmacokinetics depend on the cytochrome P450 liver enzymes, mainly S-mephenytoin hydroxylase, which is encoded by the CYP2C19 gene. Failures in the *H. pylori* eradication treatment have been related to CYP2C19 gene polymorphisms. This work aims at investigating the allele and genotype frequencies of the CYP2C19 gene in a sample of Brazilian patients, diagnosed as functional dyspeptics taking part in an ongoing clinical trial at Hospital de Clínicas de Porto Alegre (“Evolution of functional dyspepsia symptoms after the eradication of *Helicobacter pylori* in patients with different endoscopic findings: a randomized controlled trial, 12-month follow-up, double-blind, placebo-controlled **HEROES** Trial [**H**elicobacter **E**radication **R**elief **O**f Dyspeptic **S**ymptoms]”). The polymorphisms CYP2C19*2 (NCBI ref. SNP ID rs4244285) and CYP2C19*3 (NCBI ref. SNP ID rs4986893) were analyzed in 202 functional dyspeptic patients, positive for *H. pylori* infection. The genotypes were determined by Polymerase Chain Reaction (PCR) followed by restriction fragment length polymorphism assay. The restriction length fragments were checked by electrophoresis in polyacrylamide gel. The results obtained showed a higher frequency of the extensive metabolizer genotype (HomEM, 78.8%), followed by the heterozygous variant genotype (HetEM, 18.7%). Only 2.5% of the patients showed poor metabolizer (PM) homozygous variant genotype. The genotype frequencies for CYP2C19 in the population under study were similar to those described in other studies in Caucasian populations. The completion of the HEROES project will enable us to correlate the results found for the genotypes, with the success of the *H. pylori* eradication therapy and with the symptomatology of the disease.

INTRODUÇÃO

Dispepsia Funcional

Um número significativo de pacientes com dispepsia crônica ou recorrente não demonstram, na endoscopia, uma causa focal ou estrutural. Estes pacientes são classificados como acometidos de dispepsia funcional (DF) e pertencem a um grupo de manejo extremamente difícil (Cecil, 2001). A dispepsia funcional é considerada uma das desordens gastrointestinais funcionais mais prevalentes, e é definida como a presença de sintomas que têm origem na região gastroduodenal, na ausência de qualquer doença orgânica, sistêmica ou metabólica, que justifique os sintomas. Os pacientes dispépticos apresentam pelo menos um desses sintomas: plenitude pós-prandial, saciedade precoce, queimação ou dor epigástrica e, os sintomas devem estar presentes pelo menos seis meses antes do diagnóstico (Tack *et al.*, 2006).

Frequentemente, a dispepsia é associada a sintomas clássicos de refluxo, em particular pirose (Tack *et al.*, 2006). A afecção mais importante a excluir é a úlcera péptica devido à possibilidade de tratamento definitivo. Infelizmente, o padrão dos sintomas diferencia, de modo insatisfatório, a úlcera péptica da dispepsia funcional. Na prática clínica, a úlcera péptica deve ser excluída por meio de endoscopia digestiva alta, antes de efetuar um diagnóstico definitivo de dispepsia funcional (Cecil, 2001). Além disso, os critérios diagnósticos de dispepsia ainda apresentam-se evasivos, assim como suas qualificações têm sido interpretadas diferentemente pelos médicos e pelos pacientes (Keohane e Quigley, 2007). Nos últimos 20 anos, a definição de dispepsia funcional apresentou maiores mudanças a partir de 1988, quando estudos geraram mudanças no entendimento da categorização e das bases fisiopatológicas da doença (Geeraerts e Tack, 2008).

Em 1991, após uma abrangente pesquisa na literatura, especialistas estabeleceram critérios para a definição da dispepsia funcional, o Consenso de Roma I. A partir de então, a dispepsia funcional passou a ser definida como dor ou desconforto no abdômen superior. O desconforto se refere a um sintoma subjetivo o qual o paciente não interpreta como dor e se plenamente avaliado,

pode incluir vários sintomas específicos. Estes podem ser descritos como plenitude no abdômen superior, saciedade precoce, inchaço ou náusea (Talley *et al.*, 1999). O Consenso de Roma I também incluiu alguns sintomas de refluxo como prováveis características da DF. Posteriormente, o Consenso de Roma II, excluiu pacientes com sintomas predominantes de azia, assim como com sintomas da síndrome do intestino irritável (Talley *et al.*, 1999). Estabeleceu-se também uma subdivisão da dispepsia funcional em três tipos: (1) dispepsia do tipo ulcerosa, caracterizada pela predominância de dor ou desconforto na região epigástrica; (2) dispepsia motora, que apresenta características clínicas sugestivas de distúrbios da motilidade da região gastrointestinal. O desconforto é agravado pela alimentação e é comumente associado a náuseas, vômitos e saciedade precoce; (3) indeterminado: pacientes com sintomas que não se enquadram nas categorias acima (Talley *et al.*, 1999). O Consenso de Roma III redefiniu a dispepsia funcional como a presença de dor ou queimação epigástrica, plenitude pós-prandial ou saciedade precoce na ausência de doença orgânica subjacente. A verificação concomitante com outras desordens gástricas tais como doença de refluxo gastroesofágico e síndrome do intestino irritável não excluem o diagnóstico de dispepsia funcional. O Roma III subdividiu a dispepsia funcional de acordo com os sintomas, em dois grupos: (1) síndrome do desconforto pós-prandial (PDS, do inglês, Postprandial Distress Syndrome), caracterizada pela sensação de peso no estômago e de saciedade precoce, e (2) síndrome de dor epigástrica (EPS, do inglês Epigastric Pain Syndrome), caracterizada pela dor e sensação de queimação na região epigástrica (Tack *et al.*, 2006; Geeraerts e Tack, 2008).

As queixas relacionadas ao trato digestivo representam um dos relatos mais comuns na prática clínica diária. Dados da década de 80 mostram que, a cada ano, 70 de cada mil consultas médicas são devidas à dispepsia, representando 71% das consultas em gastroenterologia (Oliveira *et al.*, 2006).

Dados precisos relacionados à prevalência da dispepsia funcional são difíceis de serem calculados, devido à falta de uniformidade no diagnóstico da patologia. El-Serag e Talley (2004) observaram, em um estudo de revisão sistemática incluindo publicações de diversos países, que a prevalência da dispepsia varia entre 10% a 40% quando usado um critério mais abrangente de

definição da doença que inclui sintomas como azia e regurgitação. Quando a dispepsia é definida somente pela presença de dor abdominal a prevalência cai para 5% a 12%.

Estudos de base populacional, no Brasil, sobre o tema são raros. Um estudo transversal realizado no Brasil por Oliveira *et al.* (2006) com 3.934 indivíduos moradores da cidade de Pelotas-RS, entre os anos de 1999 e 2000, utilizando os critérios do Consenso Roma I e Roma II, demonstrou que a prevalência da dispepsia funcional utilizando o Consenso Roma I foi de 44% e de dispepsia freqüente 27%. A análise utilizando o Consenso Roma II reporta a prevalência de 16% para a dispepsia funcional e 8% de dispepsia freqüente. O conhecimento da prevalência da dispepsia funcional pode auxiliar os serviços de saúde a se prepararem para o atendimento de pacientes. Apesar de benigna, a dispepsia funcional está incluída no diagnóstico diferencial de patologias graves, para quais os serviços de saúde podem designar recursos, sem gastos desnecessários em seu processo de diagnóstico (Oliveira *et al.*, 2006). Um estudo de base populacional de abrangência nacional avaliou a prevalência de dispepsia não investigada, em todo o Brasil, em 1510 indivíduos (Sander *et al.*, 2007). Eles foram submetidos a uma entrevista, por telefone, na qual se aplicou um questionário de sintomas dispépticos. Através de amostras foram avaliados indivíduos de 223 cidades brasileiras, que representaram 83,5 milhões de habitantes, ou aproximadamente 51% da população de todo o país. A idade média da população avaliada foi de 37,6 anos e a prevalência de sintomas dispépticos, segundo os critérios Roma III, foi de 40,9%. A prevalência em homens foi de 33,2% e nas mulheres de 45,6%. Indivíduos mais jovens, do sexo feminino e com menor escolaridade apresentaram maiores prevalências de dispepsia.

O processo fisiopatológico da dispepsia funcional é pouco conhecido. Esta doença é considerada como sendo parte de desordens funcionais do trato gastrointestinal (Feldman *et al.*, 1998). Podemos citar como possíveis causas das manifestações dos sintomas da DF a infecção pelo *Helicobacter pylori*, distúrbios relacionados à produção de ácido gástrico, comprometimento da função motora e sensitiva do estômago e intestino, distúrbios do sistema nervoso central além da dieta e fatores ambientais (Cecil, 2001). Em indivíduos com menos de 55 anos de idade, na maioria dos países ocidentais, o câncer é

uma forma extremamente rara de dispepsia. De modo global, o câncer gástrico é detectado apenas em cerca de 1% dos pacientes com dispepsia de instalação recente. Entretanto, é importante considerar a possibilidade de neoplasia como causa de dispepsia, visto que o diagnóstico tardio pode afetar adversamente o prognóstico (Cecil, 2001).

A primeira linha de diagnóstico da dispepsia é a endoscopia do trato digestivo alto. Permite visualização direta de úlceras pépticas, esofagites erosivas e câncer gástrico, com grande acuracidade no diagnóstico. Por meio da endoscopia também são colhidas amostras de tecido para biópsia e determinação histológica da presença do *H. pylori*. As desvantagens deste exame incluem um custo inicial alto e o risco, porém baixo, de complicações inerentes ao procedimento. Em comparação com radiografia contrastada com bário, possui indiscutível aumento na confiabilidade (Health and Public Policy Committee, American College of Physicians, 1985).

Em 2004, o Instituto Nacional de Excelência Clínica (NICE) em manejo da dispepsia em adultos, recomendou que, como primeira linha de cuidados, fosse administrado aos pacientes dispépticos tratamento empírico com inibidores de bomba de prótons ou que fosse adotada a conduta de testar e tratar da bactéria, visto que existem várias evidências de melhor custo-benefício. NICE também propôs que o manejo inicial de pacientes com predomínio de dor epigástrica ou de pacientes com predomínio de azia deveria ser o mesmo, apesar de levar em conta de que ambos os sintomas não são indicativos, necessariamente, desta mesma patologia (National Institute for Clinical Excellence, 2004).

Helicobacter pylori

Em 1983, Warren e Marshall, dois investigadores australianos, reportaram o isolamento de microorganismos espirais em biópsias da mucosa de pacientes com gastrite crônica e com úlcera péptica. Estes microorganismos foram denominados *Campylobacter pyloridis* (Schulman e Moel, 1983) e, posteriormente, receberam o nome de *Helicobacter pylori* (Marshall, 1983). O *H. pylori* é um microorganismo microaerofílico Gram-negativo, com crescimento lento e alta motilidade (Marshall, 1983). Possui como característica bioquímica

produzir urease em abundância. Esta enzima parece ser crucial para o início da colonização e é um importante marcador indireto da presença da bactéria (Marshall, 1983). A infecção pelo *H. pylori* pode ser diagnosticada por testes realizados a partir de biópsias obtidas na endoscopia, considerados métodos de referência para o diagnóstico e monitoramento do tratamento de erradicação. Os mais utilizados são a histologia, a cultura e testes rápidos da urease (de Boer, 1997). Como a urease somente é produzida pelo *H. pylori*, a presença de atividade para esta enzima na biópsia pode ser considerada uma prova da presença da infecção (de Laat e de Boer, 2001). Este teste possui a vantagem de ter grande reprodutibilidade e menor custo quando comparado à cultura e à histologia (de Laat e de Boer, 2001). Também podem ser aplicados para o diagnóstico, testes sorológicos, antígeno fecal, teste expiratório da uréia e testes moleculares (de Boer, 1997).

A bactéria *H. pylori* possui distribuição universal, sendo considerada a causa de infecção crônica mais freqüente em humanos (Cave, 1996; 1997). Estima-se que cerca de 60% da população global estejam acometidos por este microorganismo (Cave, 1996; 1997). Os principais fatores de risco são o status socioeconômico da família durante a infância, a ausência de água encanada e as condições sanitárias precárias (Fiedorek *et al.*, 1991; Mendall *et al.*, 1992). A infecção pelo *H. pylori* ocorre primariamente durante a infância; somente 0,3% a 0,5% dos adultos se tornam infectados ao ano (Parsonnet *et al.*, 1992). A taxa de incidência em países em desenvolvimento é significativamente maior quando comparada aos países industrializados. No Brasil, Oliveira *et al.* (1994) registraram a incidência de 4% ao ano em crianças de Belo Horizonte. Caso não tratada, a infecção pode permanecer por décadas e, provavelmente, por toda a vida do indivíduo. Esses dados são relevantes, pois estudos demonstram que o tempo de duração da infecção está diretamente relacionado ao desenvolvimento de patologias associadas, particularmente, a doença ulcerativa péptica e o carcinoma gástrico (Bourke *et al.*, 1996; Logan, 1999). Várias evidências apontam para o papel do *H. pylori* na patogênese do carcinoma gástrico. Em 1994, a bactéria foi classificada como carcinógeno do tipo 1 para câncer de estômago pela International Agency for Research on Cancer (Kodaira *et al.*, 2002).

***Helicobacter pylori* e dispepsia funcional**

O papel do *H. pylori* na dispepsia funcional ainda não está definido (Talley, 2001; O'Morain, 2006). Vários estudos clínicos de grande porte avaliaram os resultados, a longo prazo, da terapia de erradicação do *H. pylori* com resultados mistos (Cecil, 2001). Alguns estudos demonstram não haver evidências de uma relação causal entre *H. pylori* e dispepsia funcional, somado ao fato de que ainda não se tenha um consenso entre os pesquisadores acerca do mecanismo fisiopatológico da dispepsia (Delaney, 1995; Cinar *et al.*, 2004). Moayyedi *et al.* (2001), concluíram em artigo de revisão sistemática que a terapia de erradicação do *H. pylori* reduz de forma efetiva os sintomas em pacientes com dispepsia funcional. O impacto nos sintomas apresentou-se estatisticamente significativo, porém o efeito do tamanho foi pequeno, e a maioria dos pacientes dispépticos *H. pylori* positivos ainda apresentaram os sintomas depois da erradicação da bactéria. Os autores ainda consideram o tratamento vantajoso em relação ao custo-benefício dependendo da disposição dos definidores de políticas públicas em saúde em pagar para curar a dispepsia. A presença do *H. pylori* é fortemente associada com gastrite antral, porém a presença de gastrite e duodenite não é preditiva da presença de sintomas dispépticos (Delaney, 1995). Por outro lado, outros autores sugerem uma relação causal entre infecção pelo *H. pylori* e dispepsia funcional, uma vez que encontraram em seus estudos um decréscimo nos sintomas nos pacientes que erradicaram a bactéria (Malfertheiner *et al.*, 2003).

Gisbert *et al.* (2004) realizaram um estudo prospectivo com pacientes *H. pylori* positivos com o objetivo de verificar se a terapia de erradicação representava maior alívio dos sintomas dispépticos em relação a terapia de controle com inibidores da bomba de prótons (PPIs, do inglês pump proton inhibitor) e se a cura da infecção significava a melhora dos sintomas de dispepsia. Os resultados demonstraram não haver diferenças em relação à melhora dos sintomas entre o grupo cujo sucesso da terapia de erradicação foi obtido, e o grupo que não erradicou a bactéria após ser submetido ao mesmo tratamento. A conclusão dos autores foi de que a cura da infecção pelo *H. pylori* não pode ser considerada como a principal conduta preditiva da melhora dos sintomas de dispepsia funcional. Com resultados semelhantes, Koskenpato

et al. (2001) estudaram 151 pacientes dispépticos infectados pelo *H. pylori* randomizados e também não verificaram melhora dos sintomas entre os pacientes tratados com antibióticos e PPIs e os que receberam placebo e PPIs.

Por outro lado, estudos descrevem que os sintomas dispépticos também decresceram em pacientes sem erradicação de *H. pylori* (Moayyedi *et al.*, 2001; Talley, 2003; Cinar *et al.*, 2004). Percebe-se, então, um desacordo em relação ao benefício da erradicação da bactéria em relação à melhora dos sintomas do paciente; embora estudos em grandes populações demonstrem que o *H. pylori* é encontrado com frequência em pacientes com dispepsia funcional (O'Morain, 2006). Além disso, como a úlcera péptica regride e reincide, existe a possibilidade de que, no momento da endoscopia a úlcera não esteja presente e o paciente seja diagnosticado com dispepsia não-ulcerosa embora a bactéria seja detectada (McNamara *et al.*, 2000). O tratamento para erradicação do *H. pylori* resulta em cura permanente da úlcera péptica enquanto 60%-80% dos pacientes reincidem da doença no período de um ano se tratados somente com drogas anti-secretórias (Lee *et al.*, 2000).

A primeira linha de terapia para a erradicação do *H. pylori* consiste na administração de PPI ou citrato de bismuto ranitidina, associados aos antibióticos amoxicilina e claritromicina (Malfertheiner *et al.*, 2002; Guliter *et al.*, 2005; O'Morain, 2006). Terapias combinando os antibióticos e PPI são as mais usadas, especialmente em pacientes com úlcera, por resultar em um rápido alívio sintomático, melhora endoscópica, além de efeitos bacteriostáticos (Hunt, 1996). Os componentes dos PPIs e suas propriedades anti-secretórias facilitam a eficácia dos antibióticos de várias formas. Eles reduzem a labilidade em pH ácido destes medicamentos, aumentando suas concentrações no suco gástrico e também a sensibilidade do *H. pylori* aos antibióticos (Erah *et al.*, 1997; Scott *et al.*, 1998). Claritromicina, um antibiótico macrolídico, possui um espectro antimicrobiano similar ao da eritromicina, porém é melhor absorvido, possui melhor estabilidade ao ácido e maior índice de penetração. A amoxicilina é frequentemente utilizada como antibiótico de escolha na erradicação do *H. pylori* por não desenvolver resistência. Embora o metronidazol também seja utilizado na combinação com outros agentes na erradicação da bactéria, o seu amplo uso em outros processos infecciosos como os ginecológicos, acarretou em um aumento da resistência do *H. pylori* para este antibiótico. Este

fenômeno consiste em uma das maiores causas de falha na terapia de erradicação do *H. pylori* e o mecanismo exato pelo qual isto ocorre permanece não esclarecido (Yeh *et al.*, 2002). Devido às vantagens mencionadas e ao índice relativamente baixo de efeitos colaterais em comparação aos regimes contendo metronidazol ou citrato de bismuto ranitidina, a combinação PPI-amoxicilina-claritromicina constitui a terapia de escolha mais utilizada na maioria dos países (Crean *et al.*, 1994).

Com relação ao tempo de terapia, estudos sugerem um curso de tratamento de pelo menos 10 dias, além de atentarem para o cumprimento do regime de forma adequada pelo paciente. Fatores como fumo e baixo grau de instrução educacional contribuiriam para um baixo índice de sucesso do tratamento (O'Morain, 2006). Os principais efeitos colaterais observados são náusea, vômito, diarreia, dor epigástrica além de casos de resistência aos antimicrobianos (Guliter *et al.*, 2005).

A conduta de testar e tratar o *H. pylori* em uma grande variedade de doenças do trato gastrointestinal alto, como a dispepsia funcional, constitui um bom exemplo de aplicação de análises econômicas nas intervenções médicas, levando em conta que possuem um considerável impacto na quantidade de consultas médicas, aumento de gastos em atendimentos e manutenção de qualidade de vida destes pacientes (Chang, 2004; Moayyedi, 2007). Estima-se que 500 milhões de libras são gastos pelo sistema de saúde na Inglaterra ao ano, com dispepsia, e que 450.000 pacientes façam endoscopia do trato gastrointestinal alto no mesmo período (Delaney e Moayyedi, 2006). A relação custo-benefício para o manejo da dispepsia tem sido amplamente revista em diversos estudos randomizados (Moayyedi *et al.*, 2001; Delaney *et al.*, 2008). Delaney *et al.* (2006) apresentaram um modelo econômico que considerou que a estratégia de testar a presença da bactéria *H. pylori* e posteriormente tratá-la traria mais benefícios ao paciente e apresentaria vantagens econômicas. Os autores descreveram uma razão de custo-efetividade incremental de 63 libras esterlinas por mês livre dos sintomas por 5 anos, quando comparado com o uso intermitente de inibidores de bomba de prótons. Dentro desta perspectiva, outros estudos consideraram, através de seus resultados, que a opção/decisão de testar e tratar a bactéria consiste em uma importante alternativa ao procedimento endoscópico precoce neste tipo de paciente (Moayyedi, 2007).

Entretanto, em quais circunstâncias “testar e tratar” apresenta-se como a primeira linha de conduta mais adequada para esta patologia ainda não está clara (Delaney *et al.*, 2008). Os mesmos autores verificaram em um estudo randomizado, que incluiu 699 participantes, que não houve diferenças significativas relacionadas aos sintomas dispépticos entre o grupo de pacientes testados e tratados para o *H. pylori* e o grupo de pacientes nos quais administrou-se apenas supressão ácida (Delaney *et al.*, 2008). Outro estudo realizado na Dinamarca, randomizou participantes dispépticos em dois grupos. Aos primeiros 222 pacientes foram administrados PPIs e o segundo cujo aos 250 pacientes além da administração inicial de PPIs, foram testados e tratados para o *H. pylori*. Assim como na pesquisa anterior, não foram encontradas diferenças significativas nos sintomas e nos custos. Por outro lado, verificou-se que em um subgrupo de pacientes infectados com o *H. pylori* e que erradicaram a bactéria após tratamento, apresentaram durante menos dias os sintomas da dispepsia, quando comparados com pacientes não infectados (Jarbol *et al.*, 2006). Tanto Delaney *et al.* (2008) quanto Jarbol *et al.* (2006), chegaram a resultados semelhantes a outros grupos de estudo que utilizaram placebo no tratamento de erradicação dos pacientes *H. pylori* positivos, encontrando um benefício significativo em favor do tratamento de erradicação associada à supressão ácida (Stevens e Baxter, 2001; Chiba *et al.*, 2002). Isto ocorre devido à necessidade do uso continuado de supressão ácida para alívio dos sintomas, na terapia com PPIs, enquanto a terapia de erradicação exige um curso de uma semana de antibióticos que reduziriam os sintomas dispépticos por até um ano (Moayyedi *et al.*, 2003). Moayyedi (2007) sugere que a terapia de erradicação do *H. pylori* traz benefícios econômicos a longo prazo, por beneficiar não somente pacientes diagnosticados como dispépticos funcionais, assim como pacientes com dispepsia não diagnosticada e portadores de úlcera péptica.

Farmacogenética

Variabilidade na resposta às drogas é observada em todas as áreas da medicina. Na Inglaterra, foi estimado que aproximadamente 7% dos pacientes são afetados por efeitos adversos aos medicamentos. Estes fenômenos

resultam na necessidade de 400 leitos em hospitais e custam aproximadamente 380 milhões de libras por ano (Wiffen *et al.*, 2002). Em 1994, cerca de 2.216.000 de pacientes hospitalizados nos Estados Unidos sofreram algum efeito colateral grave, resultando em aproximadamente 106.000 mortes, fazendo com que efeitos colaterais a medicamentos constituíssem entre a quarta e sexta causa de morte nos Estados Unidos (Lazarou *et al.*, 1998). Percebe-se que o regime usado de “uma dose para todos” não é o ideal para os pacientes assim como não é custo-efetivo para os serviços de saúde. Com múltiplas estratégias de tratamento farmacológico disponíveis para várias doenças, a farmacogenômica relaciona-se à procura de bases hereditárias para diferenças inter-individuais na respostas aos fármacos com o objetivo fundamental de personalizar a escolha da terapia, reduzir a incidência de efeitos adversos e aumentar a eficácia do tratamento (Evans e McLeod, 2003; Marsh e McLeod, 2004, 2006).

Fatores farmacogenéticos operam tanto em níveis farmacocinéticos como farmacodinâmicos, os dois componentes da curva dose-resposta de uma droga. A influência de fatores genéticos na resposta às drogas foi associada primariamente com enzimas metabolizadoras destas substâncias. Está evidente que a maioria das enzimas metabolizadoras são expressas geneticamente em formas variadas, o que determina alterações em suas propriedades funcionais (Shah, 2005). Existe grande variabilidade no DNA entre os indivíduos. Polimorfismos de um único nucleotídeo equivalem a mais de 90% das variações genéticas no genoma humano. O restante das variações é causado por inserções e deleções, repetições *in tandem* e microssatélites (Marsh e McLeod, 2006). Com a conclusão do projeto genoma humano e a primeira fase do mapa de haplótipos desenvolvido a partir do Hap Map Consortium, uma riqueza de informações acerca destes polimorfismos tornou-se disponível publicamente em banco de dados (Lin e Wu, 2005; Marsh e McLeod, 2006). Existem variantes em alguns genes reconhecidamente relevantes para a resposta farmacológica. As variantes ocorrem em genes que são o alvo das drogas ou em enzimas envolvidas na metabolização do fármaco ou ainda um de seus principais metabólitos (Goldstein *et al.*, 2003).

A farmacogenômica constitui um ganho na medicina personalizada, uma mudança na mentalidade de “uma droga para todos” para “a droga certa para o

paciente certo na dose e tempo corretos” (Marsh e McLeod, 2006). Isto não significa que cada paciente será tratado diferentemente de qualquer outro, uma condição economicamente inviável. Ao invés disso, pacientes serão divididos em grupos por constituição genética e outros marcadores que possibilitam prever condição da doença e resultado de tratamento. Para a terapia farmacológica é necessário avaliar todo o leque de resposta ou toxicidade. Pode-se esperar uma tendência de crescimento na relação de lançamento de drogas novas com marcadores diagnósticos, na sua maioria, genéticos, para melhorar o resultado de tratamento para pacientes individualizados – característica da medicina personalizada (Sadée e Dai, 2005).

Conforme descrito anteriormente, protocolos de tratamento para a erradicação do *H. pylori* consistem no uso de um inibidor de bomba de prótons combinado com dois antibióticos (Malfertheiner *et al.*, 2002; Guliter *et al.*, 2005). A metabolização dos PPIs e sua farmacocinética dependem das enzimas do citocromo P450 do fígado, principalmente a S-mefenitoína hidroxilase, que é codificada pelo gene CYP2C19 (Furuta *et al.*, 2004). Diferenças no metabolismo dos PPIs podem resultar de variações alélicas do gene CYP2C19. Diversos alelos foram descritos, mas dois deles são os mais estudados (CYP2C19*2 e *3). Estes alelos foram associados com uma deficiência na atividade enzimática quando comparados com o alelo do tipo selvagem CYP2C19*1. O alelo CYP2C19*2 é resultado da uma substituição de um único par de base (guanina-adenina) no éxon 5 do CYP2C19, que causa um sítio de processamento (*splice*) aberrante e conseqüente formação de uma proteína não funcional (de Moraes *et al.*, 1994; Sapone *et al.*, 2003). O alelo CYP2C19*3 é resultado da substituição de uma adenina por uma guanina na posição 636 do éxon 4 do gene, que resulta em um códon de parada prematuro (de Moraes *et al.*, 1994). A análise conjunta da presença dos alelos CYP2C19*2 e CYP2C19*3 permite a classificação dos indivíduos em três genótipos (Sapone *et al.*, 2003). O genótipo mais comum é o metabolizador rápido em homozigose (HomEM, do inglês homozygous extensive metabolizer) que possui dois alelos normais (não mutados). HomEMs produzem a enzima em abundância e metabolizam o PPI em níveis maiores limitando a biodisponibilidade da droga o que resulta na diminuição de sua eficácia anti-secretória. O genótipo heterozigoto para o metabolizador rápido (HetEM, do

inglês heterozigous extensive metabolizer) contém um alelo normal e um alelo mutado, resultando no comprometimento da produção da enzima e portanto uma metabolização mais lenta do PPI. No genótipo homozigoto de metabolização lenta (PM, do inglês poor metabolizer) ambos os alelos são mutados, o que resulta em níveis ainda mais baixos de metabolização do PPI garantindo maior biodisponibilidade e um subsequente aumento da eficácia antissecretória (Oh *et al.*, 2009, Zhao *et al.*, 2008). A distribuição demográfica dos genótipos varia entre as diferentes etnias e entre continentes. Frequências menores de PM foram encontradas em populações caucasianas (1,8%-2,8%) e negróides (3,8%) quando comparadas às asiáticas (14,0%-14,3%), especialmente na população japonesa (21%) (Desta *et al.*, 2002). Não surpreende, portanto, que grande parte das investigações acerca da dependência dos genótipos CYP2C19 nos níveis de erradicação do *H. pylori* seja realizada no Japão (Zhao *et al.*, 2008, Furuta *et al.*, 2001). Conforme já citado anteriormente, vários estudos demonstraram que os índices de cura da infecção pelo *H. pylori* são menores nos indivíduos com alelos do tipo selvagem para o CYP2C19 (*wt/wt*, indivíduos HomEM) comparados com variantes homozigóticas (*mt/mt*, indivíduos PM) ou heterozigóticas (*mt/wt*, indivíduos HetEM) (Furuta *et al.*, 2001; Isomoto *et al.*, 2003). Entretanto, ainda não está claro em que momento estes achados são relevantes somente para a população asiática ou em regimes de eficácia limitada como a terapia dupla (PPI/amoxicilina) (Schwab *et al.*, 2004). Além disso, devido ao fato de que em pacientes caucasóides o genótipo heterozigótico (HetEm) do gene CYP2C19 apresenta-se com muito maior frequência (aproximadamente 30%) do que o genótipo PM (aproximadamente 3%), este panorama genômico pode ser clinicamente relevante (Schwab *et al.*, 2004).

Dado que a secreção ácida do estômago influencia na propriedade dos antibióticos (Goddard *et al.*, 1996; Erah *et al.*, 1997), as diferenças relatadas nas propriedades dos PPIs relacionadas aos polimorfismos no CYP2C19 sugerem que a genotipagem poderia ser usada como ferramenta na otimização da terapia de erradicação do *H. pylori*. Dickson e Stuard (2003) reportaram que a eficácia anti-secretória dos vários tipos de inibidores de bomba de prótons é afetada pelo polimorfismo no gene CYP2C19, em vários graus, com o omeprazol sendo mais afetado e não encontrando efeitos do polimorfismo

sobre o lansoprazol e rabeprazol. Padol *et al.* (2006) realizaram uma meta-análise, na qual foram incluídos 17 estudos que tratavam do papel do genótipo CYP2C19 na terapia de erradicação do *H. pylori* em diversas patologias relacionadas ao trato gastrointestinal. Estes autores verificaram que na análise de todas as taxas de erradicação descritas nos artigos, independentemente do PPI usado, não houve diferenças significativas entre os genótipos PM e HetEM. Por outro lado, foram percebidas diferenças significativas entre os genótipos HomEM e PM. Em uma sub-análise dos diversos PPIs utilizados, percebeu-se que terapias duplas e triplas com o omeprazol favoreceram de forma significativa um aumento nos índices de erradicação do *H. pylori* em indivíduos PM comparados a HetEM, sendo esta diferença ainda maior quando comparados aos genótipos HomEM (Padol *et al.*, 2006).

O impacto do polimorfismo no CYP2C19 nos índices de erradicação do *H. pylori* nas populações estudadas na meta-análise de Padol *et al.* (2006) demonstrou ser clinicamente relevante em pacientes que utilizam o omeprazol como componente da terapia dupla e tripla. A escolha do PPI e de sua respectiva dose, de acordo com as variações do genótipo CYP2C19, apresenta-se como um possível instrumento em uma abordagem mais prática para garantir o sucesso da terapia.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

A dispepsia funcional é uma doença de grande impacto médico e econômico, devido à sua alta prevalência na população. As causas desta patologia, assim como o manejo dos pacientes, são objetos de controvérsia entre especialistas. A bactéria *H. pylori* é apontada como uma das causas da dispepsia e sua erradicação, em terapias combinando antibióticos e inibidores da bomba de prótons, é aplicada, na prática clínica, para o alívio dos sintomas e de forma preventiva de outras complicações gástricas. Acredita-se que as variações nos índices de erradicação do *H. pylori* entre os pacientes, dentre outros fatores, possam estar relacionados com a variabilidade genotípica no gene CYP2C19, o que influencia diretamente na metabolização e, portanto, na farmacocinética dos medicamentos.

Dentro deste contexto, este estudo tem como objetivos:

- descrever as frequências alélicas e genotípicas do gene CYP2C19 em pacientes com dispepsia funcional.
- correlacionar os genótipos do gene CYP2C19 com o sucesso da terapia de erradicação do *H. pylori*.
- correlacionar os genótipos do gene CYP2C19 com a melhora nos sintomas clínicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Indivíduos

Foram analisados pacientes com dispepsia funcional, participantes do estudo clínico “Evolução dos sintomas da dispepsia funcional após a erradicação do *Helicobacter pylori* em pacientes com diferentes achados endoscópicos: ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo, com 12 meses de seguimento **HEROES** Trial (**H**elicobacter **E**rradication **R**elief **O**f **D**yspeptic **S**ymptoms)” do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA; Protocolo nº 05-422 do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação). Este projeto possui como autores Luis Edmundo Mazzoleni, Carlos Fernando Francesconi e Guilherme Becker Sander.

Os pacientes do estudo foram avaliados no momento de inclusão (basal), 4, 8 e 12 meses após término dos medicamentos da pesquisa. O presente estudo encontra-se em andamento, com o acompanhamento dos últimos pacientes previsto para junho de 2009. Nesta data será realizada a revelação do tratamento prescrito a cada paciente. Desta forma parte dos procedimentos clínicos descritos a seguir já foram realizadas em alguns pacientes, mas não na totalidade da amostra (principalmente as análises realizadas aos 12 meses).

Conforme determinado no estudo clínico do HCPA os critérios de inclusão e exclusão foram os seguintes:

Critérios de inclusão: foram incluídos pacientes com mais de 18 anos de idade, que preenchiam os critérios clínicos de dispepsia funcional segundo o Consenso Roma III, que incluíam um ou mais dos seguintes sintomas: A. Plenitude pós-prandial desconfortável; B. Saciedade precoce; C. Dor epigástrica ou queimação epigástrica. Os pacientes não podiam apresentar nenhuma evidência de doenças estruturais (incluindo análise por endoscopia digestiva alta) que pudessem explicar os sintomas. Os pacientes foram classificados de acordo com os seus sintomas em **Síndrome do desconforto pós-prandial (SIDEPP)** e **Síndrome da dor epigástrica (SIDE)**. Foram permitidas endoscopias normais ou apenas com gastrites conforme a

classificação endoscópica de Sydney (Tytgat, 1991). Para inclusão os pacientes deviam ter a confirmação histológica do *H. pylori* pelos métodos da hematoxilina e eosina (H&E) e Giemsa e positividade do teste rápido da urease. Presença do *H. pylori* foi definida pela positividade em ambos os testes. O estudo considerou gastrites endoscópicas como parte da DF, seguindo as recomendações dos Consensos Roma I, Roma II e Roma III.

Crêterios de exclusão: foram excluídos pacientes com as seguintes características:

- Pesquisa histológica negativa para *H. pylori*, analisada pelo menos por 2 patologistas especializados, utilizando as colora es de hematoxilina e eosina e Giemsa, ou negatividade do *H. pylori* no teste rápido da urease.
- Doença presente há menos de 6 meses, e/ou ausência de sintomas dispépticos nos 3 meses antecedentes   avalia o para inclusão no estudo.
- Pirose ou regurgita o sendo os únicos ou os principais sintomas.
- Sintomas exclusivos da Síndrome do Intestino Irritável.
- Passado de úlcera péptica.
- Passado de cirurgia esofágica ou gastroduodenal.
- Tratamento prévio para o *H. pylori*.
- Utiliza o de antibióticos ou sais de bismuto nas últimas 4 semanas, inibidores da bomba de prótons (IPP) nas 2 semanas ou bloqueadores H2 nos 7 dias antecedentes   endoscopia digestiva alta inicial.
- Achados endoscópicos que pudessem justificar a presença de sintomas gastrintestinais, tais como esofagite, es fago de Barrett, doença péptica ulcerosa, neoplasia gastroesofágica, ou altera o anat mica cirúrgica do trato gastrintestinal superior.
- Diagnóstico prévio de doenças sist micas ou uso de medicamentos que, reconhecidamente, interferem na motilidade ou sensibilidade do trato gastrintestinal alto e que possam desenvolver sintomas dispépticos, direta ou indiretamente (através do seu tratamento), tais como diabete *mellitus*, esclerose sist mica progressiva, tireoideopatias, dentre outras.

- Manifestações clínicas de doenças orgânicas (“sinais de alerta”): anorexia, disfagia, sangramentos, perda ponderal superior a 10% do peso corporal e anormalidade no exame físico sugestivas de doenças orgânicas.
- Presença de comorbidades significativas (hepatopatias, cardiopatias, nefropatias e neuropatias).
- História de alergia às drogas utilizadas no estudo.
- Gestação (diagnóstico prévio) ou mulheres em idade fértil que não utilizavam métodos contraceptivos seguros.
- Nível intelectual reduzido que inviabilizasse adequada compreensão dos objetivos do estudo.
- Não aceitação em participar do estudo e/ou em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Métodos

Variáveis clínicas analisadas nos pacientes

O delineamento do estudo, randomização dos pacientes, avaliação das variáveis endoscópicas, avaliação do *H. pylori* e das variáveis histológicas, avaliação dos sintomas e do uso de medicações, seguimento de variáveis clínicas e medidas de desfechos analisados nos pacientes participantes do ensaio clínicos HEROES estão descrito no Anexo 1.

Análises genéticas

Foram coletados 5 mL de sangue periférico em tubo contendo citrato de sódio para extração de DNA, utilizando a metodologia descrita por Lahiri e Nurnberger (1991). Os polimorfismos foram estudados através da metodologia de reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando ‘primers’ específicos seguida da metodologia de genotipagem específica. Todos os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Genética Molecular Humana do Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular da Universidade Luterana do Brasil.

O polimorfismo do éxon 4 foi identificado através da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando os ‘primers’ 5'-AACATCAGGATTGTAAGCAC-

3' e 5'-TCAGGGCTTGGTCAATATAG-3' (Kubota *et al.*, 1996). A amplificação dos fragmentos no termociclador se deu em 35 ciclos, consistindo na desnaturação a 94° C por 10 segundos, anelamento a 53° C por 30 segundos, e extensão a 72° C por 30 segundos. Uma desnaturação inicial a 94° C por 3 minutos e uma extensão final a 72° C por 5 minutos também foram realizadas. As concentrações utilizadas nas reações foram MgCl₂ 1,5mM, 'primers' 0,5μM, dNTPs 0,18 mM, Tris-HCl (pH 8,4) 20mM, KCl 50 mM e *Taq* DNA polimerase 1U. O tamanho do fragmento amplificado foi de 119pb. As amostras em seguida foram clivadas com a enzima de restrição *Bam*HI, e os fragmentos gerados após a clivagem foram de 93pb para o genótipo HomEM (homozigoto), 119 e 93 para o genótipo HetEM (heterozigoto) e 119 pb para o genótipo PM (homozigoto).

A genotipagem do polimorfismo do éxon 5 também foi realizada através de PCR, utilizando os 'primers' descritos por de Moraes *et al.* (1994a,b): 5'-AATTACAACCAGAGCTTGGC-3' e 5'-TATCACTTTCCATAAAAGCAAG-3'. A amplificação dos fragmentos no termociclador se deu em 35 ciclos, iniciando com a desnaturação a 94° por 10 segundos, anelamento a 57°C por 30 segundos e uma extensão final a 72°C por 30 segundos. Foi realizada também, uma desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos. As concentrações utilizadas nas reações foram MgCl₂ 1,5mM, 'primers' 0,5μM, dNTPs 0,18mM, Tris-HCl (pH 8,4) 20mM, KCl 50 mM e *Taq* DNA polimerase 1U. O tamanho do fragmento amplificado pela reação foi de 168pb. As amostras foram clivadas com enzima de restrição *Msp*I. Os tamanhos dos fragmentos gerados após a clivagem foram de 117 e 51pb para o genótipo HomEM, 168, 117 e 51pb para o genótipo HetEM (heterozigoto), e 168pb para o genótipo PM (homozigoto).

A verificação dos produtos do PCR e dos fragmentos gerados após as clivagens com as enzimas de restrição foi realizada através de eletroforese em gel de poliacrilamida 10% corado com nitrato de prata.

Aspectos éticos

Este projeto foi submetido à avaliação ético-legal e de mérito dos Comitês de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA). O estudo clínico foi aprovado pelo Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (protocolo número 05-

422). Os estudos moleculares foram aprovados pelo Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA (protocolo número 07-590) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da ULBRA (protocolo número 2007-376H). O termo de consentimento utilizado para os estudos moleculares encontra-se descrito no Anexo 2.

Análises estatísticas

Variáveis contínuas foram expressas como médias e desvio padrão e a comparação entre grupos foi analisada usando-se o teste T para amostras independentes. Variáveis qualitativas foram expressas como percentagens e comparações realizadas usando o teste exato de Fisher ou o teste de qui-quadrado, conforme indicação. As frequências alélicas foram determinadas pela contagem direta dos alelos e desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram avaliados através do teste de qui-quadrado. Todos os testes foram bicaudais. $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

Até o momento foram obtidas 202 amostras de pacientes diagnosticados como dispépticos funcionais de acordo com os protocolos clínicos estabelecidos por este estudo. Na Tabela 1 são descritas as características sociodemográficas dos indivíduos analisados. Observou-se uma maior frequência de pacientes do sexo feminino (81,7%), e de raça branca (79,6%). Com relação a fatores de risco relacionados a desordens gástricas tais como nível socioeconômico e hábitos como tabagismo, consumo de álcool, café e chimarrão, 41,3% dos indivíduos eram fumantes ou ex-fumantes e 87% relataram não ingerir bebida alcoólica. Verificou-se que 48,8% dos pacientes consumiam habitualmente chimarrão e 67,2% café. Apenas 19,4% dos indivíduos possuíam grau superior de escolaridade.

Este estudo classificou os pacientes dispépticos através da aplicação do questionário PADYQ, desenvolvido utilizando como base os principais sintomas descritos como relevantes no Consenso de Roma I (Sander *et al.*, 2004). Os sintomas foram classificados e avaliados de acordo com sua intensidade, duração e frequência. Neste estudo, em relação ao tipo de dispepsia, 55,9% dos indivíduos apresentavam síndrome de desconforto pós-prandial, enquanto 44,1% apresentavam síndrome de dor epigástrica. As principais queixas relatadas foram dor (51,7%) e distensão abdominal (40,3%). Náusea, vômito e saciedade precoce também foram relatados por um número menor de pacientes (Tabela 2).

Tabela 1. Características sócio-demográficas da amostra estudada.

	N	%
Sexo (n=202)		
Feminino	165	81,7
Masculino	37	18,3
Raça (n=201)		
Branca	160	79,6
Parda	29	14,4
Preta	12	6,0
Escolaridade (n=201)		
Fundamental incompleto	57	28,4
Fundamental completo	28	13,9
Médio incompleto	36	17,9
Médio completo	41	20,4
Superior incompleto	21	10,4
Superior completo	18	9,0
Estado civil (n=201)		
Casado	114	56,7
Solteiro	45	22,4
Separado	30	14,9
Viúvo	12	6,0
Situação profissional (n=201)		
Ativo	158	78,6
Aposentado	28	13,9
Licença	11	5,5
Outro	4	2,0
Tabagismo (n=201)		
Não fuma	118	58,7
Fuma atualmente	34	16,9
Ex-fumante	49	24,4
Consumo de álcool (n=201)		
Não bebe	175	87,1
Bebe atualmente	8	4,0
Parou de beber	18	8,9
Consumo de café (n=201)		
Sim	135	67,2
Não	66	32,8
Consumo de chimarrão (n=201)		
Sim	98	48,8
Não	103	51,2

Tabela 2. Pacientes dispépticos funcionais classificados por tipo de dispepsia e principal sintoma apresentado.

	Pacientes	%
Tipo de dispepsia (n=186)		
Síndrome do desconforto pós-prandial	104	55,9
Síndrome de dor epigástrica	82	44,1
Principal sintoma (n=201)		
Distensão	81	40,3
Dor	104	51,7
Náusea	9	4,5
Saciedade precoce	1	0,5
Vômito	5	2,5
Outros	1	0,5

Os pacientes foram submetidos a dois procedimentos endoscópicos do trato digestivo alto, com biópsias gástricas. Foram coletadas 3 biópsias do antro, 2 da incisura angular e 3 do corpo gástrico. A endoscopia possibilitou a visualização das principais características clínicas dos pacientes dispépticos estudados, cujos resultados encontram-se descritos na Tabela 3. As alterações gástricas predominantes observadas nos pacientes estudados foram gastrite enantematosa, encontrada em 36,6% da amostra e gastrite erosiva plana e gastrite erosiva elevada, encontradas, respectivamente, em 21,3% e 20,3% da amostragem. Outras alterações também foram identificadas (Tabela 3). O grupo de pacientes diagnosticados com gastrite pela endoscopia foi avaliado em relação à topografia e à intensidade da inflamação. A topografia indicou que a grande maioria apresentava inflamação no antro (82,8%). A intensidade da gastrite foi diagnosticada como leve na maioria dos pacientes (68%), enquanto gastrite intensa foi diagnosticada em apenas 5,7% deles. Uma das biópsias obtidas foi submetida ao teste de urease, o qual possibilitou a verificação da presença da infecção pela bactéria *H. pylori* nos pacientes dispépticos. Os resultados demonstraram que o número de pacientes com teste positivo de urease (indicativo da presença da bactéria) foi praticamente o mesmo dos pacientes com teste negativo de urease (indicativo da ausência da bactéria). Este análise foi realizada na segunda consulta de acompanhamento (aos quatro meses).

Tabela 3. Características clínicas observadas nas endoscopias digestivas dos pacientes dispépticos funcionais estudados.

Característica clínica	N	%
Gastrite enantematosa	74	36,6
Gastrite erosiva plana	43	21,3
Gastrite erosiva elevada	41	20,3
Gastrite hemorrágica	0	0
Gastrite atrófica	2	1,0
Pregas hiperplásicas	0	0
Duodenite enantematosa	4	2,0
Duodenite erosiva	0	0
Esofagite		
Úlcera gástrica	4	2,0
Úlcera duodenal	0	0
Outra alteração	60	29,7
Topografia da gastrite (n=151)		
Antro	125	82,8
Corpo	3	12,0
Pangastrite	23	15,2
Intensidade da gastrite (n=151)		
Leve	104	68,9
Moderada	38	25,2
Intensa	9	5,7
Teste de urease		
Positivo	100	49,5
Negativo	98	48,5
Não realizado	4	2,0

O restante do material colhido nas biópsias foi submetido à análise histológica para a verificação da presença de inflamação, atividade inflamatória, atrofia e metaplasia nos diferentes sítios biopsiados (Tabela 4). Os resultados demonstraram que houve predomínio de inflamação na incisura angular, porém a densidade do *H. pylori* apresentou valores semelhantes nas três regiões gástricas analisadas. Os demais resultados clínicos observados nas biópsias encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Características clínicas observadas nas biópsias digestivas dos pacientes dispépticos funcionais estudados.

	Inflamação*	Atividade inflamatória	Atrofia	Densidade de <i>H. pylori</i>	Metaplasia
Antro					
Ausente	28 (25,5)	56 (50,9)	80 (72,7)	60 (54,5)	Ausente
Leve	45 (40,9)	34 (30,9)	27 (24,6)	33 (30)	96 (87,3)
Moderada	35 (31,8)	19 (17,3)	3 (2,7)	12 (10,9)	Presente
Severa	2 (1,8)	1 (0,9)	-	5 (4,6)	14 (12,7)
Corpo					
Ausente	38 (34,5)	70 (63,6)	106 (96,4)	58 (52,7)	Ausente
Leve	51 (46,4)	30 (27,3)	4 (3,6)	41 (37,3)	108 (98,2)
Moderada	21 (19,1)	9 (8,2)	-	10 (9,1)	Presente
Severa	-	1 (0,9)	-	1 (0,9)	2 (1,8)
Incisura angular					
Ausente	21 (19,1)	57 (51,8)	87 (79,1)	60 (55,1)	Ausente
Leve	48 (43,6)	34 (30,9)	21 (19,1)	36 (33,0)	99 (90,8)
Moderada	38 (34,6)	17 (15,5)	2 (1,8)	12 (11,0)	Presente
Severa	3 (2,7)	2 (1,8)	-	1 (0,9)	10 (9,2)

*Número de pacientes, porcentagens entre parênteses

As frequências alélicas e genotípicas do gene CYP2C19 são descritas na Tabela 5. Foram analisados dois éxons (4 e 5) onde ocorrem as mutações mais frequentes no gene CYP2C19. No exon 4, as análises genéticas identificaram em 100% das amostras a presença do alelo wt, conferindo genótipos homozigóticos HomEM (wt/wt). No exon 5, verificou-se o predomínio do alelo wt, em 88,1% das análises, e do alelo mutado em 11,9%. Os resultados encontrados nas amostras genotipadas apresentaram uma frequência maior do genótipo HomEM (wt/wt) em 78,8%, seguido do genótipo HetEM (wt/mt) em 18,7%. Apenas 2,5% dos pacientes apresentaram genótipo PM (mt/mt) (Tabela 5). As frequências genotípicas observadas encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Tabela 5. Freqüências alélicas e genótípicas do gene CYP2C19 nos pacientes dispépticos funcionais estudados.

Alelos e genótipos	N (%)
Éxon 4	
Alelo	
wt	396 (100)
Genótipo	
HomEM (wt/wt)	198 (100)
Éxon 5	
Alelos	
wt	349 (88,1)
mt	47 (11,9)
Genótipos	
HomEM (wt/wt)	156 (78,8)
HetEM (wt/mt)	37 (18,7)
PM (mt/mt)	5 (2,5)

DISCUSSÃO

A etiologia da dispepsia funcional é desconhecida e estudos divergem acerca da relação causal entre a presença da bactéria *H. pylori* e os sintomas dispépticos (Delaney, 1995; Cinar *et al.*, 2004; O'Morain, 2006). Não existe um consenso entre os pesquisadores sobre os benefícios da erradicação da bactéria em relação à melhora do paciente; embora estudos em grandes populações demonstrem que bactéria é encontrada com freqüência em indivíduos com este tipo de patologia (O'Morain, 2006). Nos últimos 10 anos progressos consideráveis têm sido obtidos no tratamento da infecção por *H. pylori* com a padronização da terapia tripla como primeira linha de conduta, na qual se utiliza um PPI e dois antibióticos (amoxicilina e claritromicina) (Sugimoto *et al.*, 2007; Talley e Li, 2007; Graham, 2009). Entretanto, mesmo com grau de adesão considerável, o regime de erradicação usualmente atinge um índice de cura, em um primeiro instante, muito abaixo do objetivo satisfatório de 90% ou mais. Além disso, tem se verificado uma diminuição nos índices de sucesso deste tipo de tratamento (Sanchez *et al.*, 2008; Graham, 2009; Sugimoto e Graham, 2009).

A inibição ácida é considerada crucial para a obtenção da eficácia concomitante dos antibióticos, tornando os PPIs drogas essenciais no tratamento (Graham, 2000; Schwab *et al.*, 2004). A medida dos níveis plasmáticos de PPIs (exposição à droga), expressa pela área sob a curva dose-resposta da concentração plasmática versus o tempo (AUC, do inglês *area under the curve*), constitui um importante fator na determinação da ação farmacodinâmica. Um aumento na AUC dos inibidores está associado com um aumento do pH intragástrico e, conseqüentemente, com a diminuição da eficácia anti-secretória (Klotz, 2000). Considerando que a metabolização dos PPIs ocorre no fígado, principalmente por uma enzima codificada pelo gene CYP2C19, os genótipos desta enzima determinam efeitos distintos na farmacodinâmica deste medicamento (Oh *et al.*, 2009, Padol *et al.*, 2006).

Uma vez que os alelos do gene CYP2C19 afetam os índices de erradicação do *H. pylori*, este estudo verificou as freqüências alélicas e genóticas deste gene em 202 pacientes diagnosticados como dispépticos funcionais em terapia tripla de erradicação. A distribuição demográfica destes

genótipos varia entre as diferentes populações étnicas e entre os diferentes continentes, conforme descritos em diversos estudos. Nossos resultados demonstraram uma frequência maior do genótipo homozigoto HomEM, com dois alelos do tipo selvagem (wt/wt). Indivíduos com este genótipo são classificados como metabolizadores rápidos dos PPIs, característica que implica em um tempo menor de exposição ao medicamento e a consequente diminuição de sua eficácia. O genótipo PM, com dois alelos mutados não-funcionais (mt/mt), representou apenas 2,5% da amostra. Estes indivíduos são considerados metabolizadores lentos, e estarão, portanto, expostos por maior tempo à ação farmacológica. Também foram encontrados pacientes heterozigotos HetEM, com um alelo do tipo selvagem e um alelo não-funcional (wt/mt), com fenótipo intermediário entre os outros dois tipos de metabolizadores.

Sapone *et al.* (2003) encontraram frequências semelhantes de genótipos, comparadas ao nosso estudo, em uma amostra de 143 indivíduos caucasóides. Seus resultados indicaram 81,1% de metabolizadores rápidos, 17,5% de metabolizadores intermediários e apenas 1,4% de metabolizadores lentos. Outro estudo realizado também em indivíduos caucasóides verificou as seguintes frequências: 64,8% do genótipo HomEM, 32,1% do genótipo HetEM e 3,1% do genótipo PM em uma amostra de 193 pacientes alemães (Schwab *et al.*, 2004). As frequências observadas por Schwab *et al.* (2004) diferem significativamente tanto das frequências observadas no presente estudo ($p < 0,01$), quanto daquelas descritas por Sapone *et al.* (2003) ($p < 0,01$), indicando uma heterogeneidade entre populações caucasóides.

Em geral em populações asiáticas ocorre uma maior frequência do genótipo favorável, do ponto de vista farmacocinético. O genótipo PM possui, em média, uma prevalência de 13-23% em asiáticos, enquanto que nos caucasóides e afro-americanos está representado em 2-5% (Padol *et al.*, 2006). Estas frequências genotípicas ajudariam a explicar os maiores índices de erradicação do *H. pylori* alcançados entre pacientes asiáticos, quando comparados com os obtidos em populações caucasóides (Sapone *et al.*, 2003).

Embora estas diferenças genotípicas do CYP2C19 sejam consideradas por pesquisadores como importante ferramenta no prognóstico e ajuste do tratamento, os resultados acerca da influência dos genótipos na literatura

ainda são conflitantes (Oh *et al.*, 2009, Dickson e Stuart, 2003; Furuta *et al.*, 2003, 2004). Pesquisas reportam que o índice de cura da infecção apresenta-se menor em indivíduos com alelos do tipo selvagem (HomEM) comparados com indivíduos com variantes homozigóticas não-funcionais (PM) ou heterozigóticas (HetEM) (Furuta *et al.*, 2001; Isomoto *et al.*, 2003). Devido ao fato da frequência do genótipo PM ser muito maior em asiáticos, principalmente em japoneses (21%), a maioria dos artigos que correlacionam a dependência do genótipo CYP2C19 com os índices de erradicação provém de estudos realizados no Japão (Padol *et al.*, 2006). Dados descritos em uma meta-análise reportam que de 17 publicações avaliadas, 16 foram realizadas predominantemente em populações asiáticas e em indivíduos do sexo masculino (Padol *et al.*, 2006).

Um estudo com indivíduos caucasóides verificou que diferenças genotípicas do CYP2C19 afetaram os índices de erradicação do *H. pylori* (Schwab *et al.*, 2004). Os autores concluíram que indivíduos com variantes heterozigóticas apresentaram resultados semelhantes em relação ao prognóstico de erradicação, quando comparados aos com variantes homozigóticas. Além disso, foi constatada uma melhora clínica significativa em pacientes PM e HetEM, relacionada às concentrações plasmáticas maiores do PPI utilizado, quando comparada aos HomEM (Schwab *et al.*, 2004). Outro estudo, com amostra étnica semelhante, também considerou relevante a diferença dos genótipos CYP2C19 nos regimes de erradicação com PPIs. Os resultados demonstraram que em uma amostra de 143 pacientes, 93 erradicaram a bactéria. Dos 50 pacientes que permaneceram infectados, todos eram metabolizadores extensivos homozigóticos ou heterozigóticos (HomEM ou HetEM), embora análises estatísticas tenham apresentado uma associação estatisticamente significativa com falha na terapia de erradicação apenas para o genótipo HomEM (Sapone *et al.*, 2003).

Ainda não podemos correlacionar nossos resultados das análises genotípicas com os resultados de erradicação do *H. pylori*, uma vez que o estudo HEROES ainda não foi finalizado. Além disso, por questões temporais, também não foram verificados os genótipos no total de indivíduos incluídos no estudo. Com a posterior abertura dos resultados acerca de quais pacientes foram administrados placebo ou terapia tripla de erradicação, haverá

possibilidade de avaliarmos também o sucesso da erradicação relacionado à melhora dos sintomas clínicos. Verificamos, através dos resultados do teste de urease, que de 202 pacientes, avaliados na segunda consulta de acompanhamento, houve uma distribuição praticamente igual de testes positivos e negativos. Devido às limitações citadas anteriormente, ainda não temos condições de realizarmos uma análise confiável destes índices.

É relevante destacarmos o número significativo de indivíduos dispépticos funcionais avaliados neste estudo, uma vez que ainda são escassos trabalhos que analisam estes dados em populações caucasóides. Além disso, os critérios de inclusão destes pacientes, como sintomatologia e características clínicas, foram cuidadosamente confirmados através da aplicação do PADYQ (Questionário Porto Alegre de Sintomas Dispépticos) e verificação histológica. A caracterização dos pacientes em relação a estes fatores será útil para uma avaliação mais precisa do prognóstico clínico após terapia de erradicação.

O inibidor de bomba de prótons utilizado neste estudo, em conjunto com os antibióticos, foi o omeprazol, que constitui o fármaco de uso mais extensivo no manejo deste tipo de pacientes. Estudos reportam que a eficácia anti-secretória dos diferentes tipos de PPIs é afetada pelo polimorfismo no gene CYP2C19 em diferentes graus, sendo o omeprazol o mais afetado e outros como o lansoprazol e o rabeprazol menos afetados (Dickson e Stuart, 2003). Esta diferença seria explicada devido às diferenças nas principais rotas de metabolização, embora a enzima do citocromo P450 (CYP2C19) esteja envolvida em todas elas (Ishizaki e Horai, 1999). A meta-análise realizada por Padol *et al.* (2006) demonstrou que, com exceção do omeprazol, não houve diferenças significativas nos índices de erradicação do *H. pylori* entre os genótipos HomEM e PM na eficácia das terapias de erradicação. Os mesmos autores concluíram que devido ao fato do omeprazol ser o principal afetado pelo polimorfismo, um aumento da dose deste PPI poderia ser utilizado no intuito de avaliar sua ação na melhora dos índices de erradicação. No entanto, em outra meta-análise, concluiu-se que houve influência dos genótipos CYP2C19 na eficácia da terapia tripla com o uso do omeprazol assim como do lansoprazol (Zhao *et al.*, 2008). Não foi verificada relação entre os genótipos e os índices de erradicação em terapia tripla com rabeprazol (Zhao *et al.*, 2008).

Outro fator importante associado à falha da erradicação do *H. pylori* na terapia tripla consiste na resistência bacteriana à claritromicina, e tem sido objeto de diversos estudos (Furuta *et al.*, 2005; Sanches *et al.*, 2008; Graham, 2009; Sugimoto e Graham, 2009). O componente macrolídico apresenta-se eficaz contra o processo de endocitose celular da bactéria, sendo considerado essencial para o sucesso do tratamento. Pesquisadores supõem que o aumento nos índices de resistência bacteriana ao macrolídeo decorreria do uso extensivo não só em terapias de erradicação do *H. pylori* assim como em doenças do trato respiratório (Mégraud, 1998). Queiroz *et al.* (2002) verificaram, em um estudo realizado no Brasil (Belo Horizonte, MG), um índice de 9,8% de resistência à claritromicina, em 93 cepas do *H. pylori* isoladas dos indivíduos em tratamento. A avaliação conjunta das variações dos genótipos CYP2C19 com os fatores de resistência à claritromicina é descrita como essencial para a obtenção de um prognóstico preciso neste tipo de terapia (Alarcón *et al.*, 2000; Queiroz *et al.*, 2002; Soltermann *et al.*, 2005). Uma vez que o fenômeno de resistência ao macrolídeo decorre de uma mutação no gene que codifica o rRNA 23S e pode ser detectado por técnicas moleculares, temos perspectivas de avaliarmos concomitantemente a influência dos diferentes genótipos do gene CYP2C19 nos pacientes com a eficácia da terapia de erradicação, levando em conta a presença de mutações de resistência aos macrolídeos. Sapone *et al.* (2003), em um dos poucos trabalhos realizados sobre a influência dos genótipos de CYP2C19 na erradicação do *H. pylori* em caucasóides, consideraram como limitação de seu estudo a não verificação do fator de resistência bacteriana na obtenção de resultados mais precisos.

Além da influência dos genótipos CYP2C19 e de fatores de resistência aos antibióticos, marcadores de virulência do *H. pylori* (*cagA* e *vacA*) também são considerados preditivos de falha na terapia de erradicação (Queiroz *et al.*, 2002). A associação entre a presença destes genes, com resposta inflamatória mais severa e alterações patológicas mais pronunciadas, tem sido avaliada por diversos autores (Wen *et al.*, 2007; Basso *et al.*, 2008; Proença *et al.*, 2009; Sugimoto e Yamaoka, 2009)

Acredita-se que nos países em desenvolvimento a maioria dos indivíduos adquira a infecção pelo *H. pylori* durante a infância, embora o contágio na fase adulta também ocorra. Moayyedi *et al.* (2002) realizaram um

estudo com cerca de 8.500 participantes e verificaram que condições sócio-econômicas e estilo de vida são os principais fatores relacionados com prevalência de infecção. No entanto, a relação entre a prevalência de contágio e fatores associados à fase adulta ainda não estão bem caracterizados. Além disso, não está esclarecido como condições sócio-econômicas são fatores preditivos de infecção ou em que grau contribuam para sua persistência (Moayyedi *et al.*, 2002). Nossa amostra apresentou 80,6% de pacientes com baixo nível de escolaridade, o que supostamente, indicaria condição sócio-econômica semelhante. Cerca da metade destes indivíduos eram casados. Estudos epidemiológicos ainda não confirmam se viver com um parceiro constitui um fator associado com a prevalência da infecção, embora a mesma cepa da bactéria tenha sido isolada de casais, sugerindo a possibilidade de transmissão intra familiar entre parceiros (Schutze *et al.*, 1995). Hábitos como tabagismo e consumo de álcool também foram relacionados pelos pacientes, embora a influência desses fatores na infecção ainda não esteja definida. Moayyedi *et al.* (2002) verificaram que fumantes teriam predisposição maior à infecção pelo *H. pylori*, porém após ajuste para fatores de confusão esta associação foi confirmada estatisticamente apenas em indivíduos que fumavam mais de 35 cigarros por dia. Outros estudos também investigaram a associação entre infecção pelo *H. pylori*, álcool e café, sem resultados conclusivos (Moayyedi *et al.*, 1997; Brener *et al.*, 1998; Moayyedi *et al.*, 2002). Aproximadamente a metade dos pacientes incluídos neste estudo tinha como hábito o consumo de chimarrão. Por ser considerado hábito regional, não foram encontrados dados bibliográficos específicos relacionando o chimarrão como fator de risco de infecção.

Relacionado à falha na terapia de erradicação do *H. pylori*, não foram encontrados resultados conclusivos acerca de sua associação com idade, fumo e consumo de álcool (Queiroz *et al.*, 2002; Treiber *et al.*, 2002; Schwab *et al.*, 2004).

A verificação das freqüências genéticas dos pacientes dispépticos funcionais realizada neste estudo nos forneceu dados comparativos em relação a outros trabalhos existentes na literatura. A obtenção do perfil genético, em nossa população, nos trará possibilidade de avaliarmos os índices de falha na terapia de erradicação dos pacientes tratados com a terapia tripla, assim como

a eficácia desta conduta na melhora efetiva dos sintomas. Entretanto, outras variáveis como resistência aos antibióticos e fatores de virulência devem ser levado em conta para obtermos resultados conclusivos.

PERSPECTIVAS

O estudo HEROES constitui um projeto de grande porte, onde foram incluídos mais de 400 pacientes diagnosticados como dispépticos funcionais. O objetivo principal do estudo é avaliar os efeitos da erradicação da infecção pelo *H. pylori* nos sintomas de dispepsia funcional. O estudo ainda encontra-se em andamento, com previsão da abertura dos resultados em junho de 2009.

No intuito de avaliarmos fatores que pudessem influenciar na falha da terapia de erradicação, nosso estudo verificou a frequência dos diferentes genótipos CYP2C19 em 202 indivíduos. Com a finalização das avaliações clínicas dos pacientes e a abertura dos resultados acerca dos grupos randomizados com antibiótico ou placebo, será possível realizarmos a comparação dos diferentes genótipos CYP2C19, com os índices de erradicação.

Temos como perspectivas, concluir as análises genéticas no restante da amostragem, além de avaliarmos, através de técnicas moleculares, outras variáveis como marcadores de patogenicidade do *H. pylori* e mutações relacionadas à resistência aos macrolídios. Compreendemos que a análise destes dados em conjunto nos trará informações mais precisas acerca dos fatores que influenciam na falha da terapia assim como no prognóstico clínico destes pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón T, Domingo D, Prieto N, López-Brea M. PCR using 3'-mismatched primers to detect A2142C mutation in 23S rRNA conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori* clinical isolates. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:923-5.
- Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, Schiavon S, Guariso G, Ceroti M, Nitti D, Rugge M, Plebani M, Atherton JC. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology.* 2008 ;135:91-9.
- Bourke B, Jones N, Sherman P. *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease in children. *Pediatr Infect Dis J.* 1996; 15:1-13.
- Brenner H, Rothenbacher D, Bode G, Adler G. Relation of smoking and alcohol and coffee consumption to active *Helicobacter Pylori* infection: cross sectional study. *BMJ* 1998;315:1489-92.
- Cave DR. How is *Helicobacter pylori* transmitted? *Gastroenterology.* 1997; 113:S9-14.
- Cave DR. Transmission and epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Am J Med.* 1996; 100: 12S-18S.
- Cecil. Tratado de Medicina Interna. Ed Guanabara Koogan, 21º Ed. V2, 2001.
- Chang L. Review article: epidemiology and quality of life in functional gastrointestinal disorders. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 7:31-9.
- Chiba N, Van Zanten SJ, Sinclair P, Ferguson RA, Escobedo S, Grace E. Treating *Helicobacter pylori* infection in primary care patients with uninvestigated dyspepsia: the Canadian adult dyspepsia empiric treatment-*Helicobacter pylori* positive (CADET-Hp) randomised controlled trial. *BMJ.* 2002 27;324:1012-6.
- Cinar K, Soykan I, Ozden A. The effect of *Helicobacter pylori* eradication in patients with functional dyspepsia: Assessment of different diagnostic tests. *Turk J Gastroenterol.* 2004; 15:159-163.
- Crean GP, Holden RJ, Knill-Jones RP, Beattie AD, James WB, Marjoribanks FM, Spiegelhalter DJ. A database on dyspepsia. *Gut.* 1994; 35:191-202.
- de Boer WA. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Review of diagnostic techniques and recommendations for their use in different clinical settings. *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1997; 223:35-42.
- de Laat LE, de Boer WA. The CLO test as a reference method for *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2001; 13:1269-70.
- de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Meyer UA, Nakamura K, Goldstein JA. Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese. *Mol. Pharmacol.* 1994a; 46:594-8.
- de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J. Biol. Chem.* 1994b; 269:15419-22.
- Delaney BC, Moayyedi P. Dyspepsia. In: Stevens A, Raftery J, Mant J, eds. *Health care needs assessment 3rd series.* Oxford: Routledge, 2006.
- Delaney BC, Qume M, Moayyedi P, Logan RF, Ford AC, Elliott C, McNulty C, Wilson S, Hobbs FD. *Helicobacter pylori* test and treat versus proton pump inhibitor in initial management of dyspepsia in primary care: multicentre randomised controlled trial (MRC-CUBE trial). *BMJ.* 2008; 336:651-4.

- Delaney BC. Role of *Helicobacter pylori* in gastrointestinal disease: implications for primary care of a revolution in management of dyspepsia. *Br J Gen Pract.* 1995; 45:489-94.
- Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41:913-58.
- Dickson EJ, Stuart RC. Genetics of response to proton pump inhibitor therapy: clinical implications. *Am J Pharmacogenomics.* 2003; 3:303-15.
- El-Serag HB, Talley NJ. Systemic review: the prevalence and clinical course of functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004 Mar 15;19:643-54.
- Erah PO, Goddard AF, Barrett DA, Shaw PN, Spiller RC. The stability of amoxicillin, clarithromycin and metronidazole in gastric juice: relevance to the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *J Antimicrob Chemother.* 1997; 39:5-12.
- Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics - drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med.* 2003; 348:538-49.
- Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger M. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: Pathophysiology/Diagnosis/ Management. Saunders, 6th Ed. V1, 1998.
- Fiedorek SC, Malaty HM, Evans DL, Pumphrey CL, Casteel HB, Evans DJ Jr, Graham DY. Factors influencing the epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in children. *Pediatrics.* 1991; 88:578-82.
- Furuta T, Shirai N, Ohashi K, Ishizaki T. Therapeutic impact of CYP2C19 pharmacogenetics on proton pump inhibitor-based eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 2003;25:131-43.
- Furuta T, Shirai N, Sugimoto M, Nakamura A, Hishida A, Ishizaki T. Influence of CYP2C19 pharmacogenetic polymorphism on proton pump inhibitor-based therapies. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2005;20:153-67.
- Furuta T, Shirai N, Sugimoto M, Ohashi K, Ishizaki T. Pharmacogenomics of proton pump inhibitors. *Pharmacogenomics.* 2004; 5:181-202.
- Furuta T, Shirai N, Takashima M, Xiao F, Hanai H, Sugimura H, Ohashi K, Ishizaki T, Kaneko E. Effect of genotypic differences in CYP2C19 on cure rates for *Helicobacter pylori* infection by triple therapy with a proton pump inhibitor, amoxicillin, and clarithromycin. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:158-6.
- Geeraerts B, Tack J. Functional dyspepsia: past, present, and future. *J Gastroenterol.* 2008;43:251-5.
- Gisbert JP, Cruzado AI, Garcia-Gravalos R, Pajares JM. Lack of benefit of treating *Helicobacter pylori* infection in patients with functional dyspepsia. Randomized one-year follow-up study. *Hepatogastroenterology.* 2004;51:303-8.
- Goddard AF, Jessa MJ, Barrett DA, Shaw PN, Idstrom JP, Cederberg C, Spiller RC. Effect of omeprazole on the distribution of metronidazole, amoxicillin, and clarithromycin in human gastric juice. *Gastroenterology.* 1996; 111:358-67.
- Goldstein DB, Tate SK, Sisodiya SM. Pharmacogenetics goes genomic. *Nat Rev Genet.* 2003; 4:937-47.
- Graham DY. Efficient identification and evaluation of effective *Helicobacter pylori* therapies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7:145-8.

- Graham DY. Therapy of *Helicobacter pylori*: current status and issues. *Gastroenterology*. 2000;118:S2-8. Erratum in: *Gastroenterology* 2000;119:1180.
- Guliter S, Keles H, Ozkurt ZN, Cengiz DU, Kolukisa E. Can lansoprazole, amoxicillin, and clarithromycin combination still be used as a first-line therapy for eradication of *Helicobacter pylori*? *Turk J Gastroenterol*. 2005; 16:29-33.
- Health and Public Policy Committee, American College of Physicians. Endoscopy in the evaluation of dyspepsia. *Ann Intern Med*. 1985; 102:266-9.
- Hunt RH. Eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Med*. 1996; 100:42S-50S.
- Ishizaki T, Horai Y. Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors--emphasis on rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999;13:27-36.
- Isomoto H, Inoue K, Furusu H, Enjoji A, Fujimoto C, Yamakawa M, Hirakata Y, Omagari K, Mizuta Y, Murase K, Shimada S, Murata I, Kohno S. High-dose rabeprazole-amoxicillin versus rabeprazole-amoxicillin-metronidazole as second-line treatment after failure of the Japanese standard regimen for *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;18:101-7.
- Jarbol DE, Kragstrup J, Stovring H, Havelund T, Schaffalitzky de Muckadell OB. Proton pump inhibitor or testing for *Helicobacter pylori* as the first step for patients presenting with dyspepsia? A cluster-randomized trial. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:1200-8.
- Keohane J, Quigley EM. Functional dyspepsia and nonerosive reflux disease: clinical interactions and their implications. *MedGenMed*. 2007;9:31.
- Klotz U. Pharmacokinetic considerations in the eradication of *Helicobacter pylori*. *Clin Pharmacokinet*. 2000;38:243-70.
- Kodaira MS, Escobar AM, Grisi S. Epidemiological aspects of *Helicobacter pylori* infection in childhood and adolescence. *Rev Saúde Pública*. 2002; 36:356-69.
- Koskenpato J, Farkkilä M, Sipponen P. *Helicobacter pylori* eradication and standardized 3-month omeprazole therapy in functional dyspepsia. *Am J Gastroenterol*. 2001; 96:2866-72.
- Kubota T, Chiba K, Ishizaki T. Genotyping of S-mephenytoin 4'-hydroxylation in an extended Japanese population. *Clin Pharmacol Ther*. 1996;60:661-6.
- Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991; 19:5444.
- Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA*. 1998; 279:1200-5.
- Lee JM, Deasy E, O'Morain CA. *Helicobacter pylori* eradication therapy: a discrepancy between current guidelines and clinical practice. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 12:433-7.
- Lin M, Wu R. Theoretical basis for the identification of allelic variants that encode drug efficacy and toxicity. *Genetics*. 2005; 170:919-28.
- Logan R. Epidemiology could yield new ways to manage *H. pylori* infection. *Lancet*. 1999; 354:1006.
- Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, Graham DY, Tytgat G; European *Helicobacter Pylori* Study Group (EHPSG). Current

- concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection - the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002; 16:167-80.
- Malfertheiner P, Mossner J, Fischbach W, Layer P, Leodolter A, Stolte M, Demleitner K, Fuchs W. *Helicobacter pylori* eradication is beneficial in the treatment of functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 18:615-25.
- Marsh S, McLeod HL. Cancer pharmacogenetics. *Br J Cancer.* 2004; 90:8-11.
- Marsh S, McLeod HL. Pharmacogenomics: from bedside to clinical practice. *Hum Mol Genet.* 2006; 15 Spec No 1:R89-93.
- Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet.* 1983; 1:1273-5.
- Mc Namara DA, Buckley M, O'Morain CA. Nonulcer dyspepsia. Current concepts and management. *Gastroenterol Clin North Am.* 2000; 29:807-18.
- Mégraud F. Epidemiology and mechanism of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.* 1998;115:1278-82.
- Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, Northfield TC. Childhood living conditions and *Helicobacter pylori* seropositivity in adult life. *Lancet.* 1992; 339:896-7.
- Moayyedi P, Axon AT, Feltbower R, Duffett S, Crocombe W, Braunholtz D, Richards ID, Dowell AC, Forman D; Leeds HELP Study Group. Relation of adult lifestyle and socioeconomic factors to the prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Int J Epidemiol.* 2002 ;31:624-31.
- Moayyedi P, Braunholtz D, Heminbrough E, Clough M, Tompkins DS, Mapstone NP, Mason S, Dowell AC, Richards ID, Chalmers DM, Axon AT. Do patients need to fast for a ¹³C-urea breath test? *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1997;9:275-7.
- Moayyedi P, Deeks J, Talley NJ, Delaney B, Forman D. An update of the Cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systematic reviews. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:2621-6.
- Moayyedi P, Soo S, Deeks J, Delaney B, Harris A, Innes M, Oakes R, Wilson S, Roalfe A, Bennett C, Forman D. Eradication of *Helicobacter pylori* for non-ulcer dyspepsia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001; CD002096.
- Moayyedi P. The health economics of *Helicobacter pylori* infection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2007;21:347-61.
- Nacional Institute for Clinical Excellence. The management of dyspepsia in adult patients in primary care. London:NICE,2004.
- Oh JH, Dong MS, Choi MG, Yoo HW, Lee SB, Park YI, Chung IS. Effects of CYP2C19 and MDR1 genotype on the eradication rate of *Helicobacter pylori* infection by triple therapy with pantoprazole, amoxicillin and clarithromycin. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009; 24: 294-8.
- Oliveira AM, Queiroz DM, Rocha GA, Mendes EN. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in children of low socioeconomic level in Belo Horizonte, Brazil. *Am J Gastroenterol.* 1994; 89:2201-4.
- Oliveira SS, Santos IS, Silva JFP, Machado EC. Prevalência de dispepsia e fatores sociodemográficos. *Revista de Saúde Pública.* 2006; 40: 420-7
- O'Morain C. Role of *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia. *World J Gastroenterol.* 2006; 12:2677-80.

- Padol S, Yuan Y, Thabane M, Padol IT, Hunt RH. The effect of CYP2C19 polymorphisms on *H. pylori* eradication rate in dual and triple first-line PPI therapies: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101:1467-75.
- Parsonnet J, Blaser MJ, Perez-Perez GI, Hargrett-Bean N, Tauxe RV. Symptoms and risk factors of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of epidemiologists. *Gastroenterology.* 1992; 102:41-6.
- Proença-Modena JL, Acrani GO, Brocchi M. *Helicobacter pylori*: phenotypes, genotypes and virulence genes. *Future Microbiol.* 2009;4:223-40.
- Queiroz DM, Dani R, Silva LD, Santos A, Moreira LS, Rocha GA, Corrêa PR, Reis LF, Nogueira AM, Alvares Cabral MM, Esteves AM, Tanure J. Factors associated with treatment failure of *Helicobacter pylori* infection in a developing country. *J Clin Gastroenterol.* 2002; 35:315-20.
- Sadee W, Dai Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine. *Hum Mol Genet.* 2005; 14 Spec No. 2:R207-14.
- Sanches B, Coelho L, Moretzsohn L, Vieira G Jr. Failure of *Helicobacter pylori* treatment after regimes containing clarithromycin: new practical therapeutic options. *Helicobacter.* 2008;13:572-6.
- Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni LE. An unexpected high prevalence of non-investigated dyspepsia in Brazil: a population-based study. *Gut* 2007;56 (Suppl III) A195.
- Sander GB, Mazzoleni LE, Francesconi CF, Wortmann AC, Ott EA, Theil AL, Da Cruz PV, Da Silva AC, Oliveira L, Beheregaray S, Mاتيotti S, Somm G, Goldim JR. Development and validation of a cross-cultural questionnaire to evaluate nonulcer dyspepsia: the Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire (PADYQ). *Dig Dis Sci.* 2004; 49:1822-9.
- Sapone A, Vaira D, Trespidi S, Perna F, Gatta L, Tampieri A, Ricci C, Cantelli-Forti G, Miglioli M, Biagi GL, Paolini M. The clinical role of cytochrome p450 genotypes in *Helicobacter pylori* management. *Am J Gastroenterol.* 2003; 98:1010-5.
- Schütze K, Hentschel E, Dragosics B, Hirschl AM. *Helicobacter pylori* reinfection with identical organisms: transmission by the patients' spouses. *Gut.* 1995;36:831-3.
- Schwab M, Schaeffeler E, Klotz U, Treiber G. CYP2C19 polymorphism is a major predictor of treatment failure in white patients by use of lansoprazole-based quadruple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;76:201-9.
- Scott DR, Weeks D, Hong C, Postius S, Melchers K, Sachs G. The role of internal urease in acid resistance of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology.* 1998; 114:58-70.
- Shah RR. Pharmacogenetics in drug regulation: promise, potential and pitfalls. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2005; 360:1617-38.
- Shulman ST, Moel D. *Campylobacter* infection. *Pediatrics.* 1983; 72:437.
- Soltermann A, Perren A, Schmid S, Eigenmann F, Güller R, Weber KB, Meier J, Eichenberger P, Komminoth P. Assessment of *Helicobacter pylori* clarithromycin resistance mutations in archival gastric biopsy samples. *Swiss Med Wkly.* 2005;135:327-32.
- Stevens R, Baxter G. Benefits of *Helicobacter pylori* eradication in the treatment of ulcer-like dyspepsia in primary care. *Gastroenterology.* 2001; 160:260..
- Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, Kodaira C, Nishino M, Ikuma M, Ishizaki T, Hishida A. Evidence that the degree and duration of acid suppression are

- related to *Helicobacter pylori* eradication by triple therapy. *Helicobacter*. 2007;12:317-23.
- Sugimoto M, Graham DY. High-dose versus standard-dose PPI in triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2009; 6:138-9.
- Sugimoto M, Yamaoka Y. Virulence factor genotypes of *Helicobacter pylori* affect cure rates of eradication therapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2009; 57:45-56.
- Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology*. 2006 ;130:1466-79. Erratum in: *Gastroenterology*. 2006 ;131:336.
- Talley NJ, Li Z. *Helicobacter pylori*: testing and treatment. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2007;1:71-9.
- Talley NJ, Stanghellini V, Heading RC, Koch KL, Malagelada JR, Tytgat GN. Functional gastroduodenal disorders. *Gut*. 1999 ;45 Suppl 2:II37-42.
- Talley NJ. H. pylory and functional dyspepsia. *Gut*. 2001; 49:738-9.
- Talley NJ. Update on the role of drug therapy in non-ulcer dyspepsia. *Rev Gastroenterol Disord*. 2003; 3:25-30.
- Treiber G, Wittig J, Ammon S, Walker S, van Doorn LJ, Klotz U. Clinical outcome and influencing factors of a new short-term quadruple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a randomized controlled trial (MACLOR study). *Arch Intern Med*. 2002;162:153-60.
- Tytgat GN. The Sydney System: endoscopic division. Endoscopic appearances in gastritis/duodenitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6:223-234
- Wen S, Velin D, Felley CP, Du L, Michetti P, Pan-Hammarström Q. Expression of *Helicobacter pylori* virulence factors and associated expression profiles of inflammatory genes in the human gastric mucosa. *Infect Immun*. 2007;75:5118-26.
- Wiffen, P., Gill, M., Edwards, J. and Moore, A. (2002) Adverse drug reactions in hospital patients. *Bandolier Extra*. <http://www.jr2.ox.ac.uk/bandolier/Extraforbando/ADRPM.Pdf>.
- Yeh YC, Chang KC, Yang JC, Fang CT, Wang JT. Association of metronidazole resistance and natural competence in *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46:1564-7.
- Zhao F, Wang J, Yang Y, Wang X, Shi R, Xu Z, Huang Z, Zhang G. Effect of CYP2C19 genetic polymorphisms on the efficacy of proton pump inhibitor-based triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a meta- analysis. *Helicobacter*. 2008; 13:532-41.

ANEXO 1

Delineamento do estudo e randomização

Ensaio clínico prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado com placebo, desenvolvido em um único centro médico, com seguimento dos pacientes por 12 meses, para avaliação dos efeitos da erradicação da infecção pelo *H. pylori* nos sintomas da dispepsia funcional em diferentes extratos de pacientes, divididos pelos achados endoscópicos e uso de medicações. Serão estudados dois extratos de pacientes:

Extrato A - Pacientes dispépticos funcionais *H. pylori* positivos que apresentem exames endoscópicos normais ou com apenas gastrites ou duodenites enantematosas, e que não sejam usuários de AINES/AAS.

Extrato B - Pacientes dispépticos funcionais *H. pylori* positivos que apresentem exames endoscópicos com gastrites/duodenites erosivas e/ou que sejam considerados usuários de AINES/AAS.

Os pacientes dos dois extratos (A e B) que preenchiam os critérios de seleção foram randomizados em blocos de dez em proporção de 1:1 para cada um dos extratos de pacientes, de acordo com lista de computador, para receberem um dos seguintes esquemas:

EXTRATO A dividido em:

GRUPO A1 (Grupo Antibiótico): omeprazol 30mg, amoxicilina 1000mg, claritromicina 500mg (Omepramix)

GRUPO A2 (Grupo Controle): omeprazol 30 mg, e placebos dos antibióticos.

EXTRATO B dividido em:

GRUPO B1- (Grupo Antibiótico): omeprazol 30mg, amoxicilina 1000mg, claritromicina 500mg (Omepramix)

GRUPO B2 (Grupo Controle): omeprazol 30 mg, e placebos dos antibióticos.

O tratamento foi aplicado de forma duplo-cega, via oral, com os medicamentos sendo ingeridos 2 vezes por dia, por 10 dias. Os comprimidos dos princípios ativos e dos placebos foram idênticos na aparência. A elaboração dos medicamentos e a randomização foram realizadas sob a responsabilidade do Aché Laboratórios Farmacêuticos Ltda., que não participa em nenhum momento do atendimento dos pacientes.

Durante o período do estudo, o uso de Famox (20 a 40 mg por dia) e/ou Digeplus (2 vezes por dia) será permitido para tratamento de sintomas dispépticos. Pacientes com intolerância a metoclopramida poderão substituir o Digeplus por domperidona (3 vezes por dia). A utilização dessas medicações será controlada através de ficha/calendário, preenchida pelos pacientes. Os pacientes foram orientados a não utilizarem outras medicações durante o estudo, exceto os medicamentos que já vinham utilizando antes do início da pesquisa.

Avaliação das variáveis endoscópicas

Serão realizadas duas endoscopias digestivas altas (EDA) com biópsias gástricas (antes da randomização dos pacientes). Além desta endoscopia inicial será realizada nova avaliação endoscópica em todos os pacientes 12 meses após a intervenção terapêutica. Todas as endoscopias serão realizadas no Centro Endoscópico do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, por equipe de médicos qualificados e sem as informações dos tratamentos que os pacientes estarão recebendo. Os achados endoscópicos serão classificados, de acordo com os critérios de Sydney para as gastrites (Tytgat, 1991) nas seguintes categorias:

1. mucosa endoscopicamente normal.
2. gastrite endoscópica enantematosa/exsudativa.
3. gastrite erosiva plana
4. gastrite erosiva elevada
5. gastrite atrófica
6. gastrite hiperplásica
7. gastrite hemorrágica
8. gastrite alcalina

Se constatada presença de gastrite endoscópica, a topografia da mesma deverá ser definida como de antro, de corpo, de fundo ou pangastrite. A intensidade das alterações endoscópicas será definida como leve, moderada ou intensa.

Os resultados endoscópicos serão divididos em dois grupos principais:
1- “ausência de destruição tecidual endoscopicamente visível” (endoscopias

normais ou gastrites endoscópicas enantematosas/exsudativas); 2- “destruição tecidual endoscopicamente visível” (gastrites erosivas planas ou elevadas e gastrites hemorrágicas).

Avaliação do *Helicobacter pylori* e das variáveis histológicas

De todos os pacientes serão coletadas 3 biópsias do antro, 2 da incisura angularis e 3 do corpo gástrico. Uma amostra do antro, da incisura e do corpo gástrico serão utilizadas para o teste rápido da urease e as demais amostras serão utilizadas para estudo histológico. As amostras histológicas serão coradas pelas técnicas de GIEMSA e H&E, e a severidade da gastrite será graduada de acordo com as modificações de Houston do Sistema de Sydney. Foi determinada a presença de:

1. Inflamação crônica: baseada na presença de células mononucleares
2. Atividade inflamatória: baseada na presença de neutrófilos
3. Atrofia
4. Metaplasia intestinal
5. Infecção pelo *H. pylori*.

As intensidades da inflamação crônica, da atividade inflamatória e da atrofia foi graduadas em: 0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderada; 3 = severa.

Os espécimes de biópsias serão analisados por 2 patologistas independentes, especializados e desconhecedores de qualquer informação clínica ou endoscópica. Divergências nos resultados serão resolvidas por um terceiro patologista que não tinha previamente examinado a biópsia em questão.

A positividade do *H. pylori* será considerada quando o teste histológico e o teste rápido da urease forem positivos para a presença da bactéria. Erradicação do *H. pylori* será considerada quando tanto o teste rápido da urease quanto a pesquisa histológica, forem negativos na pesquisa realizada no 12º mês pós-randomização. Todos os investigadores que farão o atendimento clínico e todos os pacientes estarão cegados para os dados até o final do estudo, inclusive para o *status* do *H. pylori* após a randomização.

Avaliação dos sintomas e do uso de medicações

Para avaliação dos sintomas dispépticos o presente estudo irá utilizar um questionário doença-específica de 11 itens, denominado Questionário Porto Alegre de Sintomas Dispépticos (PADYQ) (Sander *et al.*, 2004), desenvolvido com base nos sintomas definidos pelo Consenso Roma II como relevantes para o diagnóstico de DF. Os escores variam de zero (sem sintomas) até 44.

A melhora sintomática geral será avaliada com a pergunta: Quanto aos seus sintomas, o Sr./Sra. se considera: melhor, igual ou pior do que antes do tratamento?

A avaliação da qualidade de vida será definida pela aplicação do questionário SF 36.

A utilização de medicações de resgate será registrada em questionário próprio para esse fim.

A utilização de AAS / AINES será registrada em formulário que deverá informar o tipo de medicamento, tipo de uso (contínuo/intermitente), dose, tempo de utilização e indicação para o uso. Outros medicamentos que sejam utilizados durante o estudo serão registrados em todas as visitas clínicas.

Seguimento de variáveis clínicas

Investigadores clínicos treinados e desconhecedores do tipo de tratamento dos pacientes irão aplicar o PADYQ na consulta da randomização (V2) e aos 4 meses (V3), 8 meses (V4) e 12 meses (V5) após o tratamento. Serão avaliados os efeitos colaterais dos medicamentos na V3. Nas visitas V2 até V5 será avaliada a utilização de medicamentos sintomáticos para a dispepsia (medicação de resgate). Questionário de qualidade de vida será aplicado na V1 e V5. Em todas as visitas será preenchido questionário sobre a utilização de medicamentos não permitidos pelo protocolo e também a dose e frequência de utilização de AAS, AINES. Os questionários sobre a sensação de resposta global (se os pacientes se consideram melhor, igual ou pior do seu quadro geral) serão aplicados nas visitas V2 até V5.

Medidas de desfechos

O desfecho principal será a proporção de pacientes com diminuição substancial (melhora igual ou maior que 50%) no escore dos sintomas

dispépticos aos 12 meses, comparados com os escores basais, nos grupos de estudo. Desfechos secundários: a proporção de pacientes com melhora total (100%) dos sintomas, a média dos escores dos sintomas dispépticos nos grupos de estudo, a sensação de modificação geral dos sintomas e da qualidade de vida aos 12 meses e a utilização de medicamentos de resgate. Os desfechos serão avaliados no grupo geral dos pacientes e estratificados de acordo com os grupos de estudo (extrato A e extrato B).

ANEXO 2

Convite para participação no estudo:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

G.P.P.G: FICHA # _____

PACIENTE _____

JUSTIFICATIVA:

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

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

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

DECLARAÇÃO:

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

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

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

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

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

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

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

() não autorizo o seu armazenamento.

Tenho a garantia, caso autorize o armazenamento do material genético (DNA), de que este será armazenado no Serviço de Gastroenterologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob responsabilidade do Dr. Luiz Edmundo Mazzoleni, e será identificado por um número de amostra, sem nome, ficando a codificação sob responsabilidade da equipe de pesquisa.

Declaro ser de livre vontade minha participação nesta pesquisa.

Porto Alegre, _____ de _____ de 200__.

Assinatura dos participantes:

PACIENTE

TESTEMUNHA (nos casos especiais)

INVESTIGADOR

ORIENTADOR / COORDENADOR DO PROJETO

Identificação dos pesquisadores responsáveis:

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

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

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)