

ELIANA DA COSTA ALVARENGA

**AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE FERRO EM PACIENTES
INFECTADOS COM *HELICOBACTER PYLORI***

ORIENTADOR: PROF.^a Dr.^a HELENA ZERLOTTI WOLF GROTTO

CAMPINAS

Unicamp

2009

ELIANA DA COSTA ALVARENGA

**AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE FERRO EM PACIENTES
INFECTADOS COM *HELICOBACTER PYLORI***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas, área de concentração Ciências Biomédicas.*

ORIENTADOR: PROF.^a Dr.^a HELENA ZERLOTTI WOLF GROTTTO

CAMPINAS

Unicamp

2009

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Al86a Alvarenga, Eliana da Costa
Avaliação da deficiência de ferro em pacientes infectados com
Helicobacter Pylori / Eliana da Costa Alvarenga . Campinas, SP :
[s.n.], 2009.

Orientador : Helena Zerlotti Wolf Grotto
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. *Helicobacter Pylori*. 2. Anemia ferropriva. 3. Deficiência
de ferro. 4. Ferro-Metabolismo. I. Grotto, Helena Zerlotti Wolf.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. III. Título.

Título em inglês : Assessment of iron deficiency in *Helicobacter Pylori* infection

Keywords:

- *Helicobacter Pylori*
- Iron deficiency anemia
- Iron deficiency
- Iron-Metabolism

Titulação: Mestrado em Ciências Médicas

Área de concentração: Ciências Biomédicas

Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Helena Zerlotti Wolf Grotto

Prof^º. Dr^º. Rodolfo Delfini Cançado

Prof^ª. Dr^ª. Maria Aparecida Mesquita

Data da defesa: 10-08-2009

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado
Eliana da Costa Alvarenga

Orientadora: Profa. Dra. Helena Zerlotti Wolf Grotto

Membros:

1. Profa. Dra. Helena Zerlotti Wolf Grotto -

2. Prof. Dr. Rodolfo Delfini Cançado -

3. Profa. Dra. Maria Aparecida Mesquita -

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 10/08/2009

DEDICATÓRIA

Ao Moacyr,

meu eterno e verdadeiro amor,
presente de Deus em minha vida.

A minha família, meus pais Antonio e
Lourdes e minha irmã Adriana, que
mesmo nos momentos mais difíceis das
nossas vidas, sempre me apoiaram e
entenderam a minha ausência.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que sou, por tudo que tenho, pela força que me impulsionou a chegar até aqui.

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Helena Zerlotti Wolf Grotto, pelo incentivo e dedicação na orientação deste trabalho.

Aos Professores e funcionários do Departamento de Patologia Clínica, em especial aos dos Setores de Hematologia, Bioquímica, Imunologia e Fisiologia, indispensáveis para a realização desse trabalho.

Aos Funcionários do Laboratório Ramos de Souza, pela execução de um dos testes laboratoriais.

Aos Médicos, residentes, toda a equipe de enfermagem e todos os funcionários do setor de endoscopia do Gastrocentro/Unicamp, pela coleta do material e participação neste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Anatomia Patológica e Laboratório de Hepatologia e Bacteriologia do Gastrocentro/Unicamp, pela dedicação na execução dos testes de laboratório.

A Dra Rita B. Carvalho e a Prof^a Dra Maria Aparecida Mesquita, pela atenção e pela preciosa colaboração na realização deste trabalho.

Ao Elimar e Andrea, da câmara de pesquisa - Estatística da Faculdade de Ciências Médicas, pela inestimável colaboração na execução da análise estatística do trabalho.

A Regina Coeli, secretária do departamento, sempre disponível em ajudar.

A todos os colegas da pós-graduação, em especial às amigas Bárbara, Juliana, Patrícia e Gisélia pela amizade, pela harmoniosa convivência e incentivo para a realização desta pesquisa.

A todos os amigos e colegas que fizeram parte da minha trajetória durante o mestrado, em especial a Maruska pelo incentivo e apoio.

Ao Dr. Rodolfo Delfini Cançado e a Dra Maria Aparecida Mesquita, por participar da Comissão examinadora desta dissertação e pelas valiosas sugestões.

A todos os pacientes pela participação voluntária nesse trabalho.

Ao meu marido Moacyr, por todo amor, carinho, dedicação, incentivo, apoio e pela compreensão quando a minha ausência.

À minha família, pelo carinho, amor e apoio, e que sempre me amparou quando se fazia necessário, mesmo nos momentos de tristeza vocês estavam presentes.

A todas pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

RESUMO

A deficiência de ferro é provavelmente o distúrbio nutricional mais freqüente no mundo. O ferro é um componente essencial da molécula de hemoglobina, da mioglobina e de diversas enzimas. Tem papel fundamental no transporte de oxigênio, na transferência de elétrons e atua como cofator em muitos processos enzimáticos, incluindo a síntese de DNA. Diversos estudos têm mostrado a contribuição da infecção pelo *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) no desenvolvimento da anemia ferropriva e a associação entre o *H. pylori* e a diminuição do estoque de ferro. O objetivo do presente trabalho foi verificar a possível associação entre a infecção pelo *H. pylori* e a deficiência de ferro em um grupo de pacientes adultos. Desse modo pretendeu-se conhecer melhor as alterações hematológicas presentes nos pacientes infectados pelo *H. pylori*, principalmente as relacionadas ao metabolismo do ferro. Foram estudados 156 pacientes adultos de ambos os sexos que foram submetidos à endoscopia digestiva alta para esclarecimento diagnóstico. Desses 156 pacientes, 125 apresentaram alterações à endoscopia, que justificaram a realização da biópsia gástrica. A avaliação da presença de anemia foi feita pelos dados hematimétricos e pelo conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos (Ret-He) e o estado do ferro foi avaliado pelas dosagens de ferro sérico, capacidade de ligação do ferro à transferrina e ferritina sérica. A possível participação da atividade inflamatória na eritropoiese foi verificada pela correlação entre os parâmetros hematimétricos e do estado do ferro com os níveis de proteína C reativa (PC-R). O diagnóstico do *H. pylori* foi realizado através da análise histológica, teste da urease e teste sorológico (IgG anti- *H. pylori*). Os 125 pacientes foram separados em *H. pylori* positivo (n= 75) e negativo (n= 50). Não houve diferença significativa nos valores dos parâmetros hematológicos e bioquímicos, tendo sido diferentes somente os valores de IgG anti-*H. pylori* e de gastrina sérica, significativamente superiores no grupo *H. pylori* positivo. Foi observada uma correlação inversa fraca, mas significativa entre os níveis de PC-R e Ret-He e entre gastrina sérica e Ret-He no grupo *H. pylori* positivo. De acordo com os critérios laboratoriais, dos 125 pacientes apenas 17 (13,6%) mostraram níveis de Hb indicativos de anemia, sendo que desses, 7 (5,6%) mostraram ser positivos para a infecção pelo *H. pylori*. Não foi observada diferença na freqüência

da deficiência de ferro entre os grupos de pacientes infectados pelo *H. pylori* e os não infectados pelo *H. pylori*. Dentre os pacientes estudados a gastrite foi confirmada em 110 pacientes, sendo que 74 (67,2%) eram *H. pylori* positivo. A gastrite foi classificada de acordo com o sistema de Sidney em: moderada/intensa (36,63%), leve (63,37%) e inespecífica (8,1%). Quando os pacientes com gastrite moderada/intensa foram comparados com os com gastrite leve, não houve diferença entre os parâmetros estudados, exceto os valores da titulação de IgG, que foram significativamente superiores no grupo com gastrite moderada/intensa. Portanto, podemos concluir que no grupo de indivíduos estudados a infecção pelo *H. pylori* e a intensidade da gastrite não foram fatores determinantes ao desenvolvimento da deficiência de ferro.

ABSTRACT

Iron deficiency is probably the most common nutritional disorder in the world. Iron is an essential component of the molecule of hemoglobin, myoglobin and various enzymes. It has a fundamental role in oxygen transport, in electrons transference and acts as a cofactor in many enzymatic processes, including synthesis of DNA. Several studies have shown the contribution of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection in the development of anemia and the association between *H. pylori* and reduction of iron store. The objective of this study was to investigate the association between *H. pylori* infection and iron deficiency in a group of adult patients. Thus we intend to study the hematological alterations in *H. pylori* infected patients, mainly those related to iron metabolism. We studied 156 adult patients of both sex undergoing routine upper endoscopy. Of these 156 patients, 125 had gastric biopsies stained for *H. pylori* identification. The evaluation of the presence of anemia was performed by erythrocyte indices and reticulocyte hemoglobin content (RET-He) and the iron status was assessed by measurements of serum iron, iron binding capacity of the transferrin and serum ferritin levels. Inflammatory activity influence on erythropoiesis was verified by the correlation among erythrocyte parameters and the state of the iron with C-reactive protein (CR-P) levels. The diagnosis of *H. pylori* was performed by histological, urease and serological (IgG anti-*H. pylori*) methods. Patients were divided into *H. pylori* positive (n = 75) and negative (n = 50). There was no significant difference in hematological and biochemical parameters, except for IgG anti-*H. pylori* values and serum gastrin, significantly higher in *H. pylori* positive group. There was a weak but significant inverse correlation between CR-P and Ret-He levels and between serum gastrin and Ret-He in *H. pylori* positive group. According to laboratory criteria, only 17 of 125 patients (13.6%) showed levels of hemoglobin indicative of anemia, 7 of 17 patients were positive for *H. pylori* infection. There was no difference in the frequency of iron deficiency anemia between *H. pylori* positive and negative groups. Gastritis was confirmed in 110 patients, of these 74 (67.2%) were *H. pylori* positive. The gastritis was classified according to the Sydney system as: moderate / severe (36.63%), mild (63.37%) and nonspecific (8.1%). There was no difference between groups with moderate/ severe gastritis

and mild gastritis concerning hematologic and biochemical parameters, except the values of the titers of IgG, which were significantly higher in the group with moderate / severe gastritis. Therefore, we conclude that infection by *H. pylori* and the intensity of gastritis were not determining factors for the development of iron deficiency in the studied group.

LISTA DE TABELAS E QUADROS

	Pág.
Tabela 1: Valores de referências (recomendados pelos fabricantes)	67
Tabela 2: Distribuição da população estudada (n=125)	73
Tabela 3: Detecção da infecção pelo <i>H. pylori</i> na população estudada (n=125) ...	74
Tabela 4: Avaliação dos testes de Urease e sorologia (IgG), na detecção do <i>H. pylori</i> tendo a histologia como referência	74
Tabela 5: Parâmetros hematológicos e bioquímicos no grupo de pacientes com biópsia gástrica, separados em <i>H. pylori</i> positivo e negativo. Valores em mediana (mínimo-máximo).....	76
Tabela 6: Coeficiente de correlação (Spearman) na população estudada	82
Tabela 7: Coeficiente de correlação (Spearman) nos grupos de pacientes com biópsia gástrica separados em <i>H. pylori</i> positivo e negativo	86
Tabela 8: Distribuição da população estudada de acordo com os resultados da biópsia/histologia (n=125).....	87
Tabela 9: Parâmetros hematológicos e bioquímicos nos grupos de pacientes com e sem gastrite. Valores em mediana (mínimo-máximo).....	88
Tabela 10: Classificação de gastrite de acordo com o Sistema de Sidney em pacientes com gastrite (n=110)	89
Tabela 11: Parâmetros hematológicos e bioquímicos do grupo de pacientes com gastrite, dividido de acordo com o grau de gastrite. Valores em mediana (mínimo - máximo)	90

Tabela 12: Parâmetros hematológicos e bioquímicos no grupo de pacientes com gastrite, separados em <i>H. pylori</i> positivo e negativo Valores em mediana (mínimo-máximo)	91
Tabela 13: Coeficiente de correlação (Spearman) no grupo de pacientes com gastrite (n=110)	93
Quadro 1: Dados laboratoriais e possíveis diagnósticos dos pacientes submetidos a biópsia gástrica e com anemia (n= 17).....	80
Quadro A1: Parâmetros hematológicos e bioquímicos dos pacientes submetidos à biópsia gástrica (n=126)	137
Quadro A2: Parâmetros hematológicos e bioquímicos dos pacientes não submetidos à biópsia gástrica (n=30)	142

Figura 1: Enterócito e as proteínas envolvidas na absorção do ferro	37
Figura 2: Curva ROC para o método diagnóstico IgG para <i>H.pylori</i>	75
Figura 3: Boxplot referente aos valores de IgG do grupo de pacientes com biópsia gástrica separados em <i>H. pylori</i> positivo e negativo	77
Figura 4: Boxplot referente aos valores de gastrina sérica do grupo de pacientes com biópsia gástrica separados em <i>H. pylori</i> positivo e negativo	78
Figura 5: Correlação entre níveis de Ret- He e PC-R no grupo de pacientes do estudo	83
Figura 6: Correlação entre níveis de log gastrina e hemoglobina no grupo de pacientes de estudo	84
Figura 7: Correlação entre níveis de log gastrina e Ret- He no grupo de pacientes do estudo	85

LISTA DE ABREVIATURAS

AF: anemia ferropriva

CO₂: gás carbônico

¹³C uréia: Uréia enriquecida com carbono 13

¹⁴C uréia: Uréia enriquecida com carbono 14

Dcytb: citocromo B duodenal

DMT1: transportador de metal divalente 1

DNA: ácido desoxirribonucléico

EDA: endoscopia digestiva alta

EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético (anticoagulante)

ELISA: ensaio imunoenzimático

Fe: ferro sérico

Fe ⁺²: íon de ferro ferroso

Fe ⁺³: íon de ferro férrico

Ferr: ferritina sérica

H⁺: íon hidrogênio

H₂: histamina 2

Hb: hemoglobina

HC: Hospital das Clínicas

HE: hematoxilina e eosina

H. pylori: Helicobacter pylori

IBP: inibidor de bomba de próton

IC: intervalo de confiança

ID: identificação

IgA: imunoglobulina A

IgG: imunoglobulina G

IgM: imunoglobulina M

IL-8: Interleucina-8

IMP: integrina/ mobilferrina/ paraferritina

IREG1: proteína transportadora de metal 1

MTP1: proteína transportadora de metal 1

n: número de pacientes

N₂: gás nitrogênio

O₂: oxigênio

p: nível de significância

PC-R: proteína C reativa

PCR: reação em cadeia de polimerase

pH: potencial hidrogeniônico

PLT: Plaquetas

RNA: ácido ribonucléico

Ret – He: determinação do conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos

r: coeficiente de Sperman

SUS: Sistema Único de Saúde

ST: saturação da transferrina

TIBC: capacidade total de ligação do ferro à transferrina

UBT: teste respiratório com uréia marcada

Unicamp: Universidade estadual de Campinas

VCM: volume corpuscular médio

VPP: valor preditivo positivo

VPN: valor preditivo negativo

Vit. B12: vitamina B12

LISTA DE UNIDADES E GRANDEZAS

‰: porcentagem

°C: grau Celsius

dl: decilitro

g: grama

h: hora

l: litro

log: logaritmo

Kda: kilodalton

mg: miligrama

ml: mililitro

pg: picograma

U: unidade

μl: microlitro

μg: micrograma

	Pág.
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	
1.1. Anemia por deficiência de ferro	33
1.2. Ferro da dieta	33
1.3. Absorção do ferro	34
1.4. <i>H. pylori</i>	39
1.5. Mecanismo de ação do <i>H. pylori</i> na mucosa gastrica.....	40
1.6. Epidemiologia e transmissão	42
1.7. Diagnóstico da infecção pelo <i>H. pylori</i>	43
1.7.1.Cultura	44
1.7.2.Histologia.....	44
1.7.3.Teste de urease	45
1.7.4. Sorologia.....	46
1.7.5.Teste respiratório com uréia marcada (UBT)	47
1.7.6. Teste de antígeno fecal	47
1.7.7.Técnica de biologia molecular (PCR)	48

1.8. Relação do <i>H. pylori</i> com gastrite	49
1.9. Definição e classificação das variáveis.....	50
1.10. Relação do <i>H. pylori</i> com a deficiência de ferro	52
1.11. Relação do <i>H. pylori</i> com a anemia perniciosa.....	54
1.12. Relação do <i>H. pylori</i> com a anemia refratária e com a púrpura trombocitopênica idiopática	54
 2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	
2.1. Justificativa	59
2.2. Objetivo	59
 3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	
3.1. Local do estudo e procedência dos pacientes	63
3.1.2. Critério de inclusão de pacientes no estudo	63
3.1.3. Critério de exclusão de pacientes no estudo	63
3.2. Métodos	63
3.3. Análises realizadas	64
3.3.1. Perfil hematológico	64
3.3.2. Avaliação do estado do ferro	64
3.3.3. Diagnostico de anemia perniciosa	65

3.4. Diagnóstico da infecção pelo <i>H. pylori</i>	65
3.4.1. Exame endoscópico	65
3.4.2. Exame histológico.....	66
3.4.3. Teste de urease.....	66
3.4.4. Sorologia para <i>H. pylori</i>	66
3.5. Dosagem de gastrina sérica	66
3.6. Avaliação do processo inflamatório	67
3.7. Critérios laboratoriais para o diagnóstico de:.....	68
3.7.1. Anemia.....	68
3.7.2. Deficiência de ferro	68
3.7.3. Anemia ferropriva	68
3.7.4. Diagnóstico de anemia perniciosa	68
3.7.5. Hipergastrinemia.....	68
3.7.6. Diagnóstico de processo inflamatório	69
3.8. Análise estatística.....	69
4. RESULTADOS	
4.1. Descrição da população estudada.....	73
4.2. Diagnóstico da infecção pelo <i>H. pylori</i>	73

4.3. Análise comparativa entre os pacientes com e sem a infecção pelo <i>H. pylori</i> de acordo com o método histológico	75
4.4. Classificação das anemias	79
4.5. Frequência da deficiência de ferro nos grupos com <i>H. pylori</i> positivo e negativo	81
4.6. Análise dos resultados em relação a gastrite	87
4.7. Classificação do grau de gastrite.....	89
4.8. Análise comparativa entre os graus de gastrite	89
4.9. Análise comparativa entre os grupos de pacientes com gastrite com e sem infecção pelo <i>H. pylori</i>	90
4.10. Correlação entre as variáveis estudada	92
5. DISCUSSÃO	95
6. CONCLUSÕES.....	107
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
ANEXOS.....	135
QuadroA1	137
QuadroA2	142
Aprovação do Comitê de Ética em pesquisa	145
Artigo submetido a Revista Científica: Archives of Medical Research	147

1. INTRODUÇÃO

1.1. Anemia por deficiência de ferro

A deficiência de ferro é provavelmente o distúrbio nutricional mais freqüente em todo o mundo. Embora o ferro (Fe) seja facilmente encontrado na superfície da terra, a sua deficiência é a causa mais comum de anemia, afetando cerca de 500 a 600 milhões de pessoas. Apesar da prevalência de anemia por deficiência de Fe ser alta em países em desenvolvimento, esta forma de anemia é também muito comum em países desenvolvidos, particularmente em crianças, meninas adolescentes e em mulheres em idade de reprodução [1]. A deficiência de Fe é definida como uma diminuição total do ferro corpóreo, resultando numa diminuição nos níveis de ferritina [2; 3].

1.2. Ferro da dieta

O Fe é um dos micronutrientes mais estudados e melhor descritos na literatura, é um componente essencial da molécula de hemoglobina (Hb), da mioglobina e de diversas enzimas. Tem papel fundamental no transporte de oxigênio, na transferência de elétrons e atua como cofator em muitos processos enzimáticos, incluindo a síntese de DNA [4; 5; 6].

O balanço de Fe corpóreo é em sua grande maioria mantido pela absorção do mesmo através da dieta, sendo um importante processo no controle dos níveis de Fe corporal, com mecanismos limitados de excreção. A eliminação do Fe pode ocorrer pela renovação de tecidos que não são reutilizados tais como as células de epiderme e mucosa gastrointestinal, pela menstruação e também através de perdas sangüíneas [7].

As dietas normais cabem aproximadamente de 10 a 20 mg de Fe, presente nos alimentos na forma de hidróxido férrico (Fe não heme), complexos protéicos férricos e complexos heme-proteínas. O conteúdo de Fe e a proporção absorvida

pelo corpo variam de um alimento para outro; em geral carnes, particularmente fígado, são melhores fontes do que vegetais, ovos e laticínios [1; 4].

O conteúdo total de Fe do corpo é normalmente cerca de 2g em mulheres e acima de 6 g nos homens, divididos entre compartimentos de estocagem e funcional. Aproximadamente 80% do Fe funcional é encontrado na Hb; a mioglobina e as enzimas contendo Fe tais como a catalase e os citocromos contêm o restante. O *pool* de estocagem, representado pela hemossiderina e ferritina, contém aproximadamente 15% a 20% do Fe total do corpo [1].

1.3. Absorção do Ferro

O Fe ingerido é, na maior parte, absorvido sob forma ferrosa (Fe heme) na borda em escova das células epiteliais das vilosidades intestinais (enterócitos), principalmente no duodeno e no jejuno proximal. O Fe não heme presente em 80% da dieta em países industrializados é primeiramente reduzido para a forma ferrosa, reação favorecida pela presença de ácidos gástricos, os quais exercem um papel fundamental na redução e na solubilização da forma inorgânica do Fe [3; 8].

Durante a ingestão de alimentos a secreção de ácido gástrico pode ser influenciada por fatores nervosos, psíquicos e hormonais. Quando o alimento chega ao estômago, inicia-se a fase de secreção gástrica. Esta fase é responsável por pelo menos dois terços da secreção gástrica total associada à ingestão de uma refeição [9;10]. A produção desses ácidos é estimulada principalmente pela gastrina, um hormônio produzido normalmente pelas células G da mucosa antral. Além de regulamentar secreção ácida, a gastrina regula vários processos celulares no epitélio gástrico incluindo a proliferação, apoptose, migração, invasão, remodelação tecidual e angiogênese. Elevadas concentrações desse hormônio é causada por diversas condições, particularmente a hipocloridria (resultado de uma

gastrite atrófica autoimune, pela infecção pelo *H. pylori* ou pelo o uso de drogas supressoras de ácidos) e por gastrinomas [11]. A produção desses ácidos é de suma importância para a liberação e diversas enzimas responsáveis pela digestão, além de facilitar e ajudar durante a redução e absorção do ferro pelos enterócitos.

Os enterócitos são células especializadas na absorção e transporte de Fe intestinal, sendo capazes de modular sua absorção através das membranas apical e basolateral. A membrana apical é especializada em transportar o Fe contido no grupamento heme e os íons inorgânicos para o interior dos enterócitos e a membrana basolateral transfere o Fe absorvido, através da membrana apical, para a circulação sangüínea [12] (Figura1).

As células intestinais possuem formas alternativas para transportar o Fe inorgânico, havendo vias distintas para os íons ferroso e férrico, conhecida como via IMP (integrina/ mobilferrina/ paraferritina) para o Fe^{+3} e via do DMT-1 (Transportador de metal divalente 1) para o Fe^{+2} , a qual forma um canal transmembrana para a passagem de metais divalentes, como Fe, cobalto, zinco, manganês, cobre, níquel e cádmio para o interior das células [13;14].

O Fe não-heme atravessa a membrana apical e basolateral das vilosidades dos enterócitos através da ação de dois transportadores distintos. Após a redução a íon ferroso (Fe^{+2}) pelo citocromo B (Dcytb) associado à membrana, o transportador de metal divalente 1 (DMT1) primeiro movimenta o ferro não-heme através da membrana apical. Pelo menos duas proteínas são necessárias para a transferência basolateral do Fe para transferrina no plasma: ferroportina, uma transportadora, e hephaestina, uma ferro-oxidase. Tanto DMT1 quanto a ferroportina são amplamente distribuídos no corpo, sugerindo o seu desenvolvimento no transporte de Fe em outros tecidos também [1].

No enterócito, o Fe pode ser armazenado como ferritina ou ser transferido através da membrana basolateral para a corrente circulatória. Estas vias não são opções exclusivas, mas são determinadas pela demanda orgânica absorptivas dos enterócitos. Em estados de deficiência de Fe ou condições de produção aumentada de enterócitos, as células da mucosa produzem pouca ferritina e a

maioria do Fe que entra na célula fica disponível para o transporte através da membrana basolateral [15; 16; 17].

O transportador de Fe^{+2} através da membrana basolateral é denominado ferroportina ou IREG1 ou MTP1 (proteína transportadora de metal 1). Trata-se de uma glicoproteína transmembrana, localizada na membrana basolateral de células polarizadas e expressa no duodeno, placenta (transporte do Fe da mãe para o embrião), células de Kupffer no fígado (reciclagem do Fe), baço, macrófagos e rins. O transportador requer uma proteína acessória ligada à membrana, a hefaestina. Esta é uma proteína, similar a ceruloplasmina, que atua como uma ferroxidase intracelular. Um dos seus papéis mais importantes é facilitar a oxidação do Fe, o que permite sua rápida ligação com a transferrina plasmática e entrega para as células que expressam receptores de transferrina, prevenindo assim danos endoteliais [14; 18].

Recentemente foi descoberto um peptídeo circulante cuja ação explica como ocorre a liberação e a regulação do ferro a partir da absorção pelas células do enterócitos e dos macrófagos. Este peptídeo denominado hepcidina, regula a absorção do ferro ligando-se à ferroportina, que é então degradada, fazendo com o que o ferro não possa ser exportado para o plasma. Em relação aos estoques de ferro, quando elevados, o fígado aumenta a produção de hepcidina e, consequentemente, inibe a saída do ferro dos enterócitos e dos macrófagos para o plasma. Em contraste, quando se tem menos ferro, a produção da hepcidina é inibida, favorecendo a saída do ferro das células e a absorção pelos enterócitos. Portanto, a ferroportina é o receptor da hepcidina e a interação hepcidina-ferroportina controla os níveis de ferro nos enterócitos, hepatócitos e macrófagos, sendo elemento chave para a regulação de ferro corpóreo [19].

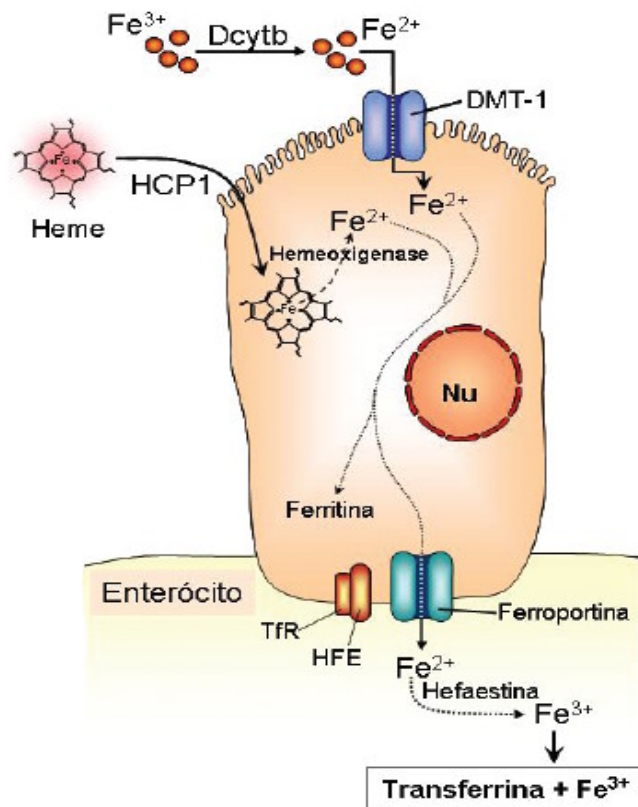


Figura 1. O enterócito e as proteínas envolvidas na absorção do ferro. Dcytb: ferredutase; DMT-1: transportador de metal divalente-1; HCP-1: proteína transportadora do heme-1; Nu: núcleo; HFE: proteína da hemocromatose; TfR: receptor da transferrina

[20]

Vários estudos têm demonstrado que o suco gástrico é mais eficiente do que o simples ácido clorídrico no aumento da absorção de Fe. Annibale et al. [21] demonstraram que o ácido ascórbico ativamente secretado no suco gástrico atua como estimulante para a absorção de Fe, sendo previamente conhecido como o fator intrínseco para a absorção de Fe.

A quantidade diária de Fe necessária para compensar as perdas do organismo varia com a idade e o sexo, sendo maior na gravidez, na adolescência e nas mulheres na fase reprodutiva. Em mulheres e homens mais velhos a deficiência de Fe em geral é decorrente de lesões de mucosa com sangramento no trato intestinal [21]. Estes grupos, portanto, são particularmente suscetíveis a desenvolverem anemia ferropriva (AF) quando há perda adicional ou diminuição da ingestão de Fe [4].

A deficiência de Fe se desenvolve em 3 estágios: a deficiência do estoque de Fe, a falta de Fe para eritropoiese e a AF [22]. Quando a perda de Fe excede a sua absorção, existe um equilíbrio negativo de Fe; ele é mobilizado dos estoques, decrescendo a ferritina do plasma e aumentando a capacidade de ligação do Fe à transferrina. Este estágio é conhecido como deficiência de Fe. Após os estoques terem sido consumidos, a concentração de Fe plasmático diminui, a saturação de transferrina cai abaixo de 15% e diminui a porcentagem de sideroblastos na medula óssea. Como resultado da falta de Fe para a síntese do heme aumenta a concentração de protoporfirina no interior das células vermelhas. Neste estágio conhecido como deficiência de Fe para a eritropoiese, a anemia pode ainda não existir. O terceiro estágio é AF, onde além das anormalidades acima descritas, é detectada a anemia. Inicialmente a anemia é normocrômica e normocítica, gradualmente se torna microcítica e finalmente microcítica e hipocrômica [23].

Os níveis de ferritina sérica refletem a magnitude do estoque de Fe disponível. Está presente nas células do reticuloendotelial do fígado, baço e medula óssea. Sangramentos gastrointestinais gradualmente diminuem o estoque de Fe, causando a diminuição da ferritina sérica.

Os sintomas mais comuns decorrentes da AF são: fraqueza, fadiga, palidez, cansaço, dispnéia aos esforços físicos, dificuldade de concentração e aprendizagem, menor resistência a infecções e irritabilidade. Ademais, esse tipo de anemia está associado à maior mortalidade entre mulheres parturientes e ao aumento do risco de nascimento de crianças prematuras e de baixo peso. Também é relatada a queda de produtividade dos trabalhadores e uma maior mortalidade em crianças, além de atrasos no crescimento das mesmas [24].

Segundo Baggett et al. [25], muitas regiões em todo o mundo têm altas incidências de AF e também de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), incluindo o sul do Alaska, onde ultrapassam os 80% dos adultos [26]. Devido a essa coexistência, diversos estudos têm avaliado a provável correlação entre a infecção pelo *H.pylori* e a anemia por deficiência de Fe.

1.4. *H. pylori*

Em 1983, dois pesquisadores da Austrália, Marshall e Warren, conseguiram o primeiro isolamento de um microorganismo no estômago, utilizando técnicas exigidas para cultivo de *Campylobacter*. O microorganismo isolado foi identificado como bacilo Gram-negativo espiralado, microaerofílico que apresentava aspecto curvado, possuindo até cinco flagelos em um dos seus pólos. A sua detecção foi observada em espécimes de biópsia gástrica endoscópicas, encontrando-se fortemente associadas à presença de processo inflamatório crônico ativo da mucosa gástrica, de forma mais consistente na região antral [27; 28].

A seguir, outros estudos demonstraram que esta bactéria apresentava particularidades microbiológicas próprias, que possibilitaram caracterizá-la como uma nova espécie do gênero *Campylobacter*, em pacientes com gastrite do tipo B. A princípio, os microrganismos foram classificados como *Campylobacter*, e posteriormente, foram reclassificados como novo gênero, *Helicobacter* [28].

O gênero *Helicobacter* é composto atualmente de, no mínimo, 27 espécies que compartilham propriedades comuns, especialmente aquelas relacionadas com a vida no estômago, onde podem localizar-se no fundo e no corpo, mas é principalmente no antro onde as bactérias são encontradas em maior densidade [29].

O *H. pylori* pode distribuir-se de maneira focal, segmentar ou difusa ao longo da mucosa gástrica, localizando-se no interior ou sob a camada de muco que recobre o epitélio da superfície. Possui capacidade excepcional de aderência e está adaptado para colonizar a mucosa gástrica, sendo observado raramente em áreas de metaplasia intestinal. No duodeno, a bactéria coloniza áreas de metaplasia gástrica, fator de grande importância para seu papel na patogênese da úlcera péptica duodenal [30; 31].

Alguns fatores de virulência bacterianos, tais como as enzimas responsáveis pela colonização no hospedeiro, urease, flagelinas e adesinas, são inerentes à espécie *H. pylori*, estando conservados em todas as cepas [32].

Desde sua descoberta, estudos têm demonstrado que a espécie *H. pylori* é reconhecida como o principal fator que provoca gastrite e úlceras pépticas e está associada ao adenocarcinoma gástrico em adultos e mesmo em crianças, sendo provavelmente o agente da infecção crônica mais comum em seres humanos [1; 30; 33].

1.5. Mecanismo de ação do *H. pylori* na mucosa gástrica

A camada de muco que protege as células epiteliais e recobre a mucosa do estômago é produzida por células que secretam grânulos contendo grandes quantidades de proteínas glicosiladas. Estas proteínas junto com uma camada adicional de fosfolipídeos de superfície formam uma camada viscosa que cobre e protege as células epiteliais da mucosa gástrica [34].

De fato o muco atua como barreira semipermeável que permite a passagem dos prótons de H^+ das células da mucosa gástrica que secretam ácido hidrocloreídrico para o lúmen do estômago e é muito pouco permeável a ânions bicarbonato, resultando em um gradiente de pH fortemente ácido [34].

Embora a mucosa gástrica seja protegida contra infecções bacterianas, o *H. pylori* encontra-se muito bem adaptado a este nicho ecológico, dispondo de características que o habilitam a vencer o ambiente ácido intraluminal, penetrar a camada de muco aderir-se às células epiteliais, desencadear resposta imune e garantir uma colonização persistente, que permite a sua transmissão para outro hospedeiro [35].

A propagação do *H. pylori* ocorre especialmente no epitélio gástrico, a nível de mucosa e nas áreas do duodeno com metaplasia gástrica. Entretanto, não ocorre disseminação das bactérias em áreas de mucosa gástrica sujeitas a metaplasia intestinal [36].

Segundo Zhang et al. [37], a bactéria ocupa um único nicho, em um ambiente extremamente ácido. A sua colonização inicial é facilitada pelo bloqueio da produção de ácidos pela atividade da urease bacteriana [28].

A enzima urease, que é uma proteína de alto peso molecular (500 a 600 Kda), atua promovendo a hidrólise da uréia, presente em condições fisiológicas no suco gástrico, levando à produção de amônia. Esta atua como receptor de íons H^+ , gerando pH neutro no interior da bactéria, o que confere a resistência do *H. pylori* à acidez gástrica [38]. Desta maneira, a bactéria fica protegida dos efeitos deletérios do pH ácido do estômago. A maior parte da urease sintetizada pela bactéria situa-se em seu citoplasma. A produção de amônia depende da entrada de uréia na bactéria, por um canal de uréia que é codificada no cluster do gene da urease. Cepas do *H. pylori* com deleção desse gene não sobrevivem em pH ácido. Weeks e Sachs [38], demonstraram que a entrada de uréia na bactéria é acelerada em pH 5 e diminuída em pH 7. A amônia e a urease promovem a desestabilização da camada de muco que, por seguinte, pode induzir a formação de lesões sobre as células de revestimento [39].

A bactéria, na fase inicial da colonização, necessita atravessar a camada de muco que protege o epitélio gástrico. Tal camada é constituída por um gel viscoelástico o qual atua como uma proteção química e mecânica contra bactérias. Entretanto, a membrana lipoprotéica das células epiteliais de revestimento é degradada por enzimas sintetizadas pelo *H. pylori* como as lipases e proteases, facilitando a progressão da bactéria. Além disso, o *H. pylori* move-se facilmente devido aos flagelos e a sua morfologia em espiral; desse modo, atravessa a camada de muco, estabelecendo contato com as células epiteliais de revestimento [40]. Outras enzimas produzidas pela bactéria tais como catalase e peróxido dismutase, ajudam na proteção contra a atividade de neutrófilos e macrófagos, prejudicando a resposta rápida e eficaz do hospedeiro [41].

A ativação do sistema imunológico do hospedeiro em resposta à inflamação da mucosa gástrica induzida pelo *H. pylori*, ocorre através da estimulação e liberação de diversas citocinas as quais ativam as células inflamatórias. Dentre as respostas imunológicas do hospedeiro, que participam do processo inflamatório,

está a liberação de interleucina 8 (IL-8), citocina que participa da migração de neutrófilos e é produzida pelas células epiteliais infectadas [42; 43; 44].

1.6. Epidemiologia e transmissão

A infecção pelo *H. pylori* é considerada atualmente, uma das infecções bacterianas mais comuns entre os seres humanos e é encontrada em todos os continentes do planeta. Estima-se que a sua prevalência esteja acima de 50% na população mundial. Do ponto de vista das manifestações clínicas, a infecção caracteriza-se por sintomas dispépticos inespecíficos no momento da instalação aguda da infecção. Posteriormente, pode levar ao desenvolvimento de gastrite crônica, mas em geral os pacientes permanecem assintomáticos. Em consequência destas características, torna-se muito difícil estabelecer o início da infecção pelo *H. pylori*. Diversos estudos epidemiológicos têm avaliado a prevalência da infecção em diferentes regiões do mundo [45; 46]. Pesquisas têm demonstrado que o *H. pylori* está presente em 90% dos pacientes com gastrite crônica que afeta o antro e a sua distribuição não ocorre de maneira uniforme em todos os grupos populacionais. Os níveis de colonização aumentam com a idade, chegando a 50% em adultos assintomáticos acima de 50 anos de idade. A prevalência da infecção pelo *H. pylori* em adultos de Porto Rico excede os 80%. Nesta e em outras áreas, onde a infecção é endêmica, o microrganismo parece ser adquirido na infância e persiste por décadas [1]. Em um estudo realizado em Belo Horizonte com indivíduos entre sete meses e 16 anos, observou-se que o indivíduo mais jovem infectado tinha 3 anos e que a positividade de infecção pela bactéria aumentava com a idade, atingindo 82% dos indivíduos maiores de 12 anos [47]. Estes dados são similares aos encontrados por Coelho et al., [48] em adultos sintomáticos na mesma cidade. Em outros estudos brasileiros em diversas regiões, encontraram as seguintes prevalências da infecção pelo *H. pylori*: 59,5%

no Rio de Janeiro (RJ) [49]; 83% em Santa Maria (RS) [50]; 84,7% em Nossa Senhora do Livramento (MT) [51]; 89,6% em Campinas (SP) [52] e 96% em São Luís (MA) [53].

O modo de transmissão do *H. pylori* ainda não foi totalmente definido, mas acredita-se como possível a transmissão via oral-oral ou ambiental. A maioria das pessoas infectadas também tem gastrite associada, porém são assintomáticas e apresentam maior risco de desenvolver úlcera péptica e, possivelmente câncer gástrico [1].

1.7. Diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*

Desde décadas passadas diferentes métodos para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* tem sido desenvolvidos. O *H. pylori* foi inicialmente detectado através de cultura celular de biópsia gástrica por Marshall e Warren em 1983 e este método representou um grande avanço na exploração da bactéria associada a outras doenças [54].

Recentemente, após um conhecimento mais detalhado do patógeno uma variedade de métodos tem sido disponibilizados para uma melhor detecção da infecção pelo *H. pylori*.

Os métodos diagnósticos da infecção pelo *H. pylori* podem ser classificados em métodos “não invasivos”, como teste imunoenzimático para detecção de anticorpos das classes IgG ou IgA, análises respiratórias para ^{13}C -uréia ou ^{14}C -uréia, ou pesquisa de antígenos fecais; métodos invasivos, que necessitam de endoscopia e biópsia, e são: estudo histológico, atividade da urease em amostras de antro gástrico ou cultura (não rotineiramente disponível). Todos esses testes têm boas sensibilidades e especificidade, mas há casos de determinações falso-negativas e falso-positivas. Em testes em que os resultados dependem do número de microrganismos (análise e avaliação de amostras gástricas obtida por biópsia para atividade da urease, histologia e cultura), resultados falso-negativos ocorrem

especialmente quando o microrganismo foi suprimido por antibióticos, inibidores da bomba de prótons, ou bismuto. O tratamento deve ser descontinuado durante algumas semanas, para que esses testes voltem a ficar positivos [55].

1.7.1. Cultura

O isolamento do *H. pylori* a partir de fragmentos de mucosa gástrica é o método mais específico para o diagnóstico da infecção. Permite, também, o estudo da amostra quanto à presença de fatores de virulência e a susceptibilidade a antimicrobianos, visando uma terapêutica melhor orientada [32; 56].

Embora o teste seja bastante específico para a detecção da infecção pelo *H. pylori*, a sua sensibilidade mostra flutuações significativas e os resultados dependem principalmente da qualidade da amostra, das condições de transporte, da interpretação dos resultados e alguns cuidados a serem tomados durante o processo como: condições microbiológicas adequadas (85% N₂, 10% CO₂, 5% O₂), umidade relativa maior do que 90%, incubação de 35° a 37°C no máximo por 7 a 10 dias. As culturas positivas são identificadas e geralmente detectadas em 3 a 5 dias de incubação [32].

Sua detecção pode ser influenciada também pelo uso prévio de alguns medicamentos, usados por pacientes em tratamento de dispepsia, como omeprazol, alguns antimicrobianos, bismuto ou benzocaínas [57].

1.7.2. Histologia

A histologia é considerada o método padrão para o diagnóstico de *H. pylori* e fornece informações complementares sobre a morfologia tecidual como a

presença de inflamação aguda ou crônica, agregados linfóides, metaplasia intestinal e atrofia glandular [54].

Segundo Dixon et al., [58], os melhores locais para serem coletados fragmentos gástrico para a detecção de *H. pylori* são o corpo e antro.

Embora a técnica histológica não esteja livre de falhas, a especificidade e a sensibilidade são altas [59].

O método histológico é realizado após o exame diagnóstico de endoscopia. Dois fragmentos da mucosa gástrica são retirados e geralmente estendidos em papel de filtro, fixados em formol a 10% e embebecidos em parafina para a realização de cortes histológicos. O microrganismo pode ser identificado por diversas colorações histológicas como Giemsa, Hematoxilina e eosina, Warthin-Starry, Steiner e Carbolfucsina [57; 60].

A acurácia da pesquisa do microrganismo em cortes histológicos depende da identificação exata da localização do *H. pylori* na região afetada, uma vez que coletas feitas em locais inadequados podem levar à distribuição desigual do organismo na mucosa gástrica, e da experiência do patologista que irá analisar a amostra [59].

1.7.3. Teste da urease

A observação que o *H. pylori* produz grandes quantidades de urease levou ao desenvolvimento de métodos para a detecção indireta do organismo em tecido de biópsia gástrica [32].

O teste de urease é o método mais simples e menos dispendioso e fornece resultados dentro de horas ou mesmo minutos, dependendo da densidade das bactérias presentes na mucosa [61].

Durante o exame endoscópico, fragmentos de biópsia gástrica são introduzidos em um substrato contendo uréia e um indicador de pH (fenol

vermelho). A urease hidrolisa a uréia em amônia e dióxido de carbono, causando um aumento no pH e uma mudança de cor no meio, de amarelo para rosa [59; 62].

A sensibilidade do teste baseado na urease para detecção da infecção pelo *H. pylori* é dependente do local onde a bactéria se encontra e da quantidade de carga bacteriana, portanto pode gerar alguns resultados falso-negativos pela razão da distribuição irregular da bactéria na mucosa gástrica ou ao uso de antimicrobianos ou de inibidores de bombas de prótons (IBP). Esses inibidores podem alterar o meio onde as bactérias estão presentes, especialmente o antro, tornando o meio inóspito e diminui a carga bacteriana. Além disso, eles também podem possuir propriedades antiurease. Outro motivo para um teste falso-negativo é a presença de metaplasia intestinal, o que também corresponde a um ambiente inóspito para *H. pylori* [59].

1.7.4. Sorologia

Este método se baseia na detecção de anticorpos específicos [imunoglobulina G (IgG)] contra o *H. pylori*, em amostras de soro das pessoas infectadas. Geralmente é realizada através de técnica de Elisa (Enzyme-Linked-Immunosorbent Assay) ou látex-aglutinação [63].

Por ser um método não invasivo, o teste sorológico tem sido usado em estudos epidemiológicos [64], mas por ser uma infecção restrita à mucosa, em alguns casos a estimulação antigênica pode ser lenta; os resultados-falsos negativos podem ocorrer em poucas semanas ou meses após nova infecção e resultados falso positivos pode ocorrer em paciente cuja infecção tenha sido erradicada [65].

1.7.5. Teste respiratório com uréia marcada (UBT)

Em 1987 foi descrito o primeiro uso de UBT no diagnóstico da infecção de *H. pylori* e estabeleceu-se na época como o diagnóstico “padrão” entre os métodos não invasivos [66].

Alguns estudos realizados em adultos e em crianças demonstraram que o teste UBT apresenta uma sensibilidade e especificidade superior a 90% para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* [67; 68; 69]. A excelente sensibilidade em particular pós-terapia pode ser explicada pelo fato de que o teste UBT provavelmente produz mais resultados positivos do que testes baseados em biópsia mesmo em casos de moderada colonização ou distribuição desigual de *H. pylori*. Resultados falso-positivos provenientes de infecção por outros patógenos que produzem urease são raros [54].

Os resultados falso-negativos podem ocorrer quando o paciente está em tratamento com uso de antimicrobianos e de IBP, os quais podem levar a diminuição da densidade bacteriana. Os IBPs devem ser suspensos pelo menos 15 dias e os antimicrobianos 1 mês antes da realização do teste. Por outro lado, o uso de antiácidos e de antagonista de receptores de histamina 2 (H_2) raramente interferem no resultado do teste, sendo aconselhado a suspensão de ambos nas 48 horas que precedem o exame [56].

O princípio do teste UBT para o diagnóstico de *H. pylori* é similar a outros testes baseado na urease. O paciente ingere uma solução de uréia marcada (^{14}C ou ^{13}C). Sob a ação da urease do *H. pylori*, a uréia é convertida em amônia e bicarbonato, o qual é absorvida e convertida em CO_2 nos pulmões. O paciente então expira em um balão ou outro recipiente próprio onde a presença do carbono marcado pode ser detectada por cintilação ou espectrografia [32; 59].

1.7.6. Teste de antígeno fecal

A introdução do teste de antígeno fecal policlonal marcou a década de 1990 como uma verdadeira novidade e com uma vantagem particular a ser usada no diagnóstico de rotina. Este teste foi seguido por um teste monoclonal, que mostrou ser superior ao primeiro teste [54].

A detecção de antígeno de *H. pylori* em amostras de fezes é feito pelo método imunoenzimático utilizando anticorpos mono ou policlonais e há vários kits comerciais disponíveis [59].

Gisbert e Pajares [70] mostraram que a detecção do *H. pylori* através do teste de antígeno fecal apresenta valores de sensibilidade e especificidade elevados (aproximadamente acima de 88%). Sendo assim, pode ser considerado um método não invasivo preciso para o diagnóstico da infecção por *H. pylori* em pacientes não tratados.

Para a obtenção de ótimos resultados, o transporte e a manutenção adequada das amostras são essenciais. As amostras devem ser estocadas por 24h em temperatura ambiente ou 72h à 4°C; sem refrigeração a sensibilidade reduz em 2 a 3 dias [54].

Sangramentos no trato gastrointestinal e o uso de antimicrobianos e de inibidores de bomba de próton (IBP) diminuem a sensibilidade do teste, que não é alterada, entretanto, por antagonistas do receptor H₂ e antiácidos [54; 56].

1.7.7. Técnica de biologia molecular – PCR

A utilização de métodos moleculares para a detecção *H. pylori* aumentou significativamente nos últimos anos [54].

O teste da reação em cadeia da polimerase (PCR) é usado para o diagnóstico da infecção, genotipagem dos marcadores de virulência e determinação de susceptibilidade da bactéria aos antimicrobianos tanto em amostras isoladas quanto em fragmentos de biópsia [59].

O PCR utiliza oligonucleicos sintéticos que agem como “primers” para a replicação enzimática das seqüências definidas de DNA [71]. Este método apresenta altíssima sensibilidade e especificidade, podendo ser feito diretamente das biópsias gástricas ou duodenais, do suco gástrico, da placa dentária, da saliva, da cultura e até mesmo das fezes [59].

Alguns resultados recentes têm demonstrado que o PCR mostra resultado confiável na detecção da infecção e pelo *H. pylori* e na identificação à resistência a claritromicina. Considerando o aumento na prevalência da resistência ao antibiótico, especialmente a claritromicina, este teste pode ser considerado o mais sofisticado no diagnóstico de *H. pylori* [72].

1.8. Relação do *H. pylori* com gastrite

O conhecimento adquirido a respeito do *H. pylori* tem estabelecido o seu papel no desenvolvimento do processo inflamatório crônico na mucosa gástrica, e a sua associação com várias doenças gastroduodenais [73]. Esta infecção é aceita hoje como a principal causa de gastrite e pela maioria dos casos de doença péptica, duodenal ou gástrica, estando também relacionada ao desenvolvimento de adenocarcinoma do estômago e de linfoma primário associado ao tecido linfóide de mucosa gástrica [65; 73].

A colonização do estômago pelo *H. pylori* induz o desenvolvimento de um processo inflamatório gástrico. Logo após a contaminação bacteriana, desenvolve-se uma inflamação aguda, dita gastrite aguda. Nesta fase existe um infiltrado neutrofílico ou eosinofílico, que posteriormente pode evoluir para a gastrite crônica, caracterizada pela infiltração da mucosa gástrica por linfócitos e plasmócito [1; 74].

Do ponto de vista histológico, a gastrite crônica associada ao *H. pylori* é evidenciado de forma bem característica no antro gástrico, embora alterações

similares, freqüentemente mais discretas e superficiais, possam estar presentes em todo o estômago [75].

Para o diagnóstico da gastrite o exame histológico é considerado fundamental (“Gold standart”) e essencial. Em busca de uma uniformidade do diagnóstico da gastrite foi criado o Sistema de Sydney, cuja classificação da gastrite destaca a importância da combinação entre os achados topográficos, morfológicos e informações sobre a etiologia [76].

Em 1994, um grupo de patologistas reunidos em Houston no Texas revisou o Sistema de Sydney com o objetivo de identificar, definir e resolver alguns questionamentos daquela classificação inicial. Para um diagnóstico detalhado e completo, faz-se necessária uma comunicação entre o endoscopista e o patologista, através do fornecimento de informações sobre os achados endoscópicos como pólipos, úlcera, metaplasia, atrofia, erosões entre outras lesões. As recomendações atuais do Sistema de Sydney, consistem em coleta de amostra provenientes de 5 locais pré determinados (2 do antro, 2 do corpo e 1 da incisura angular). Essas amostras devem ser identificadas em frascos separados contendo todas as informações necessárias a serem passadas ao patologista como os achados endoscópicos, história clínica e local das biópsias. Além disso, uma coloração especial deve ser realizada para a detecção do *H. pylori* antes de declarar a ausência deste microrganismo em amostras de mucosa com inflamação crônica [58].

1.9. Definições e classificação das variáveis

- **Densidade do *H. pylori*** – a informação da presença deste patógeno é de suma importância. Variações na densidade podem orientar sobre a associação com outras patologias e tem importância epidemiológica [77]. Algumas dificuldades na identificação do *H. pylori* são particularmente encontradas nas porções da mucosa que

apresentam metaplasia intestinal, áreas geralmente não colonizadas pela bactéria. Portanto é recomendado iniciar a abordagem nas áreas em que normalmente a bactéria reside [58].

- **Infiltrado inflamatório** – em geral, o infiltrado inflamatório é constituído de neutrófilo e células mononucleares. O grau de inflamação varia desde infiltrado mínimo da lâmina própria com arquitetura preservada até gastrite grave com inflamação densa [78]. Nos casos mais graves, podem ser vistos neutrófilos dentro do epitélio superficial e nas fóveas gástricas em microabcessos. Os neutrófilos foram enfatizados nos primeiros estudos da gastrite causada pelo *H. pylori*, mas posteriormente, ficou claro que numerosas células inflamatórias crônicas (plasmócitos e linfócitos) também fazem parte do quadro inflamatório [79]. Normalmente, não há neutrófilos na mucosa gástrica, de modo que qualquer quantidade é anormal. A presença da atividade dos neutrófilos é sempre considerada um fenômeno universal de gastrite associada ao *H. pylori* [60]. A densidade de neutrófilos na camada intra-epitelial tem sido correlacionada com dano a mucosa gástrica e com a intensidade da infecção pelo *H. pylori* [80; 81]. Os neutrófilos são indicadores sensíveis da presença ou ausência do *H. pylori* e desaparecem após dias da erradicação da infecção.
- **Atrofia glandular** – é definida como a perda do tecido glandular, que pode levar à erosão da mucosa ou ulceração com destruição do tecido glandular, e no prolongamento do processo inflamatório. Embora a metaplasia intestinal possa surgir de forma independente, a presença da mesma pode ser um indicador da presença da atrofia. A atrofia da mucosa gástrica está associada com a diminuição da secreção ácida e o desenvolvimento da metaplasia intestinal, as

quais estão intensamente associadas ao aumento no risco de câncer gástrico [82; 83].

1.10. Relação do *H. pylori* com a deficiência de ferro

Vários estudos têm mostrado a contribuição da infecção pelo *H. pylori* no desenvolvimento da AF e a associação entre a infecção pelo *H. pylori* e a diminuição do estoque do Fe [84; 85].

Na Austrália, Peach et al. [86] encontraram níveis de ferritina mais baixos em mulheres infectadas com *H. pylori* do que na população normal. Milman et al. [84] mostraram na população dinamarquesa, que indivíduos com sorologia positiva para *H. pylori* apresentavam risco maior do que 40% de terem os níveis de ferritina reduzidos. Berg et al., [87], relataram que a infecção pelo *H. pylori* estava associada a um decréscimo de 17% na concentração de ferritina sérica. A associação entre AF e *H. pylori* foi avaliada em crianças no Alaska e foi observado que 99% das crianças infectadas pelo *H. pylori* apresentavam AF [29]. A presença do *H. pylori* pode também explicar casos de AF refratária [87]. Seo et al., [88], estudaram 753 crianças coreanas de 6 a 12 anos e observaram que os níveis médios de ferritina sérica eram significativamente menores em crianças soro positivas para *H. pylori* do que no grupo controle. Nesse mesmo grupo a prevalência de deficiência de Fe foi significativamente mais alta (13,9%) em crianças com sorologia positiva para *H. pylori* do que nas crianças soro negativas (2,8%). Em outro estudo realizado com 2080 nativos do Alaska, foi observada a associação entre os níveis baixos de ferritina e a prevalência de *H. pylori*, particularmente em pessoas com menos que 20 anos de idade [26]. Os autores concluíram que o *H. pylori* pode ser um fator que contribui para a AF na população nativa do Alaska. No conjunto, estes estudos epidemiológicos conduzidos em diversas áreas geográficas, indicam que a positividade para o *H. pylori* está associada com a diminuição significativa nos níveis de ferritina, implicando na

diminuição dos estoques de Fe. No entanto não há evidências da associação entre AF e a positividade para *H. pylori* [89].

Várias possíveis explicações para a associação entre *H. pylori* e deficiência de Fe tem sido propostas.

Segundo Barabino et al., [90] o *H. pylori* pode levar a uma AF devido ao sequestro do Fe da mucosa antral inflamada. O Fe é um fator essencial para o crescimento de muitas bactérias, incluindo o *H. pylori*. A infecção pelo *H. pylori* pode levar a um desequilíbrio na homeostase do Fe corpóreo através do aumento da demanda de Fe pela bactéria. Com isso o Fe transportado pela transferrina seria privado dos depósitos, limitando o aproveitamento do Fe da dieta ou Fe heme para a eritropoiese [84].

Husson et al., [91], relataram que o *H. pylori* é capaz de usar o Fe da lactoferrina humana, uma glicoproteína de ligação do Fe que é produzida pelos neutrófilos. Segundo Barabino et al., [90], na gastrite haveria um aumento dos níveis de lactoferrina. O *H. pylori* possui um receptor para a lactoferrina e com a infecção, haveria uma perda de Fe devido a essa ligação da lactoferrina ao receptor da bactéria.

Além desses possíveis desvios do aproveitamento do Fe pela bactéria, a infecção pelo *H. pylori* pode exercer um efeito negativo no balanço de Fe corpóreo pelo aumento de perdas do mesmo no trato gastrointestinal [84] e pela menor absorção do Fe. Existem várias possíveis explicações para este efeito: na gastrite crônica haveria uma redução no suco gástrico e dos ácidos, como o ácido ascórbico, o qual ajuda a converter o Fe férrico para Fe ferroso, estabelecendo assim um pH alcalino no duodeno. Desse modo ocorreria uma diminuição na absorção do Fe não heme [3].

Novamente, o *H. pylori* estaria envolvido, já que foi demonstrado por Zhang et al., [37] que pacientes com dispepsia gástrica, apresentam o ácido ascórbico em níveis significativamente mais baixos quando infectados pelo *H. pylori* do que pessoas não infectadas.

1.11. Relação do *H. pylori* com anemia perniciosa

A destruição da mucosa gástrica pelo *H. pylori* pode também estar associada ao desenvolvimento da anemia perniciosa. A lesão das células parietais da mucosa gástrica e, conseqüentemente, a falta do fator intrínseco levaria a uma menor absorção da vitamina B12. Indivíduos infectados pelo *H. pylori* apresentam IgG circulante contra epitopos das células da mucosa gástrica. A proteína H⁺K⁺-ATPase, o antígeno mais comum na anemia perniciosa, é provavelmente o principal alvo da auto-imunidade desencadeada pelo *H. pylori* e direcionada contra as células parietais devido a um mimetismo antigênico [92; 93; 94].

Como a anemia perniciosa é uma doença que tem maior incidência na população mais idosa, alguns autores sugerem que a AF associada ao *H. pylori* pode preceder o desenvolvimento da deficiência de vitamina B12 e anemia megaloblástica [89; 95].

Carmel et al., [96] estudaram indivíduos com níveis reduzidos de cobalamina sérica e observaram uma alta frequência de IgG contra o *H. pylori* entre os pacientes com má-absorção grave de cobalamina, o que sugere que a gastrite induzida pelo *H. pylori* predispõe às formas mais graves de má-absorção de cobalamina.

1.12. Relação do *H. pylori* com anemia refratária e com a púrpura trombocitopênica idiopática.

Tem sido proposto que a infecção pelo *H. pylori* também pode estar relacionada com a anemia refratária e com a púrpura trombocitopênica auto-imune. Dufour et al., [97] relataram um caso de gastrite crônica antral causada pelo *H. pylori* associado com a anemia sideroblástica, que foi refratária à ingestão de ferro oral e respondeu apenas após a erradicação do *H. pylori*. Resultado semelhante foi mostrado por Marignani et al., [98], no relato do caso de um

paciente com um longo histórico de anemia sideropênica que só foi revertida após a erradicação total do *H. pylori*. Além disso, no trabalho realizado por Barabino et al., [99], foram estudados 4 casos de anemia refratária, onde eles sugerem que nos casos de anemia refratária inexplicável, deve ser analisada a possível infecção pelo *H. pylori*. Choe et al., [100] mostraram que o tratamento da infecção pelo *H. pylori* foi associado com uma resposta mais rápida ao tratamento de ferro oral do que com o uso isolado da terapia de reposição. Além disso, houve uma melhora na absorção do ferro, mesmo naqueles que não receberam a terapia com ferro oral. A partir de resultados de diversos estudos clínicos e de análises de ferrocinética, foram sugeridas algumas possíveis explicações para a associação da anemia refratária com a infecção pelo *H. pylori*: a infecção pela bactéria leva a inflamação da mucosa gástrica, que induz um aumento da lactoferrina gástrica, que por sua vez retira o ferro ligado à transferrina, o que possibilita que a bactéria absorva ferro da lactoferrina resultando em um círculo vicioso, no qual a fonte de ferro corpóreo é incapaz de aumentar os níveis de hemoglobina, mas permite um maior crescimento do *H. pylori*. Além dessa explicação, os autores também sugerem que a infecção pelo *H. pylori* altera o pH do estômago dificultando assim a absorção de ferro pelas células intestinais. Desta forma, a sua erradicação da bactéria junto com a suplementação de ferro poderá corrigir a anemia [97; 98; 99; 100].

Recentemente alguns autores têm sugerido também a relação entre a infecção pelo *H. pylori* e algumas doenças auto-imunes, especialmente com a púrpura trombocitopênica idiopática [101; 102]. Alguns estudos mostraram que após a erradicação do *H. pylori* houve um aumento na contagem das plaquetas em pacientes trombocitopênicos [103; 104]. Aparentemente, ainda não há explicação conclusiva para o mecanismo de surgimento dessa associação [101; 102; 103; 104], mas o *H. pylori* tem sido considerado não apenas o agente etiológico de gastrites, úlceras pépticas e câncer gástrico, mas um importante coadjuvante no surgimento de algumas doenças auto-imunes como artrite reumatóide e tireoidites, além da púrpura trombocitopenica idiopática em adultos [105].

2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

2.1. JUSTIFICATIVA

A associação entre o *H. pylori* e deficiência de Fe tem merecido a atenção de diversos pesquisadores e os resultados da literatura são bastante controversos.

Não existem estudos a esse respeito na nossa população. Embora a incidência da presença do *H. pylori* seja considerável, não é feita rotineiramente a investigação do estado do Fe nesses pacientes e de uma possível deficiência de Fe ainda na fase inicial da deprivação. Se a relação entre infecção pelo *H. pylori* e a deficiência de ferro for confirmada, poderão ser propostas estratégias que auxiliem os médicos no diagnóstico e tratamento precoce dos pacientes.

2.2. OBJETIVOS

Comparar três métodos de diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* em um grupo de pacientes atendidos no ambulatório do Gastrocentro da Unicamp/SP.

Avaliar os aspectos relacionados ao metabolismo do ferro em um grupo de pacientes com infecção pelo *H. pylori* e estabelecer a frequência da deficiência de Fe acompanhada ou não de anemia nesses pacientes.

Além disso, tendo em vista a importância da atividade inflamatória sobre a eritropoiese já estudada em diversas doenças, será avaliada a possível correlação entre o processo inflamatório associado à gastrite e alterações na hematopoiese.

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1. Local do estudo e procedência dos pacientes

O estudo foi desenvolvido no município de Campinas, na Divisão de Patologia do Hospital das Clínicas (HC) da Unicamp/SP e os pacientes foram selecionados no ambulatório do Gastrocentro da Unicamp/SP.

3.1.2. Critérios de inclusão de pacientes no estudo

Foram selecionados para esse estudo pacientes adultos de ambos os sexos que foram submetidos à endoscopia para esclarecimento diagnóstico.

O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp (aprovação em anexos).

A participação no projeto foi voluntária. Os pacientes deram consentimento por escrito concordando com sua participação nesse estudo.

3.1.3 Critérios de exclusão de pacientes no estudo

Foram excluídos pacientes com neoplasias, sorologia positiva para HIV, pacientes em uso de antibióticos e antiácidos. Foram excluídos os pacientes que faziam o uso de medicações contendo ferro, vitamina B12 e pacientes transfundidos menos de 120 dias também foram excluídos do estudo.

3.2. MÉTODOS

Participaram da pesquisa 156 pacientes, sendo 106 do sexo feminino e 50 do sexo masculino, na faixa etária de 17 a 83 anos. O grupo de estudo foi constituído de 125 indivíduos, uma vez que dos 156 pacientes iniciais, 30 deles não foram submetidos à biópsia gástrica e um paciente era gastrectomizado.

Os pacientes tiveram 20 ml de sangue coletados em jejum, em três tubos: um tubo com EDTA (para avaliação dos parâmetros hematimétricos) e dois com gel ativador de coágulo para avaliação bioquímica.

3.3. ANÁLISES REALIZADAS

3.3.1 Perfil hematológico

Para avaliação do perfil hematológico foram realizadas as seguintes determinações: hemograma completo, contagem de reticulócitos automatizada por citometria de fluxo com o uso de um marcador fluorescente de RNA (polimetina) e a determinação do conteúdo de Hb nos reticulócitos (Ret-He), utilizando contador automatizado hematológico Sysmex XE 2100 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan).

O equipamento detecta diferenças no tamanho e conteúdo celular em canal de laser separado. Após a coloração do RNA e a emissão de sinais fluorimétricos são diferenciados os eritrócitos maduros (sem conteúdo de RNA) dos reticulócitos (com conteúdo de RNA). O conteúdo do reticulócito obtido pela leitura fluorimétrica corresponde ao grau de hemoglobinizacão das células. O resultado é dado em picogramas, com intervalo de referência entre 28,1 a 38,64 pg.

3.3.2. Avaliação do estado do ferro

- Ferro sérico (Fe): ensaio colorimétrico (Roche/ Hitachi Modular Analyser, Germany).
- Capacidade Total de Ligação do ferro (TIBC): ensaio colorimétrico (Roche/ Hitachi Modular Analyser, Germany).
- Ferritina (Ferr): imunoensaio de eletroquimioluminescência, Kit Elecsys Ferritin e o leitor Roche Elecsys 2010 (Roche, Los Angeles, EUA).

- Saturação da transferrina (ST): calculado pela fórmula $\text{ferro s\acute{e}rico/TIBC} \times (100)$ e expresso em percentagem.

3.3.3. Deficiência de Vitamina B12

Vitamina B12 (Vit. B12): imunoensaio de eletroquimioluminescência, Kit Elecsys Vitamin B12 e o leitor Elecsys 2010 (Roche).

3.4. DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO *H. PYLORI*:

Realizado de acordo com o protocolo utilizado pelo serviço de endoscopia do Gastrocentro/ HC – Unicamp compreendendo: endoscopia com a realização de biópsia gástrica, histologia e pesquisa de urease.

3.4.1. Exame endoscópico

O exame foi realizado após jejum aproximado de 6 horas. Para a realização do exame diagnóstico foram utilizados o fibroendoscópio ou o videoendoscópio da marca Olympus e Fujinon. Durante a endoscopia digestiva alta (EDA), foram retirados 4 fragmentos, sendo 2 fragmentos da mucosa antral e 2 fragmentos da mucosa do corpo. Para a realização das biópsias foram utilizadas pinças de biópsia marca Olympus, FB-25K-1. Após a coleta foi realizada uma limpeza minuciosa, uma desinfecção e esterilização do equipamento e da pinça utilizada. Os fragmentos gástricos foram submetidos à avaliação de *H. pylori* por 2 métodos: exame histológico e teste de urease.

3.4.2. Exame histológico

Dois fragmentos, 1 de antro e 1 de corpo foram estendidos em um papel filtro e fixados em formol a 10%. Após todo procedimento histológico, os fragmentos foram corados com hematoxilina-eosina e analisados pelo mesmo patologista para a pesquisa de *H. pylori*. A caracterização da gastrite foi estabelecida de acordo com o Sistema de Sidney [58].

3.4.3. Teste de urease

O teste de urease foi realizado de acordo com o protocolo do laboratório de hepatologia e bacteriologia do Serviço de Endoscopia do Gastrocentro -UNICAMP, utilizando uma solução modificada de Christensen, que contém uréia a fenol vermelho como indicador. O teste foi considerado positivo quando ocorreu uma mudança de cor na solução de amarelo para róseo, nas primeiras 24 horas de incubação.

3.4.4. Sorologia para *H. pylori*

Pesquisa de anticorpos IgG para *H. pylori*: por ensaio imunométrico quimioluminescente (IMMULITE/IMMULITE 1000 *H.pylori* IgG, Siemens - Los Angeles).

3.5. DOSAGEM DE GASTRINA SÉRICA

Os níveis de gastrina sérica foram determinados por quimioluminescência no analisador Immulite 1000 (Gastrina Immulite/ Immulite 1000, Siemens – Los Angeles).

3.6. AVALIAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO:

Determinação dos níveis séricos de Proteína C Reativa (PC-R): ensaio imunoturbidimétrico (Roche/ Hitachi Modular Analyser, Germany).

A tabela 1 mostra os valores de referências de acordo com os fabricantes para os parâmetros estudados.

Tabela 1: Valores de referências (recomendados pelos fabricantes)

Variáveis	Valor de referência
Fe (µg/dl)	H: 40 a 160 M: 30 a 160
TIBC (µg/dl)	228 a 428
Ferr (µg/l)	H: 30 a 400 M: 13 a 150
ST (%)	33 a 55
Vit. B12 (pg/ml)	145 a 946
Gastrina (pg/ml)	13 a 115

Fe = ferro sérico; TIBC= capacidade total de ligação do ferro a transferrina; Ferr= ferritina sérica; ST= saturação da transferrina; Vit. B12= vitamina B12.

3.7. CRITÉRIOS LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO DE:

3.7.1. Anemia:

- Hemoglobina (Hb) < 14,0g/dl para homens
- Hb < 12,0g/dl para mulheres [106].

3.7.2. Deficiência de Fe:

- Ferr < 30µg/l para homens
< 13µg/l para mulheres

3.7.3. Anemia Ferropriva:

- Saturação da transferrina (Fe sérico/ TIBC x 100) (ST) < 15% [107].
- Ferr < 30µg/l para homens
< 13µg/l para mulheres
- Fe < 45µg/dl para homens
< 30µg/dl para mulheres
- TIBC > 456µg/dl

3.7.4. Deficiência de Vitamina B12:

- Vit. B12 < 145 pg/ml [108]

3.7.5. Hipergastrinemia

- Gastrina: > 115pg/ml

3.7.6. Diagnóstico de processo inflamatório:

- PC-R > 5mg/l [109].

3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA:

- Estatística descritiva: média, desvio-padrão, valores de mediana, mínimo e máximo.
- Comparação de medidas contínuas entre dois grupos e a comparação entre variáveis categóricas: utilizou-se o teste de Mann-Whitney e o teste Qui-Quadrado.
- Para verificar a relação entre as variáveis contínuas foi utilizado o coeficiente de correlação linear de Spearman.
- Foi utilizada a análise da curva ROC para obtenção de ponto de corte para a IgG anti- *H. pylori*, através da maximização da sensibilidade e da especificidade.
- O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%
- O programa computacional utilizado foi: SAS System for Windows (Statistical Analysis System) versão 9.1.3 Service Pack 3. SAS Institute INC. 2002-2003. Cary. NC. USA.
- Todas as análises estatísticas foram realizadas pela câmara de pesquisa - Estatística da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

4. RESULTADOS

- ✓ Sorologia: presença de IgG anti *H. pylori* utilizando o kit *H. pylori* IgG IMMULITE (IMMULITE 1000 *H. pylori* IgG, Siemens - Los Angeles, USA).

Na tabela 3 constam os resultados dos 3 testes diagnósticos.

Tabela 3: Detecção da infecção pelo *H. pylori* na população estudada (n= 125).

Teste	Positivo	Negativo	Total
Histologia	75 (60,00%)	50 (40,00%)	125
Urease	50 (40,32%)	74 (59,68%)	124*
IgG	73 (58,40%)	52 (41,60%)	125

*Excluído paciente por resultado não conclusivo

Baseado na análise histológica e, considerando este teste como padrão no diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*, a sensibilidade, a especificidade e a eficácia dos outros dois testes foram calculados (Tabela 4).

Tabela 4: Avaliação dos testes de Urease e sorologia (IgG), na detecção do *H. pylori* tendo a histologia como referência.

Resultado	Testes	
	Urease	IgG
Sensibilidade	66,67%	81,33%
Especificidade	100,00%	76,00%
VPP	100,00%	83,56%
VPN	66,22%	73,08%
Eficácia	89,52%	91,40%
Índice de Younden	66,67%	57,33%

VPP= Valor preditivo positivo; VPN= Valor preditivo negativo.

Resultados

Tendo a detecção do *H. pylori* pela histologia como teste referência, pela curva ROC foi estabelecido o valor de corte para titulação de IgG com as respectivas sensibilidade e especificidade (Figura 2). Valores acima de 1.950 U/ml apresentaram sensibilidade de 66,7% e especificidade de 92% para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*.

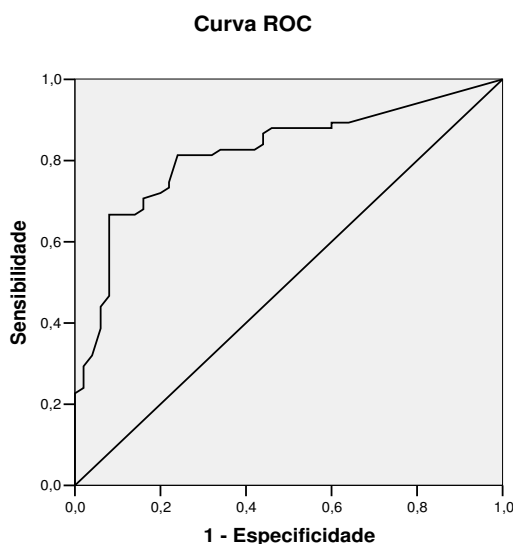


Figura 2: Curva ROC para o método diagnóstico IgG para *H. pylori*

Área sob a curva= 0.821 ± 0.038 ; IC 95%= (0.746– 0.895); valor de $p < 0.001$.

Ponto de corte= =1.950 U/ml, Sensibilidade= 66.70%, Especificidade= 92.00%

4.3. Análise comparativa dos parâmetros hematológicos e bioquímicos entre os pacientes com e sem a infecção pelo *H. pylori*

Analisando os parâmetros hematológicos e bioquímicos nos pacientes com biópsia gástrica, separados em positivos e negativos para infecção pelo *H. pylori*, observa-se que não houve diferença entre os grupos quanto às variáveis estudadas, com exceção da sorologia para *H. pylori* e dos níveis de gastrina sérica que mostraram valores mais elevados no grupo com infecção detectada pela histologia (Tabela 5 e figuras 3 e 4).

Tabela 5: Parâmetros hematológicos e bioquímicos no grupo de pacientes com biópsia gástrica, separados em *H. pylori* positivo e negativo de acordo com o exame histológico. Valores em mediana (mínimo-máximo).

	Positivo (n=75)	Negativo (n=50)	Valor p
Idade	45,00 21,00 – 77,00	45,50 18,00- 83,00	0,2730
Hb (g/dl)	14,30 10,60 – 17,10	14,25 9,00 – 18,05	0,6483
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	231,50 90,50 – 586,00	248,5 46,50- 356,50	0,8011
Ret- He (pg)	35,46 23,70 – 39,60	34,13 20,29 – 41,26	0,0608
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	83,00 20,00 – 181,00	83,00 19,00 – 193,00	0,9057
Ferr ($\mu\text{g/l}$)	105,90 4,39 – 771,10	105,60 3,34 – 931,40	0,7855
PC-R (mg/dl)	0,28 0,00 – 2,74	0,34 0,00 – 3,52	0,2600
Gastrina (pg/ml)	64,20 15,10 – 4238,00	34,10 12,30 – 2864,00	0,0246
B12 (pg/ml)	502,60 233,00 – 7840,00	551,35 167,10 – 1196,00	0,8541
IgG (U/ml)	3,40 0,30 – 8,10	0,46 0,30 – 5,30	< 0,0001

Hb= hemoglobina, PLT= plaqueta, Ret-He= Conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Fe= ferro sérico, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa, B12= vitamina B12. Os valores significativos estão representados em negrito.

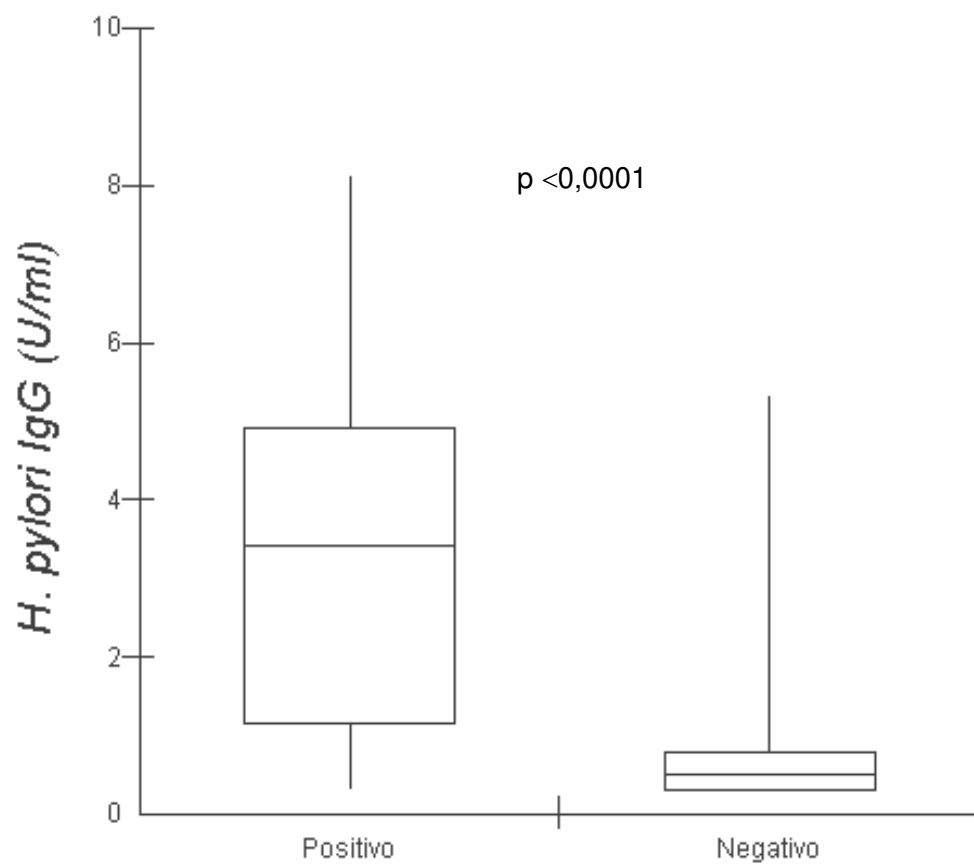


Figura 3. Boxplot referente aos valores de IgG do grupo de pacientes com biópsia gástrica separados em *H. pylori* positivo e negativo.

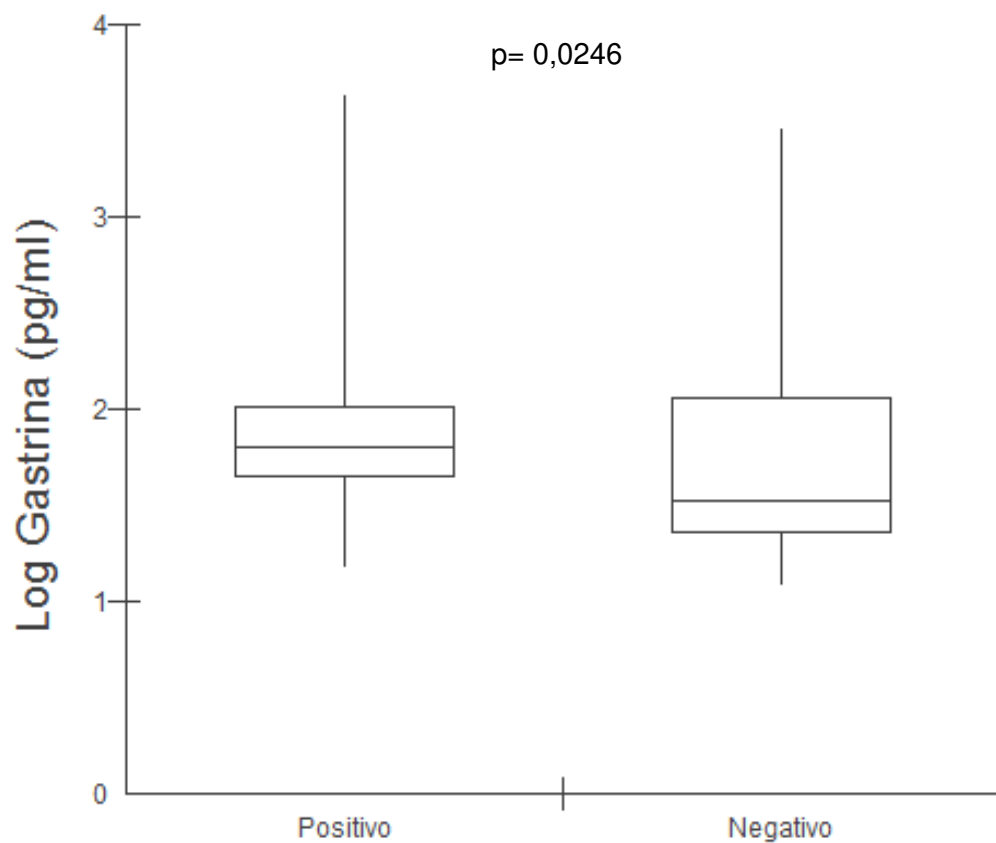


Figura 4: Boxplot referente aos valores de gastrina sérica do grupo de pacientes com biópsia gástrica separados em *H. pylori* positivo e negativo.

4.4. Classificação das anemias:

De acordo com os critérios laboratoriais estabelecidos, dos 125 pacientes estudados apenas 17 (13,6%) mostraram níveis de Hb indicativos de anemia (Quadro 1). Avaliando os prontuários desses pacientes acrescidos aos resultados dos exames laboratoriais foi possível classificar 11 deles como:

- Anemia ferropriva: 3 pacientes com anemia microcítica, ferropenia e ferritinemia (ID:49; 95; 129 do Quadro 1).
- Deficiência de estoque de ferro: 3 pacientes com anemia normocítica e ferritinemia (ID: 90; 98; 108 do Quadro 1).
- Anemia de doença crônica: 1 paciente com anemia normocítica, ferropenia e ferritina elevada (ID: 133 do Quadro 1): exame endoscópico normal
- Anemia renal: 2 pacientes com nefropatia e sem alterações no metabolismo de ferro ou na dosagem de vit. B12 (ID: 113 do Quadro 1): exame endoscópico normal
- Alfa talassemia: 1 paciente com homozigose para a deleção $\alpha^{3,7}/\alpha^{3,7}$, diagnosticada por biologia molecular (ID: 42 do Quadro 1).
- Beta talassemia heterozigótica: 1 paciente (ID: 123 do Quadro1).

Os outros 6 pacientes, com exceção de 1 paciente masculino com Hb 12,5 g/dl, macrocitose, plaquetopenia e níveis sérico de vitamina B12 normais, os demais apresentaram níveis de Hb compatíveis com os nossos critérios de presença de anemia, mas muito próximo da normalidade (= 11,5 g/dl nas mulheres e = 13,5 g/dl nos homens).

Quadro 1: Dados laboratoriais e possíveis diagnósticos dos pacientes submetidos a biópsia gástrica e com anemia (n= 17).

ID	IDADE	SEXO	HB (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X10 ⁹ /µl)	Ret-He (pg)	Fe (ug/dl)	TIBC (ug/dl)	Ferr (ug/l)	ST (%)	PC-R mg/dl	Gastrina pg/ml	Vit B12 (pg/ml)	Resultado Histologia	H.pylori	H.pylori Urease	H.pylori IgG	H.pylori IgG (U/ml)	Possível diagnóstico
11	49	M	12,5	107,9	46,5	41,28	94	314	752,70	29,94	0,93	205,50	401,7	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	4,5	
27	65	F	11,85	93,8	588,0	33,79	57	244	138,30	23,38	0,77	78,30	502,8	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(+)	(+)	6,8	
42	21	F	11,15	73,1	291,5	28,97	150	373	15,83	40,21	0,44	98,10	609,3	Gastrite crônica leve	(-)	inconclusiva	(+)	3,8	Alfa-Tal
49	49	F	9	71,6	282,0	20,29	19	393	3,34	4,83	0,14	448,50	780,5	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	1,9	AF
60	37	M	13,6	95,3	179,0	38,78	45	235	477,40	19,15	1,74	12,30	298,4	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	<0,4	
64	56	M	13,55	84,5	211,0	35,40	64	313	171,70	20,45	0,19	30,40	528,7	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	1,4	
90	21	F	11,8	87,1	357,0	31,35	88	413	10,70	18,48	0,69	600,50	287,6	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	<0,4	Def. estoque
95	38	F	11,1	69,1	384,0	23,90	20	471	4,57	4,25	0,62	4182,00	1083,0	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(-)	(-)	<0,4	AF
98	65	M	11,05	82,3	233,0	28,30	40	333	11,06	12,01	0,33	275,00	282,3	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	0,5	Def. estoque
105	31	F	11,6	90,3	242,5	33,75	91	340	89,62	28,78	0,07	36,80	1021,0	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	1,4	
108	43	F	11,4	89,7	283,0	27,85	49	352	4,39	13,92	0,05	107,00	307,8	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(+)	(+)	>8,0	Def. estoque
123	28	M	11,35	64,2	193,5	20,85	87	287	241,10	30,31	0,06	235,50	320,7	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	<0,4	Beta-Tal
127	56	F	11,50	89,6	321,5	31,65	75	388	189,2	20,38	0,07	86,80	544,0	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	0,4	
129	49	F	10,60	73,9	311,0	23,70	25	482	5,09	5,19	0,78	83,20	558,2	Gastrite crônica moderada / intensa	(+)	(+)	(+)	3,0	AF
107	34	F	10,1	93,5	258,0	33,80	62	370	27,13	18,78	0,74	38,30	167,1	Exame normal	(-)	(-)	(-)	<0,4	Anemia Renal
113	21	F	10,4	79,9	323,0	28,25	97	344	78,31	28,20	1,74	60,30	211,7	Exame normal	(-)	(-)	(-)	<0,4	Anemia Renal
133	83	M	12,85	94,1	208,5	32,55	22	229	398,1	9,61	3,52	38,30	398,0	Exame normal	(-)	(-)	(+)	1,8	ADC

Legenda: ID= identidade do indivíduo no grupo, HB= hemoglobina, VCM= volume corpuscular médio, PLT= plaqueta, Ret-He= conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Fe= ferro sérico, TIBC= capacidade total de ligação do ferro a transferrina, Ferr= ferritina sérica, ST= saturação da transferrina, PC-R= proteína C-reativa, Gastrina = gastrina sérica, VIT B12 = vitamina B12, Alfa-Tal= Alfa Talassemia, AF= Anemia Ferropriva, Def. estoque = deficiência de estoque de ferro, Beta – Tal= Beta Talassemia. ADC = Anemia de doença crônica. Valores em negrito = fora dos valores de referência.

4.5. Frequência da deficiência de ferro nos grupos com *H. pylori* positivo e negativo:

Aplicando o teste exato de Fisher não foi observada diferença na frequência da deficiência de ferro entre os grupos de pacientes infectados pelo *H. pylori* (n=75, sendo 5 indivíduos deficientes de ferro) e os não infectados pelo *H. pylori* (n=50, sendo 1 indivíduo deficiente de ferro) (valor de $p=0,4004$).

A fim de avaliar a possível participação do processo inflamatório na eritropoiese, foram determinados os coeficientes de correlação de Spearman entre as variáveis. Como pode ser observado na tabela 6, houve uma correlação negativa, embora fraca entre a PC-R e Ret-He. A gastrina parece exercer uma ação negativa, embora fraca nos níveis de Hb, Ret-He e ferritina.

Tabela 6: Coeficiente de correlação (Spearman) na população estudada.

Variáveis	Grupo de pacientes com biópsia gástrica (n=125)	
	r	p
PC-R x Hb	-0,1735	0,0529
PC-R x PLT	0,0849	0,3462
PC-R x Ret-He	-0,1860	0,0377
PC-R x Ferr	0,0012	0,9897
PC-R x Gastrina	0,1334	0,1380
Hb x PLT	-0,2013	0,0243
Hb x Ret- He	0,4266	< 0,0001
Hb x Ferr	0,2168	0,0151
Hb x Gastrina	-0,2367	0,0078
PLT x Ret- He	-0,1658	0,0645
PLT x Ferr	-0,1939	0,0302
PLT x Gastrina	0,1676	0,0616
Ret- He x Ferr	0,2526	0,0044
Ret- He x Gastrina	-0,2024	0,0235
Ferr x Gastrina	-0,2084	0,0196

r: coeficiente de Spearman. Os valores significativos estão representados em negrito.

Hb= hemoglobina, PLT= plaqueta, Ret-He= Conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Ferr= ferritina sérica,

PC-R= proteína C-reativa. Os valores significativos estão representados em negrito.

Esses resultados também podem ser observados nas figuras 5 a 7.

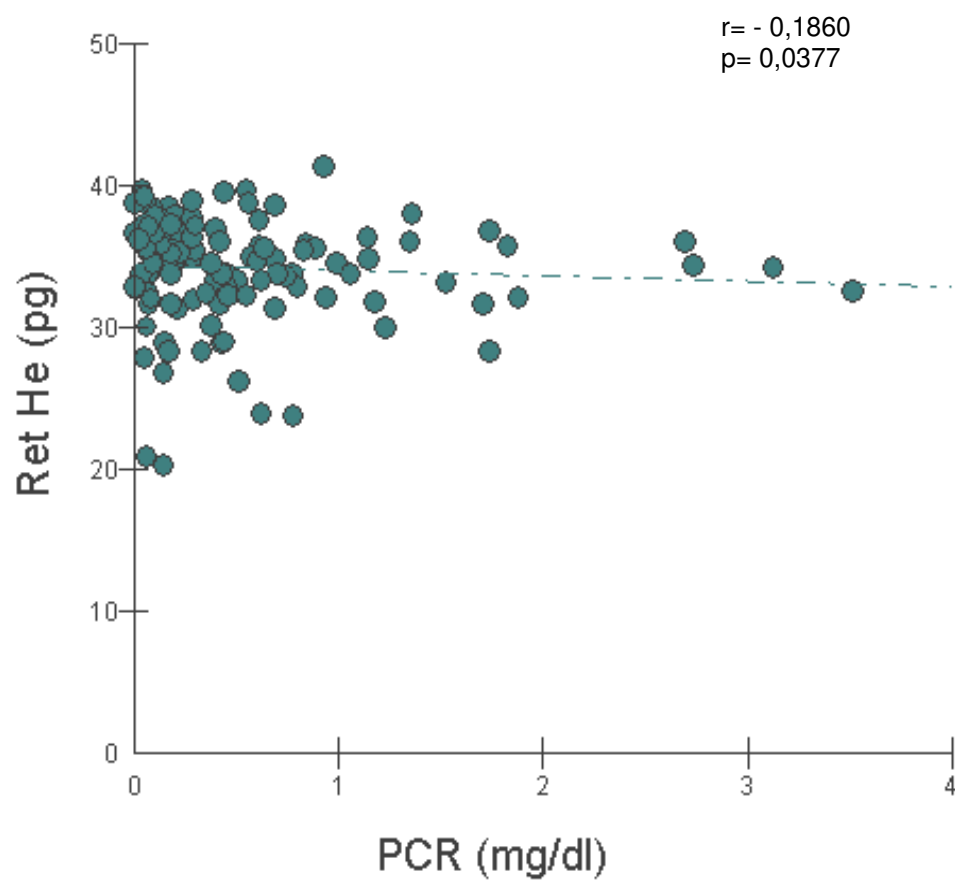


Figura 5. Correlação entre níveis de Ret- He e PC-R no grupo de pacientes do estudo.

r: coeficiente de Spearman, Ret- He= conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, PC-R= proteína C reativa.

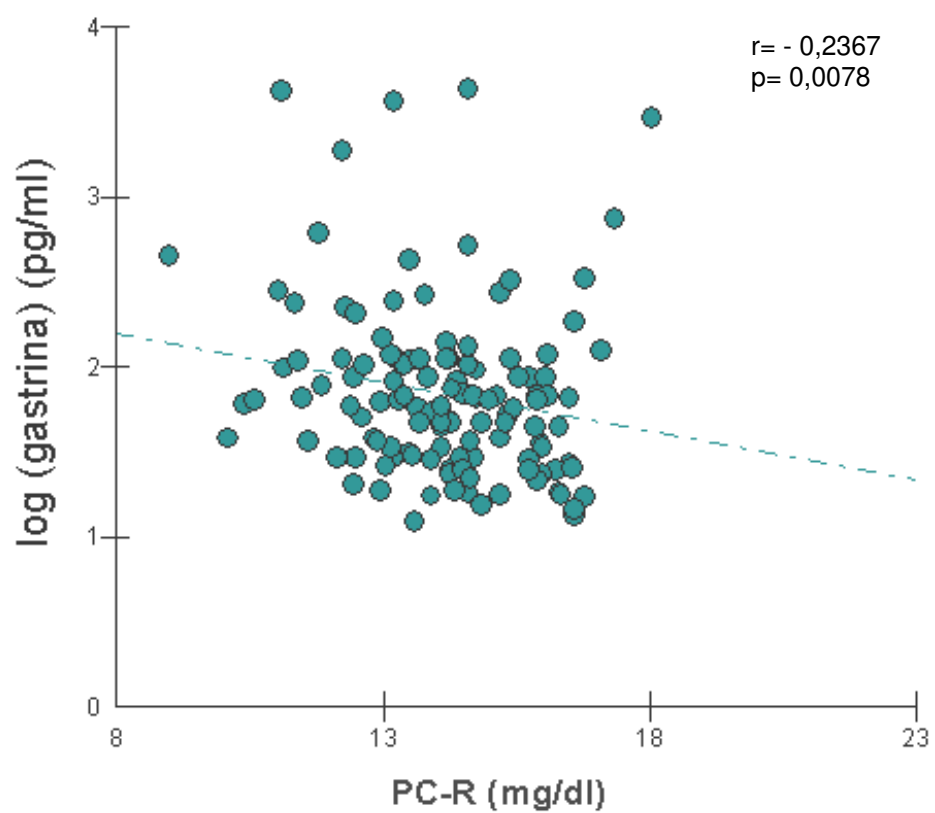


Figura 6. Correlação entre níveis de log gastrina e hemoglobina no grupo de pacientes de estudo.
r: coeficiente de Spearman, Log= logaritmo, Hb= hemoglobina.

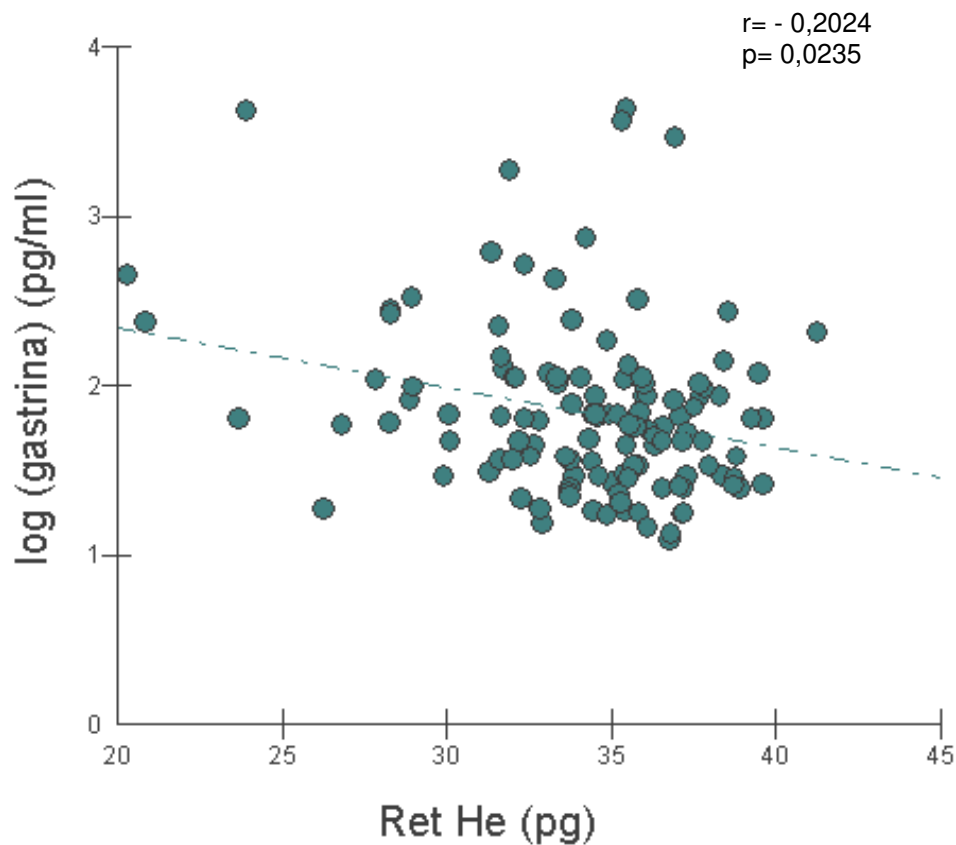


Figura 7. Correlação entre níveis de log gastrina e Ret- He no grupo de pacientes do estudo.
r: coeficiente de Spearman, Log= logaritmo, Ret- He = conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos.

Quando os pacientes foram separados de acordo com a presença ou ausência da infecção, observamos que a provável ação da atividade inflamatória e da gastrina sobre a eritropoiese só foi constatada no grupo de pacientes infectados pelo *H. pylori* e os valores de r foram ligeiramente superiores aos obtidos da análise do grupo total (tabela 7).

Tabela 7: Coeficiente de correlação (Spearman) nos grupos de pacientes com biópsia gástrica separados em *H. pylori* positivo e negativo de acordo com o teste histológico.

Variáveis	Grupo de pacientes com biópsia gástrica (n=125)			
	<i>H. pylori</i> positivo		<i>H. pylori</i> negativo	
	r	p	r	p
PC-R x Hb	-0.1607	0.1686	-0.1993	0.1652
PC-R x PLT	0.1430	0.2208	-0.0215	0.8821
PC-R x Ret-He	-0.2642	0.0219	-0.0913	0.5281
PC-R x Ferr	-0.0454	0.6990	0.0464	0.7487
PC-R x Gastrina	0.1906	0.1013	0.1606	0.2652
Hb x PLT	-0.4068	0.0003	0.0506	0.7273
Hb x Ret- He	0.3485	0.0022	0.5642	0.0000
Hb x Ferr	0.2327	0.0444	0.1959	0.1728
Hb x Gastrina	-0.2475	0.3220	-0.2471	0.0835
PLT x Ret- He	-0.1938	0.0956	-0.0836	0.5640
PLT x Ferr	-0.3475	0.0022	0.0307	0.8322
PLT x Gastrina	0.3047	0.0078	0.0727	0.6159
Ret- He x Ferr	0.1925	0.0980	0.3239	0.0217
Ret- He x Gastrina	-0.2990	0.0091	-0.2552	0.0735
Ferr x Gastrina	-0.3007	0.0087	-0.0846	0.5591

r: coeficiente de Spearman. Os valores significativos estão representados em negrito.

Hb= hemoglobina, PLT= plaqueta, Ret-He= Conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa. Os valores significativos estão representados em negrito.

4.6. Análise dos resultados em relação à gastrite

De acordo com os resultados da biópsia/histologia, emitidos pelo laboratório de Anatomia Patológica do Serviço de Endoscopia do Gastrocentro, os pacientes foram divididos de acordo com a presença ou ausência de gastrite. Dos 125 pacientes estudados, 110 tiveram diagnóstico histológico de gastrite crônica (tabela 8). Nenhum paciente mostrou atrofia gástrica.

Tabela 8: Distribuição da população estudada de acordo com os resultados da biópsia/histologia (n=125)

Pacientes com gastrite (n=110)			Pacientes sem gastrite (n=15)	
Sexo	n	%	n	%
Feminino	73	66,36	12	80,00
Masculino	37	33,64	3	20,00
Total	110	100,00	15	100,00

Foram comparados os dados hematimétricos e bioquímicos nos grupos com e sem gastrite e não foi observada diferença significativa em nenhum dos parâmetros (Tabela 9).

Tabela 9: Parâmetros hematológicos e bioquímicos nos grupos de pacientes com e sem gastrite. Valores em mediana (mínimo-máximo).

	Pacientes com gastrite (n=110)	Pacientes sem gastrite (n=15)	Valor p
Idade	45,50 19,00 – 77,00	42,00 18,00- 83,00	0,5062
Hb (g/dl)	14,23 9,00 – 18,05	14,45 10,10 – 17,35	0,5234
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	233,75 46,50 – 586,00	248,5 162,50- 324,5	0,9425
Ret- He (pg)	35,21 20,29 – 41,26	33,6 28,25 – 39,5	0,3720
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	83,00 19,00 – 193,00	89,00 22,00 – 178,00	0,2962
Ferr ($\mu\text{g/l}$)	123,15 3,34 – 931,40	68,79 24,55 – 398,1	0,2359
PC-R (mg/dl)	0,28 0,00 – 2,74	0,45 0,00 – 3,52	0,3365
Gastrina (pg/ml)	62,95 12,30 – 4238,00	38,30 14,40 – 744,00	0,2285
B12 (pg/ml)	535,25 226,60 – 7840,00	445,4 167,10 – 796,60	0,2773

Hb= hemoglobina, PLT= plaqueta, Ret-He= Conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Fe= ferro sérico, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa, B12= vitamina B12.

4.7. Classificação do grau de gastrite

A partir dos resultados da biópsia/histologia emitidos pelo laboratório de Anatomia Patológica do Serviço de Endoscopia do Gastrocentro, foi feita a classificação da intensidade da gastrite de acordo com o sistema de Sidney [58] (Tabela 10).

Tabela 10: Classificação de gastrite de acordo com o Sistema de Sidney em pacientes com gastrite (n=110).

Gastrite	N	%
Leve	64	63,37
Intensa/Moderada	37	36,63
Inespecífica	09	8,1
Total	110	100,00

4.8. Análise comparativa entre os graus de gastrite

Quando os pacientes com gastrite intensiva/moderada foram comparados com os pacientes com gastrite leve, não houve diferença entre os parâmetros estudados, exceto os valores obtidos pelo teste sorológico, que foram mais elevados no grupo com gastrite intensa/moderada do que no grupo com gastrite leve ($p < 0,0001$) (tabela11).

Tabela 11: Parâmetros hematológicos e bioquímicos do grupo de pacientes com gastrite, dividido de acordo com o grau de gastrite. Valores em mediana (mínimo - máximo).

	Intensa/Moderada	Leve	Valor p
Idade	45,00 22,00 – 70,00	46,00 19,00 – 77,00	0,9270
Hb (g/dl)	14,25 10,60 – 18,05	14,15 9,00 – 17,10	0,8795
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	231,50 164,50 – 586,00	236,25 46,50 – 468,50	0,8657
Ret- He (pg)	35,39 23,70 – 39,60	34,90 20,29 – 41,26	0,6672
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	84,00 20,00 – 181,00	84,00 19,00 – 193,00	0,8851
Ferr ($\mu\text{g/l}$)	105,90 4,39 – 486,00	131,70 3,34 – 931,40	0,3503
PC-R (mg/dl)	0,20 0,00 – 2,74	0,28 0,00 – 2,70	0,3612
Gastrina (pg/ml)	67,70 17,90 – 4182,00	58,35 12,30 – 4238,00	0,1971
IgG (U/ml)	4,40 0,30 – 8,10	0,95 0,30 – 8,10	< 0,0001
B12 (pg/ml)	502,60 258,40 – 1063,00	543,30 226,60 – 7840,00	0,7245

Hb= hemoglobina, PLT= plaqueta, Ret- He= Conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Fe= ferro sérico, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa, B12= vitamina B12.

4.9. Análise comparativa entre os grupos de pacientes com gastrite com e sem infecção pelo *H. pylori*

Dos 110 pacientes com gastrite 74 eram positivos e 36 negativos para o *H. pylori*.

Analisando os parâmetros hematológicos e bioquímicos foi observado que não houve diferença significativa entre os grupos, com exceção da sorologia para *H. pylori*, que mostrou valores mais elevados no grupo com infecção detectada pela histologia (Tabela 12).

Tabela 12: Parâmetros hematológicos e bioquímicos no grupo de pacientes com gastrite, separados em *H. pylori* positivo e negativo Valores em mediana (mínimo-máximo).

	Positivo (n=74)	Negativo (n=36)	Valor p
Idade	45,00 21,00 – 77,00	46,50 19,00- 63,00	0,3442
Hb (g/dl)	14,27 10,60 – 17,10	13,90 9,00 – 18,05	0,5366
PLT ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	231,50 90,50 – 586,00	250,00 46,50- 356,50	0,8285
Ret- He (pg)	35,42 23,70 – 39,60	34,43 20,29 – 41,26	0,1201
Fe ($\mu\text{g/dl}$)	83,00 20,00 – 181,00	83,00 19,00 – 193,00	0,9264
Ferr ($\mu\text{g/l}$)	107,05 4,39 – 771,10	149,95 3,34 – 931,40	0,4446
PC-R (mg/dl)	0,28 0,00 – 2,74	0,25 0,03 – 1,88	0,2663
Gastrina (pg/ml)	65,30 15,10 – 4238,00	30,75 12,30 – 2864,00	0,0652
B12 (pg/ml)	504,20 254,50 – 7840,00	564,20 226,60 – 1196,00	0,6580
IgG (U/ml)	3,40 0,30 – 8,10	0,56 0,30 – 5,30	< 0,0001

Hb= hemoglobina, PLT= plaqueta, Ret- He= Conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Fe= ferro sérico, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa, B12= vitamina B12.

4.10. Correlação entre as variáveis estudadas

A possível participação da atividade inflamatória na eritropoiese no grupo de pacientes com gastrite também foi testada através da correlação entre os níveis de PC-R e gastrina com os parâmetros hematológicos e os relativos ao estado do Fe. No grupo de pacientes com gastrite assim como no grupo geral, foi observada uma correlação negativa, embora fraca entre a PC-R e Ret- He. A gastrina neste grupo, também parece exercer uma ação negativa, embora fraca nos níveis de Hb, Ret- He e Ferr (Tabela 13).

Os resultados obtidos foram semelhantes aos observados no grupo total (Tabela 6), independente da presença ou ausência da gastrite.

Tabela 13: Coeficiente de correlação (Spearman) no grupo de pacientes com gastrite (n=110).

Variáveis	Grupo de pacientes com gastrite (n=110)	
	r	p
PC-R x Hb	-0,18335	0,0552
PC-R x PLT	0,08741	0,3639
PC-R x Ret-He	-0,20125	0,0348
PC-R x Ferr	0,00771	0,9363
PC-R x Gastrina	0,13648	0,1551
Hb x PLT	-0,17355	0,0698
Hb x Ret- He	0,42679	< 0,0001
Hb x Ferr	0,26322	0,0055
Hb x Gastrina	-0,28644	0,0024
PLT x Ret- He	-0,18538	0,0525
PLT x Ferr	-0,22254	0,0195
PLT x Gastrina	0,14221	0,1383
Ret- He x Ferr	0,25496	0,0072
Ret- He x Gastrina	-0,25240	0,0078
Ferr x Gastrina	-0,24320	0,0105

r: coeficiente de Spearman. Os valores significativos estão representados em negrito.

Hb= hemoglobina, PLT= plaqueta, Ret- He= Conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa.

4.1. Descrição da população estudada:

Foram avaliados 156 pacientes adultos de ambos os sexos submetidos à endoscopia para esclarecimento diagnóstico. Desses 156 pacientes, 126 apresentaram alterações à endoscopia que justificaram a realização de biópsia. Foi excluído um indivíduo gastrectomizado e com anemia, portanto, o grupo de estudo foi constituído de 125 indivíduos (tabela 2).

Tabela 2: Distribuição da população estudada (n=125)

Grupo de pacientes com biópsia gástrica		
Sexo	n	%
Feminino	85	68,00
Masculino	40	32,00
Total	125	100,00

Os dados individuais de toda a população estudada constam nos quadros A1 e A2 em anexos.

4.2. Diagnóstico da infecção pelo *H. pylori*

Para o diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* foram utilizados três métodos:

- ✓ Exame histológico do material de biópsia corado com HE, onde constatou-se a presença ou ausência da infecção pelo *H. pylori*.
- ✓ Teste de urease realizado de acordo com o protocolo utilizado pelo Laboratório de Hepatologia e Bacteriologia do Serviço de Endoscopia do Gastrocentro/UNICAMP.

5. *DISCUSSÃO*

Atualmente, sabe-se que existem diversos testes de diagnóstico para a detecção da infecção pelo *H. pylori*. Cada teste tem suas vantagens e desvantagens, sensibilidade, especificidade e custo, e, ainda diferentes protocolos podem ser utilizados para a detecção do *H. pylori*. A detecção da bactéria pode ser realizada de forma direta através da demonstração histológica do microrganismo, ou indireta através da pesquisa da urease pré-formada, que é uma das principais características do *H. pylori* [110]. Para um diagnóstico de infecção pelo *H. pylori* ser mais confiável, tem sido aconselhado o uso de pelo menos dois testes [56].

Seguindo essa recomendação, em nosso trabalho utilizamos três métodos para o diagnóstico de infecção pelo *H. pylori*, sendo dois métodos invasivos utilizados em rotina como protocolo do Serviço de Endoscopia do Gastrocentro /Unicamp (histologia e urease) e além desses métodos, também utilizamos o método não invasivo representado pelo teste sorológico IgG anti *H. pylori*.

O método histológico é considerado como o “padrão ouro” no diagnóstico da infecção pelo *H. pylori* [111], sendo assim, em nosso estudo foi considerado paciente positivo para a infecção, quando o exame histológico revelou a presença do *H. pylori*.

O exame histológico permite a visualização direta do *H. pylori* e avalia microscopicamente a mucosa gástrica, fornecendo informações essenciais como a presença de inflamação crônica ou aguda, presença de agregados linfóides, metaplasia intestinal e atrofia gástrica [54]. Embora esse exame não esteja livre de limitações, a especificidade e a sensibilidade deste teste são altas. Essas limitações podem ser representadas como a falta de visualização e identificação da área mais afetada, como por coletas realizadas em locais impróprios, devido à distribuição irregular da bactéria na mucosa gástrica ou pelo baixo número do microrganismo [59].

O teste de urease é considerado o método mais simples, mais específico, menos dispendioso e apresenta resultados dentro de horas ou mesmo minutos, dependendo da densidade da bactéria presente na mucosa gástrica [61], porém resultados falso-negativos podem ocorrer em virtude do número reduzido da

densidade bacteriana associado à atrofia ou metaplasia intestinal, da baixa atividade de urease bacteriana, da distribuição irregular da bactéria na mucosa gástrica ou ao uso de antimicrobianos ou inibidores de bombas de prótons [65; 56]. Algumas medicações como o omeprazol, o lansoprazol e o pantoprazol (e seus metabólitos ativos) apresentam atividade antimicrobiana in vitro contra o *H. pylori*, por inibirem a urease da bactéria. O aumento da concentração e dos efeitos dos antibióticos ácido-lábeis ocorre devido à elevação do pH após o uso de inibidores de bomba protônica. O pH menos ácido aumenta a defesa do indivíduo, além de elevar a concentração e a meia vida das imunoglobulinas específicas para o *H. pylori* no suco gástrico, levando a uma melhora na função dos neutrófilos, condição importante para se conseguir a erradicação do microrganismo [112;113;114;115].

Administrado isoladamente, o omeprazol suprime temporariamente o *H. pylori* do antro [116], o que converge para taxas de reincidência superiores às daquelas dos pacientes tratados com a associação do inibidor de bomba protônica e antimicrobianas [117].

Existem ainda os métodos não invasivos para o diagnóstico do *H. pylori*, os quais não requerem a utilização da endoscopia digestiva alta, onde em nosso estudo foi representado pelo teste sorológico. Dentre os vários métodos disponíveis, o método imunoenzimático (ELISA) é comumente o mais usado para detectar anticorpos IgG anti *H. pylori* no soro [63]. Este teste tem sido utilizado em diversos estudos epidemiológicos principalmente em crianças [64]. Em alguns casos, entretanto, a estimulação antigênica pode ser lenta e resultados falso-negativos podem ocorrer em poucas semanas ou meses após nova infecção [65]. Resultados falsos positivos podem ocorrer em paciente cuja infecção tenha sido tratada [54]. Após a erradicação da bactéria, os títulos de IgG caem lentamente ao longo de vários meses [118]. Isso foi visto em um estudo com 144 pacientes, onde os títulos IgG tiveram um decréscimo de 20% a 30% em seis semanas após a erradicação e estes continuaram a diminuir ao longo dos seis a doze meses [119].

Segundo Ferreira et al., [120], um dos problemas na avaliação de pacientes com queixas dispépticas atendidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS) é que

estes são submetidos a exame endoscópico muito tempo após a primeira consulta. Na maioria dos casos, antes da realização do exame clínico, o médico receita ao paciente medicação anti-secretora a fim de minimizar os sintomas. Contudo, a administração destes medicamentos antes do exame endoscópico pode acarretar mudanças no diagnóstico, como no teste ultra-rápido da urease e também na pesquisa anatomopatológica do *H. pylori*, fazendo com que não seja possível confirmar a doença através da endoscopia.

Isso foi presenciado em nosso trabalho, onde 50 pacientes do total de 125 indivíduos estudados faziam uso contínuo de omeprazol, e essa medicação pode ser um dos motivos de estarem inibindo a urease bacteriana e diminuindo a sensibilidade do teste em nosso estudo. Contudo, esse método mostrou ser altamente específico no diagnóstico do *H. pylori*, quando comparado com o método histológico. Resultados opostos foram observados no teste sorológico, que apresentou uma alta sensibilidade, porém baixa especificidade. Em ambos os testes, foram observadas elevadas porcentagens de resultados falsos negativos (33,78% no teste de urease e 18,91% na sorologia). Desta forma, de acordo com nossos resultados, um único teste não é suficiente para diagnosticar a infecção pelo *H. pylori* e, principalmente quando o paciente está tomando antibiótico, inibidor da bomba de prótons ou bloqueador do receptor de H_2 .

A participação do *H. pylori* na fisiopatogênese de outras condições diferentes da gastrite, úlcera e câncer gástrico tem sido bastante investigada [121; 122; 123;124]. No nosso estudo avaliamos a associação entre a infecção pelo *H. pylori* e a deficiência de ferro.

Essa possível ligação foi proposta primeiramente em 1990 [125] e diversos outros estudos tem sido conduzidos tanto em crianças [126; 88] como em indivíduos adultos [87; 84; 26; 127].

DiGirolamo et al., [126] em um estudo com 86 crianças nativas do Alasca, sugeriram uma associação entre a presença do *H. pylori* detectada por sorologia positiva, anemia e a deficiência de ferro. Resultados semelhantes correlacionando a presença do *H. pylori* com níveis baixos de ferritina e a relação entre a anemia por deficiência de ferro foram observados em crianças coreanas [88].

Isto também foi demonstrado numa população de 2.080 adolescentes nativos de 13 regiões do Alasca, onde a presença da bactéria mostrou ser um fator que contribui para a anemia por deficiência de ferro nesta população [26]. Resultados similares foram visto em 937 adolescentes coreanos com idades entre 10 a 18 anos, onde as prevalências de anemia, deficiência de ferro, anemia por deficiência de ferro e infecção pelo *H. pylori* foram de 8,1%, 9,1%, 3,1% e 20,8% respectivamente. A comparação entre os grupos de pacientes *H. pylori* positivo e negativo mostrou que a porcentagem de *H. pylori* positivo foi maior do que *H. pylori* negativo ($p=0,0001$). Porém, os níveis de Hb e de ferro não tiveram diferenças significativas entre os grupos soropositivos e soronegativos. Já os níveis de ferritina foram significativamente mais baixos no grupo com *H. pylori*. Com isso, os autores concluíram que o *H. pylori* pode ser considerado uma possível causa de anemia por deficiência de ferro [128].

Da mesma forma, em 1.806 pacientes adultos da Alemanha, foi observado que os níveis de ferritina eram mais baixos em pacientes infectados pelo *H. pylori*, embora a associação entre o *H. pylori* com os níveis de ferritina não tenha variado em função do sexo, idade e da ingestão de ferro. A associação foi similar independente da cepa infectante, se Cag-A positiva ou Cag-A negativa do *H. pylori* [87].

Vários mecanismos relacionados à infecção pelo *H. pylori* são propostos como participantes do acometimento da deficiência de ferro. Na população nativa do Alasca em que a infecção pelo *H. pylori* apresenta características clínicas atípicas como a ocorrência de gastrite hemorrágica, a perda de sangue pelo trato gastrointestinal poderia ser a causa da deficiência de ferro [129], o que não se aplica necessariamente a outras populações [106].

Outro mecanismo envolvido seria a presença de hipocloridria ou acloridria, freqüentemente associadas com a gastrite atrófica, uma vez que a diminuição da acidez gástrica dificultaria a absorção do ferro, possivelmente levando à deficiência do mesmo. Em um estudo em que foi avaliada a presença da atrofia gástrica em pacientes com anemia microcítica e macrocítica, foi observado que 37,5% dos pacientes com anemia macrocítica e 19,5% com anemia microcítica

tinham atrofia da mucosa do corpo gástrico e que 61,1% dos indivíduos com microcitose eram positivos para a infecção pelo *H. pylori*. Nesse grupo o grau de atrofia foi menor, assim como os níveis de gastrina sérica. Lesões gastrointestinais hemorrágicas não foram identificadas, sugerindo que a deficiência de ferro deve ser decorrente das alterações da mucosa, desfavorecendo a absorção de ferro [106].

Outros mecanismos plausíveis que poderiam estar envolvidos com a diminuição da capacidade de absorção do ferro pela mucosa seriam a competição da bactéria com o hospedeiro pelo ferro da dieta [84], redução do suco gástrico em indivíduos infectados [130], o aumento da hepcidina nos hepatócitos em resposta a produção de IL-6 associada com a gastrite causada pelo *H. pylori* [131] ou o sequestro de ferro da lactoferrina na mucosa gástrica [128].

De acordo com El-Omar et al., [132] a baixa secreção gástrica poderia ter um efeito negativo sobre a absorção do ferro. No entanto, Sarker et al., [133] não encontraram influência significativa sobre a baixa secreção gástrica na absorção de ferro, a partir de dois compostos de ferro diferentes. Baysoy et al., [134] mostraram uma diminuição nos níveis de ácido ascórbico no suco gástrico em crianças infectadas pelo *H. pylori*, porém não houve diferença nos níveis de ácido ascórbico entre as crianças anêmicas e não anêmicas.

Os resultados de estudos relacionado a erradicação do *H. pylori* e a melhora da anemia são conflitantes.

Em um estudo com crianças de Bangladesh em que a absorção do ferro foi investigada usando isótopos estáveis, mostrou diferença na absorção entre crianças anêmicas infectadas pelo *H. pylori* com o grupo controle. No entanto, embora a produção de ácido gástrico tenha melhorado após a erradicação do *H. pylori* não foi demonstrada uma melhora na absorção de ferro [133]. Esses dados são concordantes com os de Gessner et al., [135], onde ao avaliar 219 crianças com anemia por deficiência de ferro e infectadas pelo *H. pylori* não encontraram uma melhora na anemia atribuível a erradicação do *H. pylori*.

Choe et al., [136] estudaram a contribuição da infecção pelo *H. pylori* em um grupo de adolescentes com anemia ferropriva e observaram que o tratamento

da infecção foi associada com uma resposta mais rápida ao tratamento com ferro oral quando comparado com a suplementação de ferro isolada. Tal tratamento também levou a uma melhora na absorção de ferro, mesmo naqueles indivíduos que não receberam tratamento com ferro oral.

Resultados semelhantes foram observados em um estudo com 169 crianças indianas com idades entre 1 a 10 anos, onde avaliou-se a resposta da anemia em diferentes formas de suplementação de ferro. Foi demonstrado que a presença do *H. pylori* tem um efeito negativo na resposta à suplementação de ferro [137]. Da mesma maneira, foi avaliada a influência da infecção no tratamento da anemia por deficiência de ferro em uma população de 86 adultos. Nos pacientes que receberam succinato ferroso combinado com terapia tripla para *H. pylori*, a resposta nos níveis de hemoglobina, ferro e ferritina sérica foram mais rápidas do que no grupo que só recebeu a suplementação de ferro [138].

No nosso estudo ao analisarmos os parâmetros hematológicos e bioquímicos de pacientes separados em positivos e negativos para infecção pelo *H. pylori*, não observamos diferença significativa entre os resultados, principalmente os relacionados ao metabolismo de ferro. Da mesma maneira, não houve uma associação entre a presença da infecção pelo *H. pylori* com anemia ou deficiência de ferro. Esses resultados são concordantes com outros relatos apresentados na literatura.

No estudo realizado por Santos et al., [139] em seis países da América Latina, ao investigar uma possível associação entre a infecção pelo *H. pylori* e anemia em crianças, adolescentes, adultos e em mulheres grávidas, não puderam demonstrar que o *H. pylori* contribuiu para a deficiência de ferro nesses grupos.

Resultados semelhantes foram encontrados em Christchurch na Nova Zelândia com 1.060 pacientes adultos. No grupo do sexo masculino e positivo para *H. pylori*, os níveis de ferro sérico apresentaram-se mais baixos do que no sexo feminino, entretanto não foram observadas diferenças significativas nos níveis de ferritina entre pacientes positivos e negativos para *H. pylori* do sexo feminino ou masculino [140].

Os mesmos resultados foram observados em outros estudos epidemiológicos, realizados com crianças, que não apresentaram uma associação entre a infecção pelo *H. pylori* e a anemia por deficiência de ferro [141; 142; 143]. Em trabalho realizado com 70 crianças da Turquia não houve diferença significativa entre os pacientes com e sem a infecção pelo *H. pylori* em relação aos níveis de Hb. Em contraste, os níveis médios de ferro e ferritina no grupo de pacientes infectados apresentaram-se mais baixos do que aqueles sem infecção [144]. Da mesma forma, foi observada na região noroeste da Turquia em 288 crianças assintomáticas com idade média de 11 anos, onde os resultados não mostraram associação entre a infecção pela bactéria e a anemia por deficiência de ferro, mesmo sendo em uma população considerada de condição socioeconômica baixa e de uma inadequada ingestão de ferro [145].

São propostas algumas hipóteses para explicar porque o *H. pylori* não estaria envolvido com a anemia por deficiência de ferro. Uma delas seria a diversidade genética do *H. pylori* com diferentes cepas e padrões de virulência distintos atuando no hospedeiro e levando a diferentes graus de inflamação da mucosa gástrica. A virulência do *H. pylori* tem sido relacionada a diferentes fatores, incluindo a produção de urease, a presença de flagelos e a citotoxina vacuolizante [146]. Pacientes com infecção por *H. pylori* apresentaram danos no DNA das células epiteliais da mucosa gástrica, que se correlacionaram com a intensidade da resposta inflamatória na mucosa e com os genótipos patogênicos *cagA* e *vacA* do *H. pylori* [147; 148].

Yokota et al., [149] isolaram de biópsia gástrica de pacientes com e sem deficiência de ferro diferentes cepas de *H. pylori*, que foram submetidas a diferentes condições de aporte de ferro e observaram que as cepas provenientes de pacientes com anemia ferropriva tinham um crescimento significativamente maior quando expostas ao meio repleto de ferro. Relataram ainda que essas cepas tinham maior capacidade de captar ferro, principalmente na forma ferrosa. Os autores propõem que um dos fatores de risco para o desenvolvimento da deficiência de ferro em pacientes infectados pelo *H. pylori* seria o tipo de cepa da bactéria que estaria colonizando o paciente.

Nos estudos sobre a associação entre *H. pylori* e deficiência de ferro o genótipo da bactéria não tem sido determinado o que poderia explicar a heterogeneidade dos resultados relatados na literatura.

A resposta inflamatória induzida pelo *H. pylori* consiste no recrutamento de neutrófilos, seguidos de linfócitos B e T e macrófago aliado a vários graus de degeneração e danos nas células epiteliais [42]. Esta resposta inflamatória na mucosa gástrica é acompanhada pela estimulação e liberação de diversas citocinas, entre elas IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 e TNF- α , dentre outras ações decorrentes da cascata inflamatória [43; 44].

Alguns autores têm relatado que as citocinas podem correlacionar-se com a formação e com fatores de crescimento da eritropoiese, como o fator de “stem cell” e a eritropoetina, além de serem capazes de causar a formação de radicais tóxicos de oxigênio que diretamente bloqueiam a eritropoiese, impedindo a biossíntese do heme [150; 151].

Esses dados podem sugerir uma explicação aos resultados obtidos nesta pesquisa, em que foi observada uma possível participação da atividade inflamatória interferindo na eritropoiese, testada através da correlação entre os valores de PC-R e os parâmetros referentes a eritropoiese e estado do ferro. Nos pacientes *H. pylori* positivos foi observada uma correlação fraca, porém significativa, entre os níveis de PC-R e Ret-He. A medida do Ret-He é um indicativo da incorporação do ferro para a síntese de hemoglobina no eritrócito e da disponibilidade recente do ferro para a eritropoiese [152]. A sua determinação permite diagnosticar a “deficiência funcional do ferro”, caracterizada pelo conteúdo normal de ferro no organismo, mas que não é disponibilizado para a eritropoiese. Esse estado é relativamente comum em pacientes em tratamento com eritropoetina recombinante sem suplementação de ferro e em pacientes com doença crônica [153]. De acordo com os nossos resultados é possível supor que a infecção causada pelo *H. pylori* possa estar relacionada a uma menor disponibilidade de ferro para a síntese de hemoglobina, em um nível que não é suficiente para causar anemia. Essa condição seria especialmente importante em

pacientes que apresentassem outras causas de deficiência de ferro, como sangramentos gástricos.

Resultado semelhante foi observado em relação a gastrina sérica, onde uma correlação inversa fraca, mas significativa, foi demonstrada entre níveis de gastrina e Ret-He, assim como com a ferritina sérica. A gastrina é produzida principalmente pelas células G do antro gástrico e é o principal estimulante da secreção ácida durante a digestão. Quando o pH gástrico está muito baixo há uma inibição da secreção da gastrina. Contrariamente, uma elevação do pH gástrico leva a hipergastrinemia [154]. Em algumas condições a secreção ácida é normalmente alta, como na mastocitose sistêmica [155], na hipercalcemia crônica [156] e na síndrome de Zollinger-Ellison (gastrinoma) [157; 158]. Foi demonstrado que a acidez gástrica e o ácido ascórbico são adversamente afetados pelo *H. pylori*, enquanto a erradicação da bactéria leva à normalização do pH gástrico e ácido ascórbico [159]. Foi observado ainda, que a erradicação do *H. pylori* leva a uma significativa redução nos níveis de gastrina sérica [160]. O pH ácido e o ácido ascórbico são importantes na redução do ferro férrico em ferroso, forma absorvível do ferro não heme [161; 162]. Uma possível explicação para a correlação inversa entre Ret-He e gastrina observada no nosso estudo seria que a diminuição da acidez gástrica e conseqüente estímulo da produção de gastrina, levaria a menor absorção de ferro intestinal e redução, ainda que discreta, na hemoglobinizacão dos reticulócitos.

6. CONCLUSÕES

Podemos concluir através desse estudo que:

- ✓ Dentre os vários métodos disponíveis para a detecção da infecção pelo *H. pylori*, a definição de um teste “padrão ouro” ainda é muito difícil, haja vista, um único teste não é suficiente para detectar com precisão a infecção pelo *H. pylori*, principalmente quando o paciente faz o uso de medicação anti-secretora a fim de minimizar os sintomas.
- ✓ No grupo de pacientes positivos e negativos para *H. pylori* não foi observado diferença significativa entre os valores dos parâmetros hematológicos e bioquímicos.
- ✓ Da mesma maneira, não houve uma associação entre a presença da infecção pelo *H. pylori* com anemia ou deficiência de ferro.
- ✓ Uma possível participação da atividade inflamatória estaria interferindo na eritropoiese.
- ✓ A infecção causada pelo *H. pylori* possa estar relacionada a uma menor disponibilidade de ferro para a síntese de hemoglobina, em um nível que não é suficiente para causar anemia.
- ✓ Uma possível diminuição da acidez gástrica e conseqüente estímulo da produção de gastrina, levaria a menor absorção de ferro intestinal e redução, ainda que discreta, na hemoglobinizacão dos reticulócitos.
- ✓ Sendo assim, no grupo de indivíduos estudados a infecção pelo *H. pylori* e a intensidade da gastrite não foram fatores determinantes ao desenvolvimento da deficiência de ferro.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Robbins SL, Contran RS, Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Patologia-Base patológica das doenças. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. 1592p.
- 2) Cardenas VM, Mulla ZD, Ortiz M, Graham DY. Iron deficiency and *Helicobacter pylori* infection in the United States. AM J Epidemiol. 2005; 163: 127-134.
- 3) Annibale B, Capurso G, Martino G, Grossi C, Delle Fave G. Iron deficiency anaemia and *Helicobacter pylori* infection. Intern J Antim Agen. 2000; 16: 515-519.
- 4) Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. Fundamentos em hematologia. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. 358p.
- 5) DuBois S, Kearney D. Iron-deficiency anemia and *Helicobacter pylori* infestation: A review of the evidence. Am J Gastroenterol. 2005; 100: 453-459.
- 6) Paiva AA, Rondó PHC; Guerra-Shinohara EM. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro. Rev Saúde Pública. 2000; 34: 421-426.
- 7) Oliveira MR. Ação do Bezafibrato. Um agonista do PPAR- α , sobre a hipercolesterolemia induzida por dieta e excesso de ferro, em Hamsteres [Dissertação]. Ouro Preto (MG); Universidade Federal de Ouro Preto; 2007.
- 8) Lombard M, Chua E, O'Toole P. Regulation of intestinal non-haem iron absorption. Gut. 1997; 40: 435-439.
- 9) KONTUREK, S.J. Gastric secretion – from Pavlov's nervism to Popielsky's histamine as direct secretagogue of oxyntic glands. Journal of Physiology and Pharmacology, Krakow, vol. 54, Suppl 3, p. 43-68, Dec. 2003.

- 10) GUYTON, AC. Funções secretoras do tubo alimentar. In: Guyton. Tratado de Fisiologia Médica. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap 64, p. 623-637.
- 11) Burkitt MD, Varro A, Pritchard DM. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors. World J Gastroenterol. 2009; 15(1): 1-16.
- 12) Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. Blood. 2000; 96: 4020-4027.
- 13) Conrad ME, Umbreit JN, Moore EG. Iron absorption and transport. Am J Med Sci. 1999; 318: 213-229.
- 14) Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. Mol Aspects Med. 2001; 22:1-87.
- 15) Srai SKS, Bomford A, Mcardle HJ. Iron transport across cell membranes: molecular understanding of duodenal and placental iron uptake. Best Practice Res Clin Haematol. 2002; 15(2): 243-259.
- 16) Testa U. Recent developments in the understanding of iron metabolism. Hematol J. 2002; 3(2): 63-89.
- 17) Andrews N.C. Molecular control of iron metabolism. Best Practice Res Clin Haemat. 2005; 18(2): 159-169.
- 18) Goswami T, Rolfs A, Hediger MA. Iron transport: emerging roles in health and disease. Biochem Cell Biol. 2002; 80: 679-689.

- 19) Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004b; 306: 2090-93
- 20) Grotto HZW. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2008; 30(5):390-397.
- 21) Annibale B, Capurso G, Delle Fave G. The stomach and iron deficiency anaemia: a forgotten link. *Dig Liver Dis.* 2003; 35: 288-295.
- 22) Dallman PR. Iron deficiency: does it matter? *J Intern Med.* 1989; 226: 367-372.
- 23) Henry JB. Diagnóstico clínico & tratamento – Por métodos laboratoriais. 18^a ed. São Paulo: Manole Ltda; 1995. 1678p.
- 24) Zimmermann MB, Hurrell RF. Nutritional iron deficiency. *Lancet.* 2007; 370: 511–20.
- 25) Baggett HC, Parkinson AJ, Muth P T, Gold BD, Gessner BD. Endemic iron deficiency associated with *Helicobacter pylori* infection among school-aged children in Alaska. *Pediatrics.* 2006; 117: 396-404.
- 26) Parkinson AJ, Gold BD, Bulkow L, Wainwright RB, Swaminathan B, Khanna B, Petersen K, Fitzgerald MA. High prevalence of *Helicobacter pylori* in the Alaska native population and association with low serum ferritin levels in young adults. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2000; 7: 885-888.

- 27) Marshall B.J. Unidentified curved bacillus on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*. 1983; 1: 1273-1275.
- 28) Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, P Faller MA. *Microbiologia médica*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994. 604p.
- 29) Blaser MJ, Berg DE. *Helicobacter pylori* genetic diversity and risk of human disease. *J Clin Invest*. 2001; 107 (7): 767-773.
- 30) Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*. 1984; 1: 1311-1315.
- 31) Marshall BJ, McGeachie DB, Rogers PA, Glaney RJ. Pyloric campylobacter infection and gastroduodenal disease. *Med J Aust*. 1985; 142(8): 439-444.
- 32) Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10(4): 720-741.
- 33) Sousa MB, Luz LP, Moreira DM, Bacha OM, Chultz RM, Edelweiss MI. Prevalência de infecção por *Helicobacter pylori* em crianças avaliadas no hospital de clínica de Porto Alegre, RS, Brasil. *Pediatric Gastroenterol*. 2001; 38: 132-137.
- 34) Montecucco C, Rappuoli R. Living dangerously: how *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001; 2: 457-466.
- 35) Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002; 347: 1175-1186.

- 36) Parente J M L. Prevalência da infecção pelo *Helicobacter pylori* em crianças até 12 anos de idade. [Dissertação]. Campinas (SP); Universidade Estadual de Campinas; 2003.
- 37) Zhang C, Yamada N, Wu YL, Wen M, Matsuhisa T, Matsukura N. Comparison of *Helicobacter pylori* infection and gastric mucosal histological features of gastric ulcer patients with chronic gastritis patients. World J Gastroenterol. 2005; 11(7): 976-981.
- 38) Weeks DL, Sachs G. Sites of pH regulation of the urea channel of *Helicobacter pylori*. Molecular Microbiology. 2001; 40 (6): 1249-1259.
- 39) Mégraud F, Neman-Simha V, Brugmann D. Further evidence of the toxic effect of ammonia produced by *Helicobacter pylori* urease on human epithelial cells. Infect Immun. 1992; 60 (5): 1858-1863.
- 40) Jenks PJ, Kusters JG. Pathogenesis and virulence factors of *Helicobacter pylori*. Curr Opin Gastroenterol. 2000; 16 (Suppl. 1): S11-S18.
- 41) Hazell SL, Evans DJ, Graham DY. *Helicobacter pylori* catalase. J Gen Microbiol. 1991; 137: 57-61.
- 42) Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. J Clin Pathol. 1986; 39: 353-365.
- 43) Grabtree JE, Shallcross TM, Heatley RV, Wyatt JL. Mucosal tumor necrosis factor α and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. Gut. 1991; 32: 1473-1477.

- 44) Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J. *Helicobacter pylori* cagA gene and expression of cytokine Messenger RNA in gastric mucosa. *Gastroenterol.* 1996; 110 (6): 1744-1752.
- 45) Torres J, Leal-Herrera Y, Perez-Perez G, Gomez A, Camorlingaponce M, Cedillo-Rivera R, Tapia-Conyer R, Muñoz O. A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in Mexico. *J Infect Dis.* 1998; 178: 1089-1094.
- 46) Brown LM. *Helicobacter pylori*: routes of transmission. *Epidemiologic Reviews.* 2000; 22(2): 283-297.
- 47) Carvalho AS, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Penna FJ. Diagnosis and distribution of *Helicobacter pylori* in the gastric mucosa of symptomatic children. *Braz J Med Biol Res.* 1991; 24(2): 163-6.
- 48) Coelho LG, Das SS, Karim QN, Walker MM, Queiroz DM, Mendes EN, Lima Júnior GF, Oliveira CA, Baron JH, Castro LP. *Campylobacter pyloridis* in the upper gastrointestinal tract: a Brazilian study. *Arq Gastroenterol.* 1987; 24(1): 5-9.
- 49) Solari CA, Araruna RP, Reis EM, Hofer E, Dias G, Moraes G, Basilio CA, Rodriguez CM, Luna LL. *Helicobacter pylori* in dyspeptic children and adults: endoscopic, bacteriologic and histologic correlations. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994; 89 (4): 581-586.
- 50) Mello ES, Melo CR. Prevalence of the various types of gastritis in patients with upper dyspeptic symptoms. *Arq Gastroenterol.* 1992; 29 (2): 43-50.

- 51) Souto FJ, Fontes CJ, Rocha GA, Oliveira AM, Mendes EN, Queiroz DM. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in a rural area of the state of Mato Grosso, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998; 93 (2):171-174.
- 52) Magalhães AFN, Almeida JRS, Guerrazzi F, Yamanaka A, Mesquita M A, Trevisan MAS, Ulson CM. Gastrite crônica associada ao *Helicobacter pylori* em pacientes com dispepsia não ulcerosa e com úlcera duodenal. Rev. Paul. Med. 1991; 109 (5): 197-203.
- 53) Bezerra JM, Vale AV, Lobato Filho JC, Martins SF, Albarelli AL, Freire SJAA, Oliveira EG, Longo JC. Infecção gástrica por *Helicobacter pylori* em pacientes sintomáticos da Ilha de São Luís, MA: correlação endoscópica, anatomopatológica e microbiológica. Rev Soc Bras Med Trop. 1996; 29 (3): 245-50.
- 54) Hirschl AM, Makristathis A. Methods to detect *Helicobacter pylori*: From culture to molecular biology. Helicobacter. 2007; 12 (2): 6-11.
- 55) Goldman L, Auseiello D, Arend WP, Armitage JO, Drazen JM, Gill, GN, Griggs RC, Powell DW, Scheld WM. Cecil tratado de medicina interna. 22^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.1280p.
- 56) Bittencourt PFS, Rocha GA, Penna FJ, Queiroz DMM. Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. Jornal de Pediatria. 2006; 82: 325-334.
- 57) Siqueira JS, Lima PSS, Barreto AS, Quintans Júnior, LJ. Aspectos gerais nas infecções por *Helicobacter pylori* revisão. RBAC. 2007; 39: 9-13.

- 58) Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis – The updated Sydney System. Am. J. Surg Pathol 1996; 20 (10): 1161-1181.
- 59) Mégraud F, Lehours P. *Helicobacter pylori* Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. Clin Microbiol Rev. 2007; 20 (2): 280–322.
- 60) Francisco Júnior A, Payão SLM, Queiroz VF, Ellinger F, Silva LC, Therezo LS, Gatti L, Barbieri D, Peres CA. Detecção gástrica de *Helicobacter pylori* em pacientes pediátricos sintomáticos através da reação em cadeia de polimerase (PCR), teste de uréase e exame histológico. Pediatría. 2004; 26: 34-42.
- 61) Marshall BJ, Warren JR, Francis GJ, Langton SR, Goodwin CS, Blincow ED. Rapid urease test in the management of *Campylobacter pyloridis*-associated gastritis. Am J Gastroenterol. 1987; 82 (3): 200-210.
- 62) Andersen LP, Kiilerick S, Pedersen G, Thoreson AC, Jorgensen F, Rath J. An analysis of seven different methods to diagnose *Helicobacter pylori* infections. Scand J Gastroenterol. 1998; 33(1): 24-30.
- 63) Herbrink P, van Doorn LJ. Serological methods for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring of eradication therapy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000; 19: 164-173.
- 64) Bleecker U, Lanciers S, Keppens E, Vandenplas Y. Evolution of *Helicobacter pylori* positivity in infants born from positive mothers. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1994; 19 (1): 87-90.

- 65) Mégraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic test for the detection of *Helicobacter pylori*. Scand J Gastroenterol Suppl. 1996; 215: 57-62.
- 66) Graham DY, Klein PD, Evans DJ Jr, Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, Boutton TW. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the 13C-urea breath test. Lancet. 1987;1 (8543): 1174-1177.
- 67) Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for the detection of *Helicobacter pylori* infection by the 13C-urea breath test. Am J Gastroenterol. 1993; 88 (11): 1865-1869.
- 68) Kalach N, Briet F, Raymond J, Benhamou PH, Barbet P, Bergeret M, et al. The 13carbon urea breath test for the noninvasive detection of *Helicobacter pylori* in children: comparison with culture and determination of minimum analysis requirements. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1998; 26 (3): 291-296.
- 69) Bazzoli F, Cecchini L, Corvaglia L, Dall'Antonia M, De Giacomo C, Fossi S, et al. Validation of the 13C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children: a multicenter study. Am J Gastroenterol. 2000; 95 (3): 646-650.
- 70) Gisbert JP, Pajares JM. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by stool antigen determination: a systematic review. Am J Gastroenterol. 2001; 96: 2829–2838.
- 71) Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science. 1988; 239 (4839): 487-491.

- 72) Schabereiter-Gurtner C, Hirschl AM, Dragosics B, Hufnagl P, Puz S, Kovačch Z, Rotter M, Makristathis A. Novel real-time PCR assay for detection of *Helicobacter pylori* infection and simultaneous Clarithromycin susceptibility testing of stool and biopsy specimens. J. Clin. Microbiol. 2004; 42 (10): 4512–4518.
- 73) Tytgat G. *Helicobacter pylori*: past, present and future. J Gastroenterol Hepatol. 2000;15:G30- 33.
- 74) Telford JL, Covacci A, Rappuoli R, Chiara P. Immunobiology of *Helicobacter pylori* infection. Curr Opin Immunol. 1997; 9 (4): 498-503.
- 75) Warren JR. Gastric pathology associated with *Helicobacter pylori*. Gastroenterol Clin North Am. 2000; 29 (3): 705-751.
- 76) Misiewicz JJ. The Sydney System: a new classification of gastritis. Introduction. J Gastroenterol Hepatol. 1991; 6 (3): 207-208.
- 77) Trespi E., Broglia F., Villani L., Luinetti O., Fiocca R., Solcia E. Distinct profiles of gastritis in dyspepsia subgroups. Their different clinical responses to gastritis healing after *Helicobacter pylori* eradication. Scand J. Gastroenterol. 1994; 29: 884-888.
- 78) Chan WY, Hui PK, Chan JK, Cheung PS, Ng CS, Sham CH, Gwi E. Epithelial damage by *Helicobacter pylori* in gastric ulcers. Histopathology. 1991; 19 (1): 47-53.
- 79) Karttunen T, Niemelä S, Lehtola J. *Helicobacter pylori* in dyspeptic patients: quantitative association with severity of gastritis, intragastric pH, and serum gastrin concentration. Scand J Gastroenterol Suppl. 1991;186: 124-134.

- 80) Fiocca R, Villani L, Luinetti O, Gianatti A, Perego M, Alvisi C, Turpini F, Solcia E. *Helicobacter* colonization and histopathological profile of chronic gastritis in patients with or without dyspepsia, mucosal erosion and peptic ulcer: a morphological approach to the study of ulcerogenesis in man. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1992; 420 (6): 489-98.
- 81) Stolte M, Eidt S. Chronic erosions of the antral mucosa: a sequela of *Helicobacter pylori*- induced gastritis. *Z Gastroenterol*. 1992; 30 (12): 846-850.
- 82) Sipponen P, Kosunen TU, Valle J., Riihelä M, Seppälä K. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis in gastric cancer. *J. Clin. Pathol*. 1992: 45: 319-323.
- 83) Sipponen P, Riihelä M, Hyvärinen H, Seppälä K. Chronic nonatrophic ('superficial') gastritis increases the risk of gastric carcinoma: a case-control study. *Scand. J. Gastroenterol*. 1994; 29: 336-340.
- 84) Milman N, Rosenstock S, Andersen L, Jorgensen T, Bonnevie O. Serum ferritin, hemoglobin, and *Helicobacter pylori* infection: A seroepidemiologic survey comprising 2794 Danish adults. *Gastroenterol*. 1998; 115: 268-274.
- 85) Capurso G, Lahner E, Marcheggiano A, Caruana P, Carnuccio A, Bordini C, Delle Fave G, Annibale B. Involvement of the corporal mucosa and related changes in gastric acid secretion characterize patients with iron deficiency anaemia associated with *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2001; 15: 1753-1761.

- 86) Peach GH, Bath EN, Farish SJ. *Helicobacter pylori* infection: an added stressor on iron status of women in the community. MJA. 1998; 169: 188-190.
- 87) Berg G, Bode G, Blettner M, Boeing H, Brenner H. *Helicobacter pylori* infection and serum ferritin: a population – based study among 1806 adults in Germany. Am J Gastroenterol. 2001; 96: 1014-1018.
- 88) Seo JK, Ko JS, Choi KD. Serum ferritin and *Helicobacter pylori* infection in children: A sero-epidemiologic study in Korea. J Gastroenterol Hepatol. 2002; 17: 754-757.
- 89) Hershko C, Lahad A, Kereth D. Gastropathic sideropenia. Best Pract Res Clin Haematol. 2005; 18: 363-380.
- 90) Barabino A. *Helicobacter pylori* – related iron deficiency anemia: a review. Pediatric Gastroenterol. 2002; 7: 71-75.
- 91) Husson MO, Legrand D, Spik G, Leclerc H. Iron acquisition by *Helicobacter pylori*: Importance of human lactoferrin. Infect. Immun. 1993; 61: 2694-2697.
- 92) Appelmek BJ, Simoons-Smit I, Negrini R et al. Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. Infect Immun. 1996; 64: 2031-2040.
- 93) Negrini R, Sávio A, Appelmek BJ. Autoantibodies to gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection [review]. Helicobacter. 1997; 1: S13-S16.
- 94) Claeys D, Faller G, Appelmek BJ et al. The gastric H⁺, K⁺-ATPase is a major autoantigen in chronic *Helicobacter pylori* gastritis with body mucosa atrophy. Gastroenterol. 1998; 115: 340-347.

- 95) Hershko C, Ronson A, Souroujon M, Maschler I, Heyd J, Patz J. Variable dermatologic presentation of autoimmune gastritis: age-related progression from iron deficiency to cobalamin depletion. *Blood*. 2006; 107: 1673-1679.
- 96) Carmel R, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and food-cobalamin malabsorption. *Dig Dis Sci*. 1994; 39 (2): 309-314.
- 97) Dufour C, Brisigotti M, Fabretti G, Luxardo P, Mori PG, Barabino A. *Helicobacter pylori* gastric infection and sideropenic refractory anemia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 17: 225–7
- 98) Marignani M, Angeletti S, Bordi C, Malagnino F, Mancino C, Fave GD, et al. Reversal of long-standing iron deficiency anaemia after eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 617–22 .
- 99) Barabino A, Dufour C, Marino CE, Claudiani F, Alessandri AD. Unexplained refractory iron-deficiency anemia associated with *Helicobacter pylori* gastric infection in children: further clinical evidence. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28: 116–9
- 100) Choe YH, Lee JE, Kim SK. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on sideropenic refractory anaemia in adolescent girls with *Helicobacter pylori* infection. *Acta Paediatr*. 2000; 89: 154-157.
- 101) Michel M, Khellaf M, Desforges L, et al. Autoimmune thrombocytopenic purpura and *Helicobacter pylori* infection. *Arch Intern Med*. 2002;162:1033–1036.

- 102) Jarque I, Andreu R, Llopis I, et al. Absence of platelet response after eradication of *Helicobacter pylori* infection in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2001;115: 1002–1003.
- 103) Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R, et al. Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori* [letter]. *Lancet*. 1998; 352:878.
- 104) Tohda S, Ohkusa T. Resolution of refractory idiopathic thrombocytopenic purpura after eradication of *Helicobacter pylori*. *Am J Hematol*. 2000;65:329–330.
- 105) Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*. 2002; 346:995–1008.
- 106) Marignani M, Fave GD, Mecarocci S, Bordi C, Angeletti S, D'Ambra G, Corleto VD, Monarca B, Annibale B. High Prevalence of Atrophic body gastritis in patients with unexplained microcytic and macrocytic anemia. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94:766-772.
- 107) Chimonas MAR, Baggett HC, Parkinson AJ, Muth PT, Dunaway E, Gessner BD. Asymptomatic *Helicobacter pylori* infection and iron deficiency are not associated with decreased growth among Alaska native Children age 7-11 years. *Helicobacter*. 2006; 11: 159-167.
- 108) Sudai OS, Granot E. An association between *Helicobacter pylori* infection and serum vitamin B₁₂ levels in healthy adults. *J Clin Gastroenterol*. 2003; 36(2): 130-133.

- 109) Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. Clin Chem. 2002; 48: 1066-1076.
- 110) Caetano A, Felix VN, Coimbra FTV, Ganc AJ. *Helicobacter pylori* e doença péptica - Estudo comparativo de métodos diagnósticos. Arq Gastroenterol. 2008; 45: 255-257.
- 111) Jordaan M, Laurens JB. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with the ¹³C-urea breath test by means of GC-MS analysis. J Sep Sci. 2008; 31: 329- 335.
- 112) Iwahi T, Satoh H, Nakao M, Iwasaki T, Yamazaki T, Kubo K, Tamura T, Imada A. Lansoprazole, a novel benzimidazole proton pump inhibitor, and its related compounds have selective activity against *Helicobacter pylori*. Antimicrob Agents Chemother. 1991; 35 (3): 490- 496.
- 113) Pallone F, Luzzza F, Delle Fave G, Annibale B, Marcheggiano A, Biancone L, Torsoli A, Capurso L. Lansoprazole and *Helicobacter pylori* infection. Clin Ther. 1993; 15 Suppl B: 49-57.
- 114) Stolte M, Betheke B. Elimination of *Helicobacter pylori* under treatment with omeprazole. Z Gastroenterol. 1990; 28 (6): 271- 274.
- 115) Tamura K, Murai M, Tanaka M, Kawano S. Activity of Lansoprazole (new proton pump inhibitor) against *Helicobacter pylori* and its therapeutic efficacy. Nippon Rinsho. 1993; 51 (12): 3261- 3266.
- 116) Logan RP, Walker MM, Misiewicz JJ, Gummett PA, Karim QN, Baron JH. Changes in the intragastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole. Gut. 1995; 36: 12-16.

- 117) Hopkins RJ, Girardi LS, Turney EA. Relationship between *Helicobacter pylori* eradication and reduced duodenal and gastric ulcer recurrence: a review. *Gastroenterol.* 1996; 110: 1244- 1252.
- 118) Vaira D, Holton J, Menegatti M, Landi F, Ricci C, Ali' A, Gatta L, Farinelli S, Acciardi C, Massardi B, Miglioli M. Blood tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut.* 1998; 43 (1): S39–S46.
- 119) Kusunen TU, Seppälä K, Sarna S, Sipponen P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet.* 1992; 339: (8798): 893- 895.
- 120) Ferreira LEVVC, Meirelles GSP, Viera RLR, Bragagnolo Jr MA, Chebli JMF, Souza AFM. Alterações no teste ultra-rápido da urease e no exame anatomopatológico para *Helicobacter pylori* induzidas por drogas anti-secretores. *Arq Gastroenterol.* 2001; 38: 3-8.
- 121) Emilia G, Luppi M, Zucchini P et al. *Helicobacter pylori* infection and chronic immune thrombocytopenic purpura: long-term results of bacterium eradication and association with bacterium virulence profiles. *Blood.* 2007; 110 (2): 3833-3841.
- 122) Chen Y, Blaser MJ. Inverse association of *Helicobacter pylori* with asthma and allergy. *Arch Intern Med.* 2007; 176: 821-827.
- 123) Hershko C, Ianculovich M, Souroujon M. Decreased treatment failure rates following duodenal release ferrous glycine sulfate in iron deficiency anemia associated with autoimmune gastritis and *Helicobacter pylori* gastritis. *Acta Haematol.* 2007; 38 (1): 45-53.

- 124) Sarker SA, Mahmud H, Davidsson L et al. Causal relationship of *Helicobacter pylori* with iron-deficiency anemia or failure of iron supplementation in children. *Gastroenterol*. 2008; 135 (5): 1534-1542.
- 125) Zhu FG, Riddell RH. Iron deficiency in *Helicobacter (Campylobacter) pylori*. *J Clin Gastroenterol*. 1990; 12 (2): 244.
- 126) DiGirolamo AM, Perry GS, Gold BD, Parkinson A, Provost EM, Parvanta I, Grummer-Strawn LM. *Helicobacter pylori*, anemia, and iron deficiency relationships explored among Alaska native children. *Pediatr Infect Dis J*. 2007; 26 (10): 927-934.
- 127) Hacıhanefioglu A, Edebali F, Karadenizli AY, Karakaya TA, Sentürk ö, Hülügü S. *Helicobacter pylori* infection as a cause of iron deficiency anaemia. *Haema*. 2003; 6(4): 496- 500.
- 128) Choe YH, Kim KS, Hong YC. The relationship between *Helicobacter pylori* infection and iron deficiency: seroprevalence study in 937 pubescent children. *Arch Dis Child*. 2003; 88: 178.
- 129) Yip R, Limburg PJ, Ahlquist DA, Carpenter HA, O'Neill A, Kruse D, et al. Pervasive occult gastrointestinal bleeding in an Alaska native population with prevalent iron deficiency. Role of *Helicobacter pylori* gastritis. *JAMA*. 1997; 277 (14): 1135- 1139.
- 130) Capurso G, Ricci R, Panzuto F, Baccini F, Passi S, Di Giulio E, Delle Fave G, Annibale B. Intragastric ascorbic but not uric acid is depleted in relation with the

increased pH in patients with atrophic body gastritis and *H. pylori* gastritis. *Helicobacter*. 2003; 8 (4): 300-306.

131) Pellicano R, Rizzetto M. Is hepcidin the bridge linking *Helicobacter pylori* and anemia of chronic infection? A research proposal. *Panminerva Med*. 2004; 46 (3): 165- 169.

132) El-Omar EM, Oien K, El-Nujumi A, Gillen D, Wirz A, Dahill S, Williams C, Ardill JES, McColl KEL. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterol*. 1997; 113: 15-24.

133) Sarker SA, Davidsson L, Mahmud H, Walczyk T, Hurrell RF, Gyr N, Fuchs GJ. *Helicobacter pylori* infection, iron absorption, and gastric acid secretion in Bangladeshi children. *Am J Clin Nutr*. 2004; 80: 149 –153.

134) Baysoy G, Ertem D, Ademoglu E, Kotiloglu E, Keskin S, Pehlivanoglu E. Gastric histopathology, iron status and iron deficiency anemia in children with *Helicobacter pylori* infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004; 38 (2): 146-151.

135) Gessner BD, Bagget HC, Muth PT, Dunaway E Gold BD, Feng Z, Parkinson AJ. A Controlled, Household-Randomized, Open-Label Trial of the Effect That Treatment of *Helicobacter pylori* Infection Has on Iron Deficiency in Children in Rural Alaska. *J Infect Dis*. 2006; 193: 537–46.

136) Choe YH, Kim SK, Son BK, Lee DH, Hong YC, Pai SH. Randomized Placebo-Controlled Trial of *Helicobacter pylori* Eradication for Iron-Deficiency Anemia in Preadolescent Children and Adolescents. *Helicobacter*. 1999; 4 (2): 135–139.

- 137) Mahalanabis D, Islam MA, Shaikh S, Chakrabarty M, Kurpad AV, Mukherjee S, Sen B, Khaled MA, Varmund SH. Haematological response to iron supplementation is reduced in children with asymptomatic *Helicobacter pylori* infection. Br J Nutr. 2005; 94(6): 969–975.
- 138) Chen LH, Luo HS. Effects of *H pylori* therapy on erythrocytic and iron parameters in iron deficiency anemia patients with *H pylori* – positive chronic gastritis. World J Gastroenterol. 2007; 13 (40): 5380-5383.
- 139) Santos IS, Boccio J, Davidsson L, Hernandez-Triana M, Huanca-Sardinas E, Janjetic M et al. *Helicobacter pylori* is not associated with anaemia in Latin America: results from Argentina, Brazil, Bolívia, Cuba, México and Venezuela. Public Health Nutrition. 2008; 1-9.
- 140) Collett JA, Burt MJ, Frampton CM, Yeo KH, Chapman TM, Buttimore RC, Cook HB, Chapman BA. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in the adult population of Christchurch: risk factors and relationship to dyspeptic symptoms and studies. N Z Med J. 1999; 112 (1093): 292- 295.
- 141) Choi JW. Does *Helicobacter pylori* infection relate to iron deficiency anaemia in prepubescent children under 12 years of age?. Acta Pediatr. 2003; 92: 970-972.
- 142) Choi JW. Association between *Helicobacter pylori* infection and iron deficiency varies according to age in healthy adolescents. Acta Haematol. 2007; 117: 197-199.

- 143) Haghi-Ashtiani MT, Monajemzadeh M, Motamed F, Mahjoub F, Sharifan M, Shahsiah, Kashef N. Anemia in children with and without *Helicobacter pylori* Infection. Archives of Medical Research. 2008; 38: 536-540.
- 144) Süoglu ÖD, Gökçe S, Sağlam AT, Sökücü S, Saner G. Association of *Helicobacter pylori* infection with gastroduodenal disease, epidemiologic factors and iron-deficiency anemia in Turkish children undergoing endoscopy, and impact on growth. Pediatr Int. 2007; 49: 858–863.
- 145) Kaya AD, Gencay E, Ozturk CE, Yavuz T. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Children in Northwest Region of Turkey: Relationship with Iron Deficiency Anemia. J Trop Pediatr. 2008; 54 (5): 353-354.
- 146) Ladeira MSP, Salvadori DMF, Rodrigues MAM. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. 2003; 39: 335-342.
- 147) Ladeira MSP, Rodrigues MAM, Salvadori DMF, Queiroz DMM, Freire-Maia DV. DNA damage in patients infected by *Helicobacter pylori*. Câncer Epidemiol Biomarkers Prev. 2004a; 13(4): 631- 637.
- 148) Ladeira MSP, Rodrigues MAM, Salvadori DMF, Padulla Neto P, Achilles P, Lerco MM, et al. Relationships between cagA, vacA, and iceA genotypes of *Helicobacter pylori* and DNA damage in the gastric mucosa. Environ Mol Mutagen. 2004b; 44: 91-98.

- 149) Yokota S, Konno M, Mino E, Sato K, Takahashi M, Fujii N. Enhanced Fe ion-uptake activity in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with iron-deficiency anemia. Clin Infect Dis. 2008; 46 (4): e31-33.
- 150) Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, Cho HJ, Keefer LK, Nachan CF, Young NS. Nitric oxide suppression of human hematopoiesis in vitro. J Clin Invest. 1995; 96: 1085-1092.
- 151) Furukawa T, Kohno H, Tokynaga R, Taketani S. Nitric oxide mediated inactivation of mammalian ferrochelatase in vivo and in vitro: Possible involvement of the iron –sulfur cluster of the enzyme. Biochem J. 1995; 310: 533-538.
- 152) Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ, Bridges K, Platt O. Reticulocyte hemoglobin content (CHr): early indicator of iron deficiency and response to therapy. Blood. 1994; 83: 3100- 3101.
- 153) Thomas C, Thomas L. Anemia of chronic disease: pathophysiology and laboratory diagnosis. Lab Hematol. 2005; 11: 14-23.
- 154) Schubert MT, Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. Gastroenterol. 2008; 134: 1842-1860.
- 155) Jensen RT. Gastrointestinal abnormalities and involvement in systemic mastocytosis. Hematol Oncol Clin North Am. 2000; 14: 579- 623.
- 156) Dent RI, James JH, Want CA, Deftos LJ, Talano R, Fischer JE. Hyperparathyroidism: gastric acid secretion and gastrin. Ann Surg. 1972; 176 (3): 360- 369.

- 157) Hung PD, Schubert ML, Mihas AA. Zollinger-Ellison Syndrome. Curr Treat Options Gastroenterol. 2003; 6 (2): 163-170.
- 158) Jensen RT, Niederle B, Mitry E et al. Gastrinoma (duodenal and pancreatic). Neuroendocrinology. 2006; 84 (3): 173- 182.
- 159) Annibale B, Capurso G, Lahner E et al. Concomitant alterations in intragastric pH and ascorbic acid concentration in patients with *Helicobacter pylori* gastritis and associated iron deficiency anaemia. Gut. 2003; 52 (4): 496-501.
- 160) Perez-Paramo M, Albillos A, Calleja JL et al. Changes in gastrin and serum pepsinogens in monitoring of *Helicobacter pylori* response to therapy. Dig Dis Sci. 1997; 42 (8): 1734-1740.
- 161) Condrad ME, Shade SG. Ascorbic acid chelates in iron absorption: a role for hydrochloridric acid and bile. Gastroenterology. 1968; 55: 35- 45.
- 162) Dickey W. Iron deficiency, gastric atrophy and *Helicobacter pylori*. Dig Liver Dis. 2002; 34: 313- 315.

ANEXOS

Quadro A1: Parâmetros hematológicos e bioquímicos dos pacientes submetidos à biópsia gástrica (n=126).

ID	IDADE	SEXO	Hb (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X10 ⁹ /µl)	Ret-He (pg)	Fe (µg/dl)	ST (%)	Ferr (µg/l)	PC-R (mg/dl)	Gastrina (pg/ml)	Vit B12 (pg/ml)	Resultado Histologia	H. pylori	H. pylori Urease	H. pylori IgG	medicação
2	58	F	14,25	95,4	309,0	33,75	78	23,78	117,30	0,45	24,50	645,4	Duodenite crônica	(-)	(-)	(-)	
4	53	M	16,30	95,6	227,5	35,42	92	25,14	48,02	0,22	18,40	337,3	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	omeprazol
7	63	F	12,30	90,5	123,5	31,57	29	15,34	93,18	1,71	224,00	321,1	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol
9	32	M	15,75	92,8	231,5	38,29	161	47,21	198,80	0,08	87,20	291,4	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	omeprazol
10	36	M	17,10	80,3	222,5	31,73	74	16,37	97,86	1,18	125,00	614,5	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	omeprazol
11	49	M	12,50	107,9	46,5	41,26	94	29,94	752,70	0,93	205,50	401,7	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	omeprazol
12	53	F	13,50	78,8	227,5	31,29	88	28,76	328,70	0,21	31,10	599,8	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
13	72	M	14,20	89,8	90,5	38,43	69	24,82	86,95	0,17	139,50	345,8	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	omeprazol
14	50	F	14,10	92,1	337,5	35,85	62	20,06	190,00	0,84	33,00	767,3	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	
15	21	F	13,65	92,0	243,5	36,59	84	28,28	127,00	0,00	58,10	671,8	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	omeprazol
18	69	M	14,40	73,0	180,0	28,88	82	26,37	144,60	0,43	81,00	368,1	Gastrite crônica intensa	(+)	(-)	(+)	
19	47	M	15,20	91,3	60,0	38,56	96	39,02	457,80	0,69	267,50	1196,0	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
20	44	M	16,50	94,2	358,0	37,11	143	49,48	47,77	0,11	64,20	951,4	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
24	56	M	16,50	91,2	238,0	35,02	127	39,56	187,80	0,28	26,90	320,7	Gastrite crônica inespecífica	(-)	(-)	(-)	
25	38	F	12,25	87,0	220,0	32,03	40	16,46	79,88	1,88	113,00	691,5	Gastrite crônica inespecífica	(-)	(-)	(+)	
27	65	F	11,85	93,8	586,0	33,79	57	23,36	138,30	0,77	78,30	502,6	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
30	39	F	14,10	92,4	191,5	36,32	62	19,08	231,10	1,14	44,50	589,0	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
31	42	F	14,25	92,0	200,0	34,31	87	26,36	60,15	2,74	47,60	372,3	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
32	52	M	18,05	93,7	260,5	36,92	168	37,33	36,10	0,40	2864,00	267,4	Gastrite crônica moderada/intensa	(-)	(-)	(-)	
33	57	F	13,85	91,9	266,5	34,53	75	24,35	135,70	0,99	87,90	1655,0	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	omeprazol
38	57	F	14,60	87,8	448,5	35,46	167	47,99	131,40	0,14	4238,00	558,0	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	
41	61	F	14,25	91,9	231,0	35,81	106	33,87	123,90	0,12	113,00	335,0	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
42	21	F	11,15	73,1	291,5	28,97	150	40,21	15,83	0,44	98,10	609,3	Gastrite crônica leve	(-)	Inconclusiva	(+)	
43	42	F	13,90	90,8	288,0	37,13	59	21,22	75,55	0,21	17,20	616,7	Gastrite crônica inespecífica	(-)	(-)	(-)	
44*	59	F	7,75	74,2	600,5	25,68	11	3,01	27,26	0,18	19,30	707,7	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol*
45	52	M	14,75	89,5	189,5	34,58	96	29,91	54,74	0,20	66,40	484,6	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	omeprazol
47	27	F	13,25	89,0	196,5	34,05	94	28,83	39,14	0,08	113,00	333,1	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol

ID	IDADE	SEXO	Hb (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X10 ⁹ /μl)	Ret-He (pg)	Fe (ug/dl)	ST (%)	Ferr (ug/l)	PC-R (mg/dl)	Gastrina (pg/ml)	Vit B12 (pg/ml)	Resultado Histologia	H.pylori	H.pylori Urease	H.pylori IgG	medicação
48	35	F	13,20	82,8	372,5	33,88	131	39,46	275,70	0,08	29,60	649,3	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
49	49	F	9,00	71,6	282,0	20,29	19	4,83	3,34	0,14	448,50	780,5	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	omeprazol
50	59	F	17,35	90,4	162,5	34,22	42	11,83	41,62	3,13	744,00	796,6	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
55	43	F	13,50	88,7	261,0	35,39	83	25,38	191,70	0,30	106,00	636,4	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
56	42	F	13,20	89,4	249,5	35,33	68	22,74	85,41	0,06	3597,50	505,8	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	omeprazol
57	36	F	12,45	92,4	178,5	35,96	88	26,75	199,40	2,70	87,60	254,5	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	omeprazol
58	38	F	15,35	91,9	196,5	37,27	81	24,85	43,34	0,08	52,10	476,3	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
59	48	M	15,55	84,9	196,0	36,08	138	43,95	337,80	0,20	88,00	388,3	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
60	37	M	13,60	95,3	179,0	36,76	45	19,15	477,40	1,74	12,30	296,4	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol
62	46	F	13,90	93,5	217,5	36,15	52	16,20	134,00	0,19	53,20	431,4	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
63	57	M	16,05	89,7	209,0	37,71	93	33,45	306,60	0,13	86,10	615,5	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
64	56	M	13,55	84,5	211,0	35,40	64	20,45	171,70	0,19	30,40	526,7	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	omeprazol
65	68	F	16,80	77,1	247,0	28,94	41	9,72	11,15	0,15	330,00	568,1	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	omeprazol
66	22	F	14,70	91,2	168,5	38,39	75	23,66	93,90	0,09	29,00	709,6	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
68	48	F	12,95	87,4	385,0	32,80	90	26,87	486,00	0,80	61,10	590,3	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
69	51	F	13,20	92,3	282,5	36,90	80	24,54	186,50	0,10	80,50	445,4	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
70	48	F	14,50	88,9	278,0	35,88	95	26,61	18,03	0,09	69,10	404,1	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
71	37	F	13,40	83,3	211,0	33,34	68	22,01	90,62	0,50	102,00	933,4	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
72	25	F	14,60	90,8	125,5	34,44	59	18,38	39,37	0,19	18,00	423,6	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
74	22	M	16,60	87,6	231,5	34,88	84	24,07	105,90	1,15	180,00	490,6	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
75	29	M	15,20	91,8	205,5	38,81	89	24,38	219,40	0,06	38,20	654,9	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
76	43	F	14,75	87,3	360,0	37,84	51	17,47	105,50	0,20	95,10	730,0	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
77	52	F	12,50	86,3	202,6	37,27	52	16,30	19,33	0,06	29,70	532,8	Gastrite crônica inespecífica	(+)	(+)	(+)	
78	77	F	12,65	87,7	273,0	36,01	90	29,41	321,10	1,35	103,00	420,8	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	
79	30	F	15,95	82,3	281,0	34,41	104	30,59	56,37	0,16	35,20	394,8	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol
80	57	F	14,30	85,7	241,0	37,78	90	28,30	250,70	0,10	47,30	547,9	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	

ID	IDADE	SEXO	Hb (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X10 ³ /µl)	Ret-He (pg)	Fe (µg/dl)	ST (%)	Ferr (µg/l)	PC-R (mg/dl)	Gastrina (pg/ml)	Vit B12 (pg/ml)	Resultado Histologia	H.pylori	H.pylori Urease	H.pylori IgG	medicação
81	48	M	16,80	88,2	260,5	34,88	131	48,34	931,40	0,69	17,10	713,9	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
82	37	F	15,45	89,4	195,0	35,74	83	30,51	226,00	0,61	55,60	490,8	Gastrite crônica inespecífica	(+)	(-)	(-)	
83	39	M	16,60	86,3	284,5	36,81	109	36,58	180,10	0,06	13,10	558,7	Gastrite crônica inespecífica	(-)	(-)	(-)	
84	44	M	16,25	86,1	214,5	36,55	153	50,83	234,20	0,14	24,80	488,3	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(-)	(+)	
85	39	F	14,60	93,2	468,5	37,67	83	23,71	144,10	0,28	103,00	537,7	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	cimetidina
86	34	M	15,90	85,0	218,5	35,23	93	28,44	771,10	0,22	22,70	801,2	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	
87	27	F	14,70	86,7	257,0	34,93	139	30,42	37,11	0,57	68,00	432,7	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	
88	42	F	16,00	86,9	215,0	35,69	143	33,73	63,99	1,83	33,10	233,0	Exame normal	(+)	(+)	(+)	
89	37	F	15,90	88,6	259,0	35,19	76	20,21	67,73	0,18	67,50	488,4	Gastrite crônica inespecífica	(+)	(+)	(+)	
90	21	F	11,80	87,1	357,0	31,35	68	16,46	10,70	0,69	600,50	267,6	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	omeprazol
91	48	F	13,15	94,4	331,0	37,97	60	18,46	71,50	1,36	33,50	907,9	Gastrite crônica inespecífica	(+)	(+)	(+)	
92	64	F	12,60	90,0	228,0	36,30	56	17,13	167,90	0,28	50,50	820,4	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	
93	34	F	13,15	90,9	214,5	33,10	45	14,85	39,52	1,53	116,50	671,6	Gastrite crônica moderada/intensa	(-)	(-)	(+)	
94	32	F	14,25	94,2	193,0	33,70	109	34,28	45,69	0,18	23,30	617,6	Exame normal	(-)	(-)	(-)	
95	38	F	11,10	69,1	364,0	23,90	20	4,25	4,57	0,62	4182,00	1063,0	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(-)	(-)	omeprazol
96	67	F	12,25	86,2	306,0	31,90	73	21,99	22,31	0,29	1877,00	319,3	Gastrite crônica inespecífica	(+)	(-)	(-)	omeprazol
97	40	M	14,85	86,6	210,0	32,90	102	35,29	314,40	0,45	15,10	576,7	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
98	65	M	11,05	82,3	233,0	28,30	40	12,01	11,06	0,33	275,00	282,3	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	cimetidina
99	53	M	15,20	98,0	253,5	35,85	181	70,70	244,40	0,06	17,90	371,4	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
100	38	M	16,30	87,3	164,5	32,65	80	32,00	404,10	0,01	44,50	447,9	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
101	50	F	12,45	93,4	206,5	35,30	86	25,52	28,78	0,09	20,20	542,6	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
102	45	F	13,00	87,4	270,0	31,65	67	21,97	192,20	0,42	147,50	323,0	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol
103	43	F	14,50	88,9	299,5	33,75	193	47,19	168,80	1,06	24,30	1029,0	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
104	52	F	14,45	89,0	232,0	34,60	178	58,55	24,55	0,60	29,50	424,1	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
105	31	F	11,60	90,3	242,5	33,75	91	26,76	69,62	0,07	36,60	1021,0	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
107	34	F	10,10	93,5	258,0	33,60	62	16,76	27,13	0,74	38,30	167,1	Exame normal	(-)	(-)	(-)	
108	43	F	11,40	89,7	283,0	27,85	49	13,92	4,39	0,05	107,00	307,8	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
109	48	F	12,15	89,9	282,5	29,90	80	27,03	31,91	1,23	29,30	743,6	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	

ID	IDADE	SEXO	Hb (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X10 ³ /µl)	Ret-He (pg)	Fe (ug/dl)	ST (%)	Ferr (ug/l)	PC-R (mg/dl)	Gastrina (pg/ml)	Vit B12 (pg/ml)	Resultado Histologia	H.pylori	H.pylori Urease	H.pylori IgG	medicação
110	55	F	13,50	91,6	245,5	33,30	82	21,30	29,03	0,39	428,50	310,1	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
112	59	M	15,40	92,8	354,5	35,80	75	27,08	381,70	0,13	323,00	643,9	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
113	21	F	10,40	79,9	323,0	28,25	97	28,20	76,31	1,74	60,30	211,7	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
114	50	F	14,50	95,7	239,5	37,20	135	45,45	167,90	0,05	24,65	631,2	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
115	19	M	16,00	89,1	232,0	33,70	122	36,31	219,90	0,03	23,40	630,6	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol
116	48	F	14,20	92,0	317,5	35,95	105	25,06	26,71	0,42	113,00	765,8	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
117	73	F	13,20	93,9	254,5	33,80	42	16,41	101,30	0,43	237,50	648,9	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	omeprazol
118	30	F	12,40	78,4	333,5	26,80	115	39,25	75,55	0,14	59,50	261,8	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	
119	23	F	12,95	82,4	165,5	26,25	26	7,22	7,70	0,51	18,50	724,3	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
120	58	F	15,30	84,7	234,5	32,20	71	22,12	143,50	0,46	47,20	686,0	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(-)	(+)	
121	33	M	15,90	87,1	196,5	32,25	74	22,09	94,00	0,55	21,40	746,2	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
122	41	F	14,60	87,4	324,5	32,35	89	26,25	88,38	0,07	509,50	601,9	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
123	28	M	11,35	64,2	193,5	20,85	87	30,31	241,10	0,06	235,50	320,7	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol
124	59	F	14,65	92,6	302,0	33,75	74	19,47	132,00	0,70	22,10	500,1	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	
125	46	F	16,10	91,8	196,0	34,45	56	14,78	30,55	0,38	68,10	418,2	Gastrite crônica leve	(+++)	(-)	(-)	
126	61	M	15,15	95,4	171,5	34,50	93	29,52	276,50	0,09	67,10	436,1	Gastrite crônica intensa	(+++)	(+)	(+)	
127	56	F	11,50	89,6	321,5	31,65	75	20,38	189,20	0,07	66,60	544,0	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	omeprazol
128	27	F	14,35	89,3	180,5	32,85	135	44,55	68,79	0,00	18,60	694,9	Exame normal	(-)	(-)	(-)	
129	49	F	10,60	73,9	311,0	23,70	25	5,19	5,09	0,78	63,20	556,2	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	omeprazol
130	58	F	14,10	89,9	305,1	30,10	84	21,48	30,16	0,38	46,90	407,7	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
131	63	M	13,90	94,1	279,0	35,50	107	31,29	198,00	0,89	27,90	226,6	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	omeprazol
132	46	F	13,30	87,1	230,5	32,35	97	25,80	126,00	0,35	63,40	313,4	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
133	83	M	12,85	94,1	206,5	32,55	22	9,61	398,10	3,52	38,30	398,0	Exame normal	(-)	(-)	(+)	omeprazol
134	75	F	12,90	89,0	226,5	31,60	72	23,30	216,10	0,18	36,20	7840,0	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
135	44	F	13,70	94,1	325,5	33,35	92	27,22	82,38	0,62	111,00	458,2	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
136	33	F	14,10	95,1	255,0	35,55	74	21,89	64,19	0,06	58,60	896,3	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
137	19	F	14,65	88,8	248,5	32,00	75	18,99	36,15	0,08	36,20	321,4	Exame normal	(-)	(-)	(-)	
138	29	F	13,40	90,5	187,5	30,05	101	34,01	129,90	0,06	67,70	437,0	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	

ID	IDADE	SEXO	Hb (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X10 ³ /μl)	Ret-He (pg)	Fe (ug/dl)	ST (%)	Ferr (ug/l)	PC-R (mg/dl)	Gastrina (pg/ml)	Vit B12 (pg/ml)	Resultado Histologia	<i>H.pylori</i>	<i>H.pylori</i> Urease	<i>H.pylori</i> IgG	medicação
139	31	F	13,80	79,6	273,5	28,30	52	13,54	78,28	0,17	264,50	703,4	Gastrite crônica moderada/ intensa	(-)	(-)	(+)	omeprazol
140	46	F	15,40	88,6	356,5	32,10	37	9,18	122,40	0,94	111,00	458,3	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(+)	omeprazol
141	67	M	15,85	98,4	248,5	35,45	74	29,25	217,60	0,83	44,70	776,6	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
142	70	F	13,70	103,0	195,5	36,55	93	32,63	145,60	0,10	46,40	520,3	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(+)	(+)	
143	39	F	14,85	93,9	231,5	37,15	59	17,00	267,60	0,30	46,40	294,0	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	
144	44	F	16,10	93,5	285,0	39,50	114	29,31	43,56	0,44	118,00	526,2	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
145	37	F	15,00	89,1	226,5	39,60	137	41,02	36,70	0,04	62,70	458,3	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(+)	(+)	
146	46	F	15,75	91,2	202,0	38,75	117	36,11	108,20	0,00	28,10	557,2	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(+)	(+)	
147	45	F	13,05	90,9	274,0	39,60	37	8,45	16,01	0,55	26,50	408,6	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(+)	(+)	
148	66	M	15,90	94,6	223,5	39,25	80	25,24	31,29	0,05	62,40	258,4	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(+)	(+)	cimetidina
149	45	M	14,30	92,7	231,5	37,50	39	10,63	52,60	0,61	74,40	662,6	Gastrite crônica moderada/ intensa	(+)	(-)	(+)	omeprazol
151	72	F	15,75	89,8	176,5	38,90	96	28,40	252,60	0,28	24,40	1225,0	Gastrite crônica leve	(+)	(+)	(+)	
152	24	M	16,55	86,9	241,5	38,70	77	22,13	30,80	0,56	25,90	336,2	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(-)	
153	40	M	16,55	83,6	142,5	37,05	104	34,78	184,60	0,07	25,00	558,9	Gastrite crônica leve	(+)	(-)	(+)	omeprazol
154	23	M	16,35	91,1	315,5	37,20	125	31,49	265,50	0,18	17,60	569,7	Gastrite crônica leve	(-)	(-)	(-)	cimetidina
155	18	M	16,60	91,1	178,0	36,10	178	58,36	154,60	0,02	14,40	299,0	Exame normal	(-)	(-)	(-)	omeprazol
156	46	M	14,60	88,3	184,5	35,50	104	24,88	382,70	0,64	132,50	835,1	Gastrite crônica moderada/intensa	(+)	(+)	(+)	

Legenda: ID= identidade do indivíduo no grupo, Hb= hemoglobina, VCM= volume corpuscular médio, PLT= plaqueta, Ret-HE= conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Fe= ferro sérico, ST= saturação da transferrina, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa, Gastrina = gastrina sérica, VIT B12 = vitamina B12. *Paciente excluído por gastrectomia. Valores em negrito = fora dos valores de referência

Quadro A2: Parâmetros hematológico e bioquímico dos pacientes não submetidos à biópsia gástrica (n=30).

ID	IDADE	SEXO	Hb (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X103/ml)	Ret-He (pg)	Fe (mg/dl)	ST (%)	Ferr (ng/ml)	PC-R (mg/dl)	Gastrina pg/ml	Vit B12 (pg/ml)	H.pylori IgG	H.pylori IgG (U/ml)	RESULTADO DA ENDOSCOPIA
1	69	F	14,00	93,1	195,0	33,43	58,00	25,89	218,9	0,53	30,10	516,3	(-)	0,49	Exame normal
3	76	M	15,05	98,7	151,0	34,37	83,00	34,02	103,9	0,07	59,50	356,7	(-)	0,70	Gastrite enantematosal/ pseudo divertículo em bulbo duodenal
5	55	M	15,75	97,5	245,5	31,80	36,00	16,36	288,3	3,44	472,00	408,5	(+)	5,20	Exame normal
6	48	F	14,35	99,9	170,5	36,58	80,00	29,52	99,01	0,09	136,00	362,3	(-)	0,61	Exame normal
8	27	M	16,10	87,6	183,5	36,80	100,00	34,84	282,2	0,13	790,00	281,5	(-)	<0,40	Exame normal
16	32	M	15,65	72,2	203,0	33,03	136,00	44,74	121,2	0,21	28,60	517,8	(+)	1,60	Exame Normal
17	24	F	13,85	87,2	192,0	35,18	78,00	18,75	12,85	0,14	87,50	379,1	(+)	>8,0	Polipos duodenal
21	35	F	15,55	88,3	180,0	35,79	124,00	37,46	176,2	0,25	23,80	490,6	(-)	<0,40	Exame Normal
22	46	F	11,30	83,4	273,0	34,38	190,00	59,38	137,2	0,23	64,80	291,1	(+)	1,40	Divertículos gástricos
23	63	F	10,55	88,9	115,0	33,02	46,00	10,98	35,62	0,19	>1000	404,7	(-)	0,70	Ectasia vascular antral GAVE/ áreas deprimidas gástricas/ lesão elevada em bulbo
26	23	F	13,80	85,4	210,0	34,99	85,00	27,42	35,62	0,2	63,20	525	(-)	0,84	Papiloma esofágico
28	56	F	14,25	91,5	268,0	36,54	73,00	28,08	195,6	0,58	649,00	533,3	(+)	2,80	Exame Normal
29	32	F	13,55	88,1	33,5	33,75	103,00	32,29	151,7	0,84	45,90	411,1	(+)	4,10	Esofagite erosiva leve Grau A Los Angeles
34	31	M	12,25	87,1	277,5	34,83	54,00	17,88	152,7	0,07	186,00	396	(+)	2,20	Exame Normal
35	38	F	14,10	91,2	270,5	37,04	55,00	23,81	140,9	0,3	201,00	449,2	(+)	>8,0	Exame Normal
36	63	F	13,20	92,5	232,5	34,94	149,00	50,34	37,79	0,1	163,00	748,7	(+)	5,80	Hérnia Hialal por deslizamento
37	17	F	13,90	82,8	333,5	34,28	125,00	43,86	60,59	0,11	17,90	432,4	(-)	<0,4	Exame Normal
39	68	F	13,95	94,9	230,0	37,23	97,00	33,92	44,87	0,21	29,70	821	(-)	0,44	Gastrite enantemática leve
40	37	F	13,60	84,4	212,0	31,27	82,00	26,37	32,47	1,01	177,00	527,5	(+)	6,00	Exame Normal
46	44	M	15,05	87,7	247,5	33,99	75,00	33,19	742,1	0,2	150,00	580,3	(+)	2,80	Gastrite atrófica leve
51	44	M	15,35	89,4	189,5	37,34	100,00	38,76	381,4	0,08	17,20	381,5	(-)	0,47	Exame normal
52	56	F	14,15	88,4	325,0	34,37	42,00	20,69	353,3	6,07	157,00	507,6	(-)	0,60	Exame normal
53	50	F	15,95	87,6	458,5	35,09	92,00	31,51	110,9	1,15	33,20	633,9	(-)	0,80	Exame normal
54	35	F	13,10	84,1	284,0	32,87	60,00	16,76	27,88	0,23	170,00	441,7	(+)	6,20	Exame Normal
61	43	F	14,70	87,0	349,5	37,28	64,00	22,22	200,2	0,68	36,50	392,2	(-)	0,64	Exame normal
67	44	M	16,55	86,0	145,0	36,38	75,00	30,86	280,4	1,43	30,50	391,2	Indeterminado	0,96	Exame normal

ID	IDADE	SEXO	Hb (g/dl)	VCM (fl)	PLT (X103/ml)	Ret - He (pg)	Fe (mg/dl)	ST (%)	Ferr (ng/ml)	PC-R (mg/dl)	Gastrina pg/ml	Vit B12 (pg/ml)	<i>H.pylori</i> IgG	<i>H.pylori</i> IgG (U/ml)	RESULTADO DA ENDOSCOPIA
73	78	F	14,00	91,3	298,0	36,15	46,00	16,49	32,38	0,49	355,00	1323	(+)	3,20	Exame normal
106	62	M	14,65	98,8	249,5	35,20	116,00	36,02	206,8	0,23	111,00	534,5	(+)	4,90	Hérnia Hiatal por deslizamento
111	75	M	13,40	86,4	161,0	33,15	55,00	24,02	87,23	0,00	94,10	405,2	(+)	>8,00	Pangastrite endoscópica erosiva e atrófica moderada
150	56	F	12,85	83,9	302,0	34,60	74,00	29,72	227,7	1,83	>1000	453,4	(+)	2,10	Exame normal

Legenda: ID= identidade do indivíduo no grupo, Hb= hemoglobina, VCM= volume corpuscular médio, PLT= plaqueta, Ret-He= conteúdo de hemoglobina nos reticulócitos, Fe= ferro sérico, ST= saturação da transferrina, Ferr= ferritina sérica, PC-R= proteína C-reativa, Gastrina = gastrina sérica, VIT B12 = vitamina B12. Valores em negrito = fora dos valores de referência

Aprovação do Comitê de Ética em pesquisa



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 12/02/07.
(Grupo III)

PARECER PROJETO: Nº 769/2006 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0622.0.146.000-06

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "AVALIAÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE FERRO EM PACIENTES INFECTADOS COM *HELICOBACTER PYLORI*"

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Eliana da Costa Alvarenga

INSTITUIÇÃO: HC/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 06/12/2007

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 23/01/08 (O formulário encontra-se no site acima)

II - OBJETIVOS

Verificar a frequência de deficiência de ferro em pacientes infectados com *H. pylori* e avaliar o estado do ferro nestes pacientes através da utilização de diversos parâmetros laboratoriais.

III - SUMÁRIO

Serão estudados 100 pacientes adultos, de ambos os sexos, recrutados entre os pacientes que farão endoscopia digestiva alta no Gastrocentro da UNICAMP. No momento da endoscopia digestiva será colhida uma amostra de sangue periférico para o estudo do ferro. Os critérios de inclusão e exclusão estão claros. A metodologia é adequada. Existe um orçamento adequado.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

O projeto foi reapresentado com as correções solicitadas pelos assessores, bem como uma nova versão do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, estando de acordo com as normas exigidas pelo CEP/FCM.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13084-971 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

- 1 -



VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na I Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 23 de janeiro de 2007.


Prof. Dra. Carmen Sílvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Title: Assessment of iron deficiency in *Helicobacter pylori* infection

Running title: *H. pylori* and iron deficiency

Authors: Eliana da Costa Alvarenga *, **Ciro Garcia Montes **, Fábio Guerrazzi **, José Murilo R Zeitune **, Helena Zerlotti Wolf Grotto***

***Department of Clinical Pathology, Faculty of Medical Sciences, ** Gastrocentro Center for Digestive Diseases, State University of Campinas, São Paulo, Brazil**

Correspondence: Helena Zerlotti Wolf Grotto

Department of Clinical Pathology, Faculty of Medical Sciences, CP 6111, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brazil.

grotto@fcm.unicamp.br

Fax +55 19 3521 9434.

Grant support: FAEPEX 230/07 and CAPES.

Abstract

Background: *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) is the main etiologic agent of gastritis, ulcers and gastric cancers. More recently, it has also been associated with iron deficiency anemia.

Aims: To investigate a possible association between *H. pylori* infection and iron deficiency

in a group of adult Brazilian patients. Methods: A total of 125 individuals who underwent

endoscopy to clarify their diagnosis were studied. The presence of anemia was determined

using red cell indices and reticulocyte hemoglobin content (CHr), and iron status was

determined based on serum iron levels, transferrin-binding capacity and serum ferritin

levels. Possible involvement of inflammatory activity in erythropoiesis was investigated by

measuring the correlation between C-reactive protein (CRP) levels and both red cell indices

and iron status. Serum gastrin concentration was also measured. Results: The 125 patients

were separated into *H. pylori*-positive (n= 75) and *H. pylori*-negative (n= 50) individuals.

There were no significant differences in the hematological or biochemical parameters for

the two groups; however, there was a difference in anti-*H. pylori* IgG and serum gastrin

levels, which were significantly higher in the *H. pylori*-positive group. Iron deficiency was

diagnosed in six individuals, but no difference in prevalence was found between the *H.*

pylori-positive and *H. pylori*-negative groups. A weak but significant inverse correlation

was observed between CRP and CHr levels and between serum gastrin and CHr levels in

the *H. pylori*-positive group. Conclusions: *H. pylori* infection and the severity of gastritis

were not determining factors for development of iron deficiency in our study population.

Keywords: *Helicobacter pylori*, iron deficiency anemia, iron metabolism, reticulocyte hemoglobin, C-reactive protein, erythropoiesis.

Introduction

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is recognized as the main etiologic agent of gastritis, ulcers and gastric cancers [1,2]. More recently, it has also been associated with extra-gastrointestinal diseases such as idiopathic thrombocytopenic purpura [3], allergic diseases [4], iron deficiency anemia (IDA) [5,6] and pernicious anemia [7]. A number of mechanisms for the association between *H. pylori* infection and iron deficiency have been proposed: competition between *H. pylori* and the host for iron [8]; increased blood loss through the gastrointestinal tract [9], leading to a reduction in serum ferritin levels [10]; and interference with the absorption of iron from the diet due to changes in gastric pH [11]. Husson et al [12] reported that *H. pylori* may use human lactoferrin, a glycoprotein produced by neutrophils that has the ability to bind to iron, as an iron source. According to Barabino et al [13], lactoferrin levels increase in patients with gastritis. As *H. pylori* has a lactoferrin receptor, iron may be able to bind to the lactoferrin coupled to the receptor on the bacteria, reducing the amount of available iron for absorption by the host's intestine.

The results of studies into the association between IDA and *H. pylori* infection reported in the literature are contradictory. Some studies of pediatric patients showed that there was no such association [14,15,16], while others showed that *H. pylori* plays a role in iron deficiency and influences therapeutic response [17,18,19]. An assessment of the precise role played by *H. pylori* in the development of IDA is made particularly difficult not only by the fact that many patients are women in the reproductive phase who lose blood through menstruation but also by the fact *H. pylori* is very common among the healthy population [20,21].

In the present study we investigated a possible association between *H. pylori* infection and iron deficiency in a group of Brazilian adult patients.

Methods

The study population consisted of 125 adults (40 men and 85 women) between 19 and 77 years of age who underwent endoscopy and had been seen at the Gastrocentro Center for Digestive Diseases, Hospital das Clínicas, UNICAMP, Campinas, Brazil.

Patients were excluded if they had cancer, kidney disease or HIV-positive serology, if they were using antibiotics, antacids or medicines containing iron or vitamin B12, or if they had received a transfusion in the previous 120 days.

The project was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medical Sciences, UNICAMP. Blood samples were collected from the patients, all of whom were volunteers, after they had signed consent forms.

Laboratory measurements:

- hematological profile: complete blood count, including reticulocyte count, in an automated hematology analyzer (Sysmex XE 2100, Sysmex Corporation, Kobe, Japan).
- Assessment of iron status: serum iron (SI), transferrin-iron binding capacity (TIBC) - Hitachi Modular Analyzer (Roche Diagnostics, Germany) and serum ferritin (SF) - Elecsys 2010 Analyzer (Roche Diagnostics, Germany).
- Measurement of vitamin B12 levels (B12): electrochemiluminescence (electrochemiluminescent immunoassay, Elecsys 2010 Analyzer, Roche, Germany).
- Assessment of inflammatory activity: C-reactive protein (CRP): immunoturbidimetry (Immunoturbidimetric assay, Tina-Quant C-Reactive Protein, Roche/Hitachi Modular Analyzer, Roche, Germany). Values greater than 0.5mg/dL were considered to indicate inflammatory activity.
- Measurement of serum gastrin levels: chemiluminescence (chemiluminescent assay, IMMULITE 2000 Gastrin, Siemens, Los Angeles, USA). Patients with values greater

than 115pg/mL were considered to have hypergastrinemia.

Diagnosis of gastritis and H. pylori infection: Four fragments were removed during upper gastrointestinal endoscopy (two from the antral mucosa and two from the body of the stomach). The fragments were stained with hematoxylin and eosin to classify and grade gastritis according to the Sidney system [22] and to determine whether *H. pylori* was present. The rapid urease test was also used to investigate the presence of *H. pylori*, and a chemiluminescent assay was used to detect anti-*H. pylori* IgG antibodies (IMMULITE 1000 IgG semi-quantitative test, Siemens, Los Angeles, USA). Values ≥ 1.0 U/mL were considered to indicate the presence of anti-*H. pylori* IgG antibodies, and values < 1.0 U/mL to indicate negative results.

Patients with Hb < 14.0 g/dL (men) or Hb < 12.0 g/dL (women) were considered to be anemic, and SF levels of less than 30 μ g/L (men) or less than 13 μ g/L (women) were considered indicative of an iron deficiency. The criteria used to diagnose IDA were as follows: Transferrin saturation (TS) (SI/TIBC $\times 100$) $< 15\%$; SF $< 30\mu$ g/L for men and $< 13\mu$ g/L for women; SI $< 45\mu$ g/L for men and $< 30\mu$ g/L for women; TIBC $> 456\mu$ g/L.

Statistical analysis: The nonparametric Mann-Whitney test was used to compare continuous measurements for the two groups, and the chi-square test to compare categorical variables. The exact Fisher test was used to determine whether there was a difference between the frequency of IDA in the group with *H. pylori* infection and the corresponding figure for the uninfected group. The Spearman correlation coefficient was used to investigate the relationship between the continuous variables. A 5% significance level was

defined for all the statistical tests. The software used was the SAS System for Windows (Statistical Analysis System) version 9.1.3, service pack 3, SAS Institute Inc. 2002-2003, Cary, NC, USA.

Results

Prevalence of H. pylori infection

Histological analysis revealed the presence of *H. pylori* infection in 75 (60%) of the 125 patients studied. The urease test was positive in 50 patients (40.32%), and *H. pylori* serology revealed IgG titers ≥ 1 in 73 patients (58.4%).

When the patients were separated into *H. pylori*-positive and *H. pylori*-negative groups no significant differences in the hematological or biochemical parameters were observed between the two groups; however, a difference was observed in anti-*H. pylori* IgG and serum gastrin levels, which were significantly higher in the *H. pylori*-positive group (Table 1).

Anemia

Although *H. pylori* was detected in the vast majority of the patients with gastritis, anemia was diagnosed in only 17 (13.6%) of the 125 individuals, 7 of whom were *H. pylori* positive and 10 of whom were *H. pylori* negative. Among the 17 patients with reduced Hb levels, the cause of the anemia could be determined in 11: of these, 6 had IDA, 1 had heterozygous beta thalassemia, 1 had alpha thalassemia ($\alpha^{3.7} / \alpha^{3.7}$) and 3 had neither gastritis nor infection by *H. pylori* on histological examination. Of the latter three, 2 had

renal anemia and the third suffered from anemia of chronic disease. With the exception of one male patient who had an Hb level of 12.5 g/dL, macrocytosis, thrombocytopenia and normal serum vitamin B12 levels, the remainder had Hb levels that met our criteria for anemia but were very close to normal (≥ 11.5 g/dL in the women and ≥ 13.5 g/dL in the men). There were no laboratory results suggestive of iron or vitamin B12 deficiency in these five patients.

Incidence of iron deficiency in the *H. pylori*-positive and *H. pylori*-negative groups: using the Fisher exact test, no significant difference was found between the incidence of iron deficiency in the *H. pylori*-positive group (n=75, five of whom had an iron deficiency) and the corresponding figure for the *H. pylori*-negative group (n= 50, one of whom had an iron deficiency) (p value= 0.4004).

Assessment of the possible involvement of inflammatory activity in erythropoiesis:

We tested for various associations between parameters related to erythropoiesis, inflammatory activity (CRP) and serum gastrin levels in the group with *H. pylori* infection and the group without.

There was a significant but weak correlation between CRP levels and reticulocyte hemoglobin content (CHr) in the *H. pylori*-positive group as well as between CHr and gastrin levels. A weak inverse correlation was also observed between SF and gastrin levels in the infected group (Table 2).

Classification of gastritis and diagnosis of H. pylori

Of the 125 patients who underwent a biopsy, 110 were diagnosed as having gastritis according to the Sidney system [22]. Of these, 64 had mild gastritis (58.18%) and 37 (33.63%) moderate/severe gastritis, while in the remaining 9 (8.1%) the severity of the gastritis was not defined. Of the 110 patients with gastritis, 74 (67.2%) were *H. pylori* positive. When the patients with moderate/severe gastritis were compared with those with mild gastritis, no significant differences were observed in the parameters studied with the exception of the titers of IgG antibodies to *H. pylori*, which were significantly higher in the group with moderate/intense gastritis (Table 3).

The results suggest that the severity of the gastritis was not reflected in the hematological parameters, iron status or inflammatory activity. Again, only the serum levels of IgG antibodies to *H. pylori* were higher in the group with moderate/severe gastritis than in the group with mild gastritis ($p < 0.0001$).

Discussion

In recent years a number of epidemiologic studies have shown that there is a relationship between *H. pylori* infection and altered iron metabolism [10,17,23,24]. Many of these studies investigate the association between *H. pylori* infection and iron deficiency anemia in children and adolescents, as well as the response to treatment of the anemia after the bacteria has been eradicated [17,25,19]. In populations in Alaska where there are descriptions of hemorrhagic gastritis in adults with *H. pylori* infection, the role played by the bacteria in the etiology of anemia appears to be clear [9]. However, gastric bleeding is not a frequent clinical manifestation in patients infected with *H. pylori*. Hence, other mechanisms have been proposed to explain the iron deficiency, such as poor iron

absorption because of reduced production of gastric acid [26]; involvement of the inflammatory process, contributing to the reduced absorption of iron in the intestine induced by the increase in hepcidin [27]; iron sequestration by lactoferrin released by neutrophils in the gastric mucosa [28]; or even competition between the bacteria and the host for iron from the diet [29].

In our study we failed to show any association between iron deficiency and *H. pylori* infection. Our findings agree with those of a study in which the association between *H. pylori* and anemia was investigated in 1007 individuals of different ages in six Latin American countries, including Brazil. The prevalence of *H. pylori* infection in Brazilian individuals was 70.7% , but the percentage of anemic individuals was similar in the *H. pylori*-positive and *H. pylori*-negative groups (20.9% and 20.5%, respectively, $p=0.9$). In the other countries where the study was carried out, similar results were obtained [30].

One possible explanation for the variation in the results reported in the literature could be the lack of data on the distribution of *H. pylori* genotypes around the world. One factor that leads to the bacteria being more virulent is the presence of genes such as the *cagA* gene, which secretes cytotoxin [31]. More serious damage to DNA in the gastric mucosa is related to *cagA*+/*vacA*s1m1 and *iceA*1 strains, which cause more intense inflammation of the mucosa [32]. Yokota et al. [33] isolated different *H. pylori* strains in gastric biopsies from patients with or without an iron deficiency and subjected these to different iron supplements. The strains from patients with iron deficiency anemia were found to grow at a significantly greater rate when they were exposed to an iron-rich medium. According to the authors, these strains had a greater ability to capture iron, particularly in its ferrous form. They suggested that one of the risk factors for *H. pylori*-infected patients developing an iron deficiency may be the type of bacterial strain colonizing the patient.

However, the *H. pylori* genotype has not been determined in studies investigating the association between this bacteria and iron deficiency.

In a study in which soluble transferrin receptor (sTfR) levels were used as a marker of iron deficiency, no difference was observed in hemoglobin and serum ferritin levels between infected and uninfected individuals, although sTfR levels were significantly higher in the group that was *H. pylori*-positive and had high IgG titers but no anemia. The authors suggest that the discrepancy between sTfR and serum ferritin concentrations may be a result of the fact that ferritin is an acute-phase protein, the levels of which are often increased out of proportion to iron body stores during inflammation [34]. We investigated whether the possible involvement of inflammatory activity interferes with erythropoiesis by measuring the correlation between CRP values and the parameters for erythropoiesis and iron status. A weak but significant correlation was observed between CRP and CHr levels in *H. pylori*-positive patients. CHr is an indicator of the extent to which iron is being absorbed for use in the synthesis of hemoglobin in red blood cells and the recent availability of iron for erythropoiesis [35]. Measurement of this parameter allows functional iron deficiency to be diagnosed, as in this condition the iron content in the organism is normal but is not available for erythropoiesis. This is relatively common in patients undergoing treatment with recombinant erythropoietin without iron supplementation and in patients with chronic disease [36]. Our results suggest that *H. pylori* infection may be related to reduced availability of iron, which, although insufficient to cause anemia, results in reduced availability of iron for the synthesis of hemoglobin. This condition is particularly important in patients in whom an iron deficiency is the result of other factors, such as gastric bleeding.

A similar finding was observed for serum gastrin, as there was found to be a weak but significant inverse correlation between gastrin levels and both CHr and SF levels. Gastrin is produced by G cells in the gastric antrum and is the main stimulant of acid secretion during digestion. When gastric pH is very low, gastrin secretion is inhibited. In contrast, an increase in gastric pH leads to hypergastrinemia [37]. In some conditions, such as systemic mastocytosis [38], chronic hypercalcemia [39] and Zollinger-Ellison syndrome (gastrinoma) [40,41], acid secretion is abnormally high. Gastric acidity and the concentration of ascorbic acid in the gastric juice have been shown to be adversely affected by *H. pylori* and to become normal once the bacteria has been eradicated [11]. Elimination of *H. pylori* has also been found to result in a significant reduction in serum gastrin levels [42]. An acid pH and ascorbic acid are important in reducing ferric iron to ferrous iron, the absorbable form of non-heme iron [43,44]. One possible explanation for the inverse correlation between CHr and gastrin observed in our study is that the reduction in gastric acidity and consequent stimulation of gastrin production may lead to less iron being absorbed in the intestine and an, albeit small, reduction in reticulocyte hemoglobinization. Measurement of sTfR levels in these patients could provide better evidence of this and support the results reported by Choi [34], who found that sTfR levels were higher in the *H. pylori*-positive group.

In conclusion, *H. pylori* infection and the severity of gastritis were not determining factors for development of iron deficiency in our study population.

Acknowledgments: We would like to thank Dr Maria Aparecida Mesquita for assistance in clinic data interpretation and Dr Rita B. Carvalho for help with histological analysis.

References

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984;1:1311-1315.
2. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 1998;114:1169-1179.
3. Emilia G, Luppi M, Zucchini P et al. *Helicobacter pylori* infection and chronic immune thrombocytopenic purpura: long-term results of bacterium eradication and association with bacterium virulence profiles. *Blood* 2007; 110(2):3833-3841.
4. Chen Y, Blaser MJ. Inverse association of *Helicobacter pylori* with asthma and allergy. *Arch Intern Med* 2007; 76:821-827.
5. Hershko C, Ianculovich M, Souroujon M. Decreased treatment failure rates following duodenal release ferrous glycine sulfate in iron deficiency anemia associated with autoimmune gastritis and *Helicobacter pylori* gastritis. *Acta Haematol.* 2007;38(1):45-53.
6. Sarker SA, Mahmud H, Davidsson L et al. Causal relationship of *Helicobacter pylori* with iron-deficiency anemia or failure of iron supplementation in children. *Gastroenterology* 2008;135(5): 534-1542.
7. Hershko C, Lahad A, Kereth D. Gastropathic sideropenia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2005;28:363-380.
8. Annibale B, Capurso G, Delle Fave G. The stomach and iron deficiency anaemia: a forgotten link. *Dig Liver Dis* 2003;35:288-295.

9. Yip R, Limburg PJ, Ahlquist DA et al. Pervasive occult gastrointestinal bleeding in an Alaska native population with prevalent iron deficiency. Role of *Helicobacter pylori* gastritis. JAMA 1997;277:1135-1139.
10. Milman N, Rosenstock S, Andersen L, Jorgensen T, Bonnevie O. Serum ferritin, hemoglobin, and *Helicobacter pylori* infection: a seroepidemiologic survey comprising 2794 Danish adults. Gastroenterology 1998;115:269-274.
11. Annibale B, Capurso G, Lahner E et al. Concomitant alterations in intragastric pH and ascorbic acid concentration in patients with *Helicobacter pylori* gastritis and associated iron deficiency anaemia. Gut. 2003;52(4):496-501.
12. Husson MO, Legrand D, Spik G, Leclerc H. Iron acquisition by *Helicobacter pylori*: importance of human lactoferrin. Infect Immunol 1993;61: 694-2697.
13. Barabino A. *Helicobacter pylori*-related iron deficiency anemia: a review. Helicobacter 2002;7: 1-75.
14. Haghi-Ashtiani MT, Monajemzadeh M, Motamed F et al. Anemia in children with and without *Helicobacter pylori* infection. Arch Med Res 2008;39(5):536-540.
15. Kaya AD, Gencay E, Ozturk CE, Yavuz T. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in children in northwest region of Turkey: relationship with iron deficiency anemia. J Trop Pediatr 2008;54:353-354.
16. Choi JW. Does *Helicobacter pylori* infection relate to iron deficiency anemia in prepubescent children under 12 years of age? Acta Paediatr 2003;92:970-972.

17. Choe YH, Lee JE, Kim SK. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on sideropenic refractory anaemia in adolescent girls with *Helicobacter pylori* infection. *Acta Pediatr* 2000;89:154-157.
18. Konno M, Muraoka S, Takahashi M, Imai T. Iron-deficiency anemia associated with *Helicobacter pylori* gastritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;31:52-56.
19. Ashorn M, Ruuska T, Makiperna A. *Helicobacter pylori* and iron deficiency anaemia in children. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:701-705.
20. Bini EJ, Micale PJ, Weinshel EH. Evaluation of the gastrointestinal tract in premenopausal women with iron deficiency anemia. *Am J Med* 1998;105:281-286.
21. DuBois S, Kearney DJ. Iron-deficiency and *Helicobacter pylori* infection: a review of the evidence. *Am J Gastroenterol* 2005; 100(2):453-459.
22. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis – The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20(10):1161-1181.
23. Peach HG, Bath NE, Farish SJ. *Helicobacter pylori* infection: an added stressor on iron status of women in the community. *Med J Aust* 1998;168:188-190.
24. Parkinson AJ, Gold BD, Bulkow L et al. High prevalence of *Helicobacter pylori* in the Alaska native population and association with low serum ferritin in young adults. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:885-888.
25. Barabino A, Dufour C, Marino CE, Claudiani F, De Alessandri A. Unexplained refractory anemia associated with *Helicobacter pylori* gastric infection in children: further clinical evidence. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:116-119.

26. Schubert ML. Gastric secretion. *Curr Opin Gastroenterol* 2007;23: 595-601.
27. Pellicano R, Rizzetto M. Is hepcidin the bridge linking *Helicobacter pylori* and anemia of chronic infection? A research proposal. *Pannminerva Med* 2004;46:165-169.
28. Choe Y, Oh Y, Lee N, Imoto I, Adachi Y, Toyoda N, Gabazza EC. Lactoferrin sequestration and its contribution to iron-deficiency anemia in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:980-985.
29. Ciacchi C, Sabbatini F, Cavallaro R et al. *Helicobacter pylori* iron absorption in infected individuals. *Dig Liver Dis* 2004;36:455-460.
30. Santos IS, Boccio J, Davidsson L et al. *Helicobacter pylori* is not associated with anaemia in Latin America: results from Argentina, Brazil, Bolivia, Cuba, Mexico and Venezuela. *Public Health Nutr* 2009; Mar 4:1-9.
31. Censini S, Lange C, Xiang Z et al. Cag, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(25): 14648-14653.
32. Ladeira MS, Rodrigues MA, Salvadori DM et al. Relationship between cagA, vacA, and iceA genotypes of *Helicobacter pylori* and DNA damage in the gastric mucosa. *Environ Mol Mutagen* 2004;44(2):91-98.
33. Yokota S, Konno M, Mino E, Sato K, Takahashi M, Fujii N. Enhanced Fe ion-uptake activity in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with iron-deficiency anemia. *Clin Infect Dis* 2008; 46(4):e31-33.
34. Choi JW. Serum-soluble transferrin receptor concentrations in *Helicobacter pylori*-associated iron-deficiency anemia. *Ann Hematol* 2006;85(10):735-737.

35. Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ, Bridges K, Platt O. Reticulocyte hemoglobin content (CHr): early indicator of iron deficiency and response to therapy. *Blood* 1994;83:3100-3101.
36. Thomas C, Thomas L. Anemia of chronic disease: pathophysiology and laboratory diagnosis. *Lab Hematol* 2005;11:14-23.
37. Schubert MT, Peura DA. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology* 2008;134:1842-1860.
38. Jensen RT. Gastrointestinal abnormalities and involvement in systemic mastocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2000; 14:579-623.
39. Dent RI, James JH, Want CA, Deftos LJ, Talano R, Fischer JE. Hyperparathyroidism: gastric acid secretion and gastrin. *Ann Surg* 1972;176(3):360-369.
40. Hung PD, Schubert ML, Mihas AA. Zollinger-Ellison Syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterology* 2003;6(2):163-170.
41. Jensen RT, Niederle B, Mitry E et al. Gastrinoma (duodenal and pancreatic). *Neuroendocrinology* 2006; 84(3):173-182.
42. Perez-Paramo M, Albillos A, Calleja JL et al. Changes in gastrin and serum pepsinogens in monitoring of *Helicobacter pylori* response to therapy. *Dig Dis Sci* 1997;42(8):1734-1740.
43. Conrad ME, Shade SG. Ascorbic acid chelates in iron absorption: a role for hydrochloridric acid and bile. *Gastroenterology* 1968;55:35-45.
44. Dickey W. Iron deficiency, gastric atrophy and *Helicobacter pylori*. *Dig Liver Dis* 2002;34: 313-315.

Table 1: Hematological and biochemical parameters of the patients separated into *H. pylori*-positive and *H. pylori*-negative groups. Median (minimum-maximum).

	Positive (n=75)	Negative (n=50)	p value
Age	45.00 21.00 – 77.00	45.50 18.00- 83.00	0.2730
Hb (g/dL)	14.30 10.60 – 17.10	14.25 9.00 – 18.05	0.6483
PLT (x10 ³ /μL)	231.50 90.50 – 586.00	248.5 46.50- 356.50	0.8011
CHr (pg)	35.46 23.70 – 39.60	34.13 20.29 – 41.26	0.0608
SI (μg/dL)	83.00 20.00 – 181.00	83.00 19.00 – 193.00	0.9057
SFμg/L)	105.90 4.39 – 771.10	105.60 3.34 – 931.40	0.7855
CRP (mg/dL)	0.28 0.00 – 2.74	0.34 0.00 – 3.52	0.2600
Gastrin (pg/mL)	64.20 15.10 – 4238.00	34.10 12.30 – 2864.00	0.0246
B12 (pg/mL)	502.60 233.00 – 7840.00	551.35 167.10 – 1196.00	0.8541
IgG (U/mL)	3.40 0.30 – 8.10	0.46 0.30 – 5.30	< 0.0001

Hb= hemoglobin, PLT= platelet count, CHr= reticulocyte hemoglobin content, SI= serum iron, SF= serum ferritin, CRP= C-reactive protein, B12= vitamin B12. Significant values are shown in bold.

Table 2: Correlation between parameters for erythropoiesis, inflammatory activity and serum gastrin levels in patients with and without *H. pylori* infection.

	<i>H. pylori</i> positive (n= 75)		<i>H. pylori</i> negative (n= 50)	
	Correlation coefficient (r)	<i>p</i> value	Correlation coefficient (r)	<i>p</i> value
CRP x Hb	-0.1607	0.1686	-0.1993	0.1652
CRP x CHr	-0.2642	0.0219	-0.0913	0.5281
CRP x Ferr	-0.0154	0.6990	0.0464	0.7487
CRP x Gastrin	0.1906	0.1013	0.1606	0.2652
Hb X PLT	-0.4068	0.0003	0.0506	0.7273
Hb x CHr	0.3485	0.0022	0.5642	< 0.0001
Hb x SF	0.2327	0.0444	0.1959	0.1728
Hb x Gastrin	-0.2475	0.3220	-0.2471	0.0835
PLT x SF	-0.3475	0.0022	0.0307	0.8322
PLT x Gastrin	0.3047	0.0078	0.0727	0.6159
CHr x SF	0.1925	0.0980	0.3239	0.0217
CHr x Gastrin	-0.2990	0.0091	-0.2552	0.0735
SF x Gastrin	-0.3007	0.0087	-0.0846	0.5591

r: Spearman coefficient; CRP: C-reactive protein; Hb: hemoglobin; CHr: reticulocyte hemoglobin content; PLT: platelets; SF: serum ferritin.

Table 3: Hematological and biochemical parameters for patients with gastritis divided according to the severity of the gastritis (n=100). Median (minimum-maximum).

	Severe/Moderate	Mild	p value
Age	45.00 22.00 – 70.00	46.00 19.00 – 77.00	0.9270
Hb (g/dL)	14.25 10.60 – 18.05	14.15 9.00 – 17.10	0.8795
PLT (x10 ³ /μL)	231.50 164.50 – 586.00	236.25 46.50 – 468.50	0.8657
CHr (pg)	35.39 23.70 – 39.60	34.90 20.29 – 41.26	0.6672
SI (μg/dL)	84.00 20.00 – 181.00	84.00 19.00 – 193.00	0.8851
SF(μg/L)	105.90 4.39 – 486.00	131.70 3.34 – 931.40	0.3503
CRP (mg/dL)	0.20 0.00 – 2.74	0.28 0.00 – 2.70	0.3612
Gastrin (pg/mL)	67.70 17.90 – 4182.00	58.35 12.30 – 4238.00	0.1971
IgG (U/mL)	4.40 0.30 – 8.10	0.95 0.30 – 8.10	< 0.0001
B12 (pg/mL)	502.60 258.40 – 1063.00	543.30 226.60 – 7840.00	0.7245

Hb= hemoglobin, PLT= platelet count, CHr= reticulocyte hemoglobin content, SI= serum iron, SF= serum ferritin, CRP= C-reactive protein, B12= vitamin B12.