IVANNA BESERRA SANTOS

**Contagem de eosinófilos na segunda porção
duodenal em pacientes com dispepsia funcional**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Ciência em Gastroenterologia

Orientador:: Prof. Dr. Tomás Navarro Rodriguez

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Santos, Ivanna Beserra

Contagem de eosinófilos na segunda porção duodenal
em pacientes com dispepsia funcional / Ivanna
Beserra Santos. -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientador: Tomás Navarro Rodriguez.

Descritores: 1.Dispepsia 2.Duodeno 3.Eosinófilos
4.Proteína básica maior de eosinófilos 5.Imuno-
histoquímica 6.Degranulação celular 7.Refluxo
gastroesofágico

USP/FM/DBD-297/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

***“Se quiser ir rápido, vá sozinho. Se quiser ir longe,
vá acompanhado”***

Provérbio africano

A Lauro e Iolanda

AGRADECIMENTOS

A Deus, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir em frente.

Aos meus pais, Lauro e Iolanda, cujo amor e apoio incondicional me trouxeram até este dia, que me ensinaram a agir com respeito e dignidade e a me desafiar para buscar a minha melhor versão. Graças a vocês, os obstáculos foram menores. Agradeço a paciência e compreensão com minha ausência durante esse período. Essa conquista também é de vocês.

A minha irmã Isabele, que serviu muitas vezes de orientadora, a quem recorria sobre dúvidas em metodologia e revisou meus primeiros rascunhos, quando esta tese não passava de projeto, cujos conselhos equilibraram as emoções, quando tudo parecia não dar certo. Este trabalho também é teu!

A minha irmã Ianne, cuja força e dedicação diária me mostram que não há obstáculos que não possam ser vencidos.

Às crianças da família: Camila, Carolina, Júlia e Pedro que trazem doçuras e travessuras ao meu dia a dia.

Aos familiares, em especial tia Didi que sempre esteve na torcida desde o vestibular e vibra a cada conquista minha, a quem recorria para uns bons conselhos sempre que necessário.

Ao meu quarteto: Yanna, Bianca e Vanessa, com quem divido as melhores histórias, que estiveram juntas desde a faculdade até este dia e cujo apoio incondicional e disponibilidade, mesmo estando longe, foram indispensáveis para esta conquista.

A minha família paulistana: Elry, Gauss, Tarciana, Rosana, Letícia, Maria Júlia, Thiago, Aedra, Marina, Ana Luisa e Gláucia, que sempre me ofereceram conselhos, apoio e até abrigo durante esse período.

Aos amigos da residência de gastroenterologia, em especial Natalia Freitas, que tanto me incentivou no início de tudo e Marcela Terra que era um ombro e ouvido amigo constantes nas idas e vindas a São Paulo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Tomas Navarro, pela orientação, incentivo e compreensão, especialmente após meu retorno para a Paraíba.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Ricardo Barbuti, que sempre foi uma referência para mim, cujas críticas contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Nicholas Talley e Dra. Marjorie Walker, que tive oportunidade de conhecer e que tanto contribuíram para este trabalho e que, apesar de sua importância acadêmica, sempre se mostraram acessíveis e disponíveis.

A todos os funcionários do departamento de Patologia, em especial Dra. Roseli Patzina e Dra. Alda Wakamatsu, que foram responsáveis por parte primordial do trabalho.

A todos os funcionários do departamento de Gastroenterologia, em especial Christiane Haro e Meire Silva, pela disponibilidade e gentileza na realização de seus trabalhos, bem como ajuda na captação dos pacientes.

Aos pacientes, que foram fundamentais para a realização desta tese.

Muito obrigada!

NORMATIZAÇÃO

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Símbolos e Siglas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Definição de dispepsia funcional	2
1.2 Aspectos epidemiológicos	5
1.3 Fisiopatologia da doença	8
1.4 Relação dispepsia funcional X eosinófilos	15
1.5 Relação eosinofilia X atopia.....	18
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral.....	23
2.2 Objetivos específicos	23
3 METODOLOGIA	24
3.1 Casuística.....	25
3.1.1 Seleção dos pacientes e dos controles	25
3.1.2 Critérios de inclusão	26
3.1.3 Critérios de exclusão	27
3.2 Amostragem	27
3.3 Diagnóstico da dispepsia funcional	28
3.4 Avaliação imuno-histoquímica	29
3.5 Avaliação de atopia	31
3.6 Análise estatística	32
4 RESULTADOS	34
5 DISCUSSÃO	54
6 CONCLUSÕES	65
7 REFERÊNCIAS	68
8 ANEXOS	84

LISTAS

FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma dos pacientes incluídos no estudo	36
Figura 2 -	Eosinófilos em lâmina própria em paciente com dispepsia funcional (HE – 400X)	39
Figura 3 -	Imuno-histoquímica com proteína básica maior, mostrando eosinófilos na lâmina própria (200 e 400X)	40
Figura 4 -	Distribuição de eosinófilos na segunda porção duodenal nos grupos DF e DRGE	43
Figura 5 -	Distribuição de eosinófilos IH 2porção/5CGA segundo os grupos DRGE, DF e controle	43
Figura 6 -	Abordagem gráfica de Band-Altman para avaliação da concordância entre as diferentes medidas de eosinófilos.....	52

TABELAS

Tabela 1 -	Características demográficas e clínicas dos pacientes incluindo frequência absoluta, relativa, intervalo de confiança de 95% (IC95%) e nível descritivo	37
Tabela 2 -	Características demográficas e clínicas dos pacientes incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo	38
Tabela 3 -	Teste de normalidade para avaliar a distribuição estatística dos diferentes desfechos incluindo média, desvio-padrão e nível descritivo.....	41
Tabela 4 -	Distribuição dos eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com os grupos DRGE, DF e controle.....	42
Tabela 5 -	Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com o subgrupo DF.....	44
Tabela 6 -	Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com grupo controle e com queixa dispéptica	45
Tabela 7 -	Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a história de atopia estratificada por grupo DRGE, DF e controle	46
Tabela 8 -	Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a história de tabagismo estratificada por grupo DRGE, DF e controle	48

Tabela 9 -	Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a infecção por <i>H. Pylori</i> estratificada por grupo DRGE, DF e controle	49
Tabela 10 -	Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a presença de duodenite	50
Tabela 11 -	Correlação entre contagem de eosinófilos e sintomas de indigestão, pirose, regurgitação e náuseas.....	51
Tabela 12 -	Critérios Roma III X Roma IV para subgrupos de dispepsia funcional	55

SÍMBOLOS E SIGLAS

£:	Libra
DAP:	Divisão de Anatomia Patológica
DF:	Dispepsia Funcional
DRGE:	Doença do Refluxo Gastroesofágico
EIE:	Esfíncter inferior do esôfago
eos2porção/5:	Contagem de eosinófilos em cinco campos de grande aumento na segunda porção duodenal
eosbulbo/5:	Contagem de eosinófilos em cinco campos de grande aumento em bulbo duodenal
<i>H. pylori:</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HCFMUSP:	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo
HE:	Hematoxilina-eosina
IH:	Imuno-histoquímica
IMC:	Índice de massa corpórea
ISAAC:	<i>International Study of Asthma and Allergies in Childhood</i>
NNT:	<i>Number needed to treat</i>
SDE:	Síndrome da dor epigástrica
SDPP:	Síndrome do desconforto pós-prandial
SPECT:	Tomografia computadorizada de emissão de fóton único
TCLE:	Termo de consentimento livre e esclarecido
US\$:	Dólares

RESUMO

Santos IB. *Contagem de eosinófilos na segunda porção duodenal em pacientes com dispepsia funcional* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Introdução: Dispepsia funcional (DF) é uma doença comum que acomete 20 a 40% da população dos países desenvolvidos. Estudos atuais identificaram alterações estruturais nesses pacientes como infiltração de eosinófilos no duodeno, o que aponta para um provável marcador diagnóstico da doença. Este estudo teve como objetivo a avaliação da contagem de eosinófilos na segunda porção duodenal, bem como seus produtos de degradação, em pacientes com DF. **Metodologia:** Foram incluídos no estudo 67 pacientes (24 com doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), 23 com DF e 12 controles). Todos os pacientes foram submetidos à endoscopia digestiva alta com fragmentos de biópsia obtidos do bulbo e segunda porção duodenal. A contagem de eosinófilos e de seus produtos de degranulação nesses segmentos foram avaliados quantitativamente em cinco campos aleatórios de grande aumento após coloração com hematoxilina-eosina e reação imuno-histoquímica utilizando anticorpo antiproteína básica maior. **Resultados:** Não houve um aumento estatisticamente significativo na contagem dos eosinófilos no bulbo ou segunda porção duodenal no grupo com dispepsia funcional quando comparado aos controles. Pela avaliação imuno-histoquímica, a segunda porção duodenal mostrou maior degranulação em DF versus DRGE ($p = 0,015$), mas sem diferença estatística entre DF e controles ($p = 0,711$). Os tabagistas apresentaram maior infiltração de eosinófilos na segunda porção duodenal quando comparados aos não tabagistas ($p = 0,02$). Quanto à infecção pelo *Helicobacter pylori*, pacientes não infectados e com diagnóstico de DF tiveram maior contagem de eosinófilos no bulbo e segunda porção duodenal ($p = 0,041$ e $p = 0,006$, respectivamente). **Conclusão:** Não houve associação do aumento de eosinófilos na segunda porção duodenal com dispepsia funcional após avaliação de cortes histológicos corados com hematoxilina-eosina e imuno-histoquímica com proteína básica maior quando comparados a controles assintomáticos, porém houve diferença na avaliação imuno-histoquímica entre DF e DRGE.

Descritores: Dispepsia; Duodeno; Eosinófilos; Proteína básica maior de eosinófilos; Imuno-histoquímica; Degranulação celular; Refluxo gastroesofágico.

ABSTRACT

Santos IB. *Duodenal eosinophilia in adult patients with functional dyspepsia* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2019.

Introduction: Functional dyspepsia (FD) is a common disease that affects 20-40% of the population in developed countries. Current studies have identified structural alterations in these patients such as infiltration of eosinophils in the duodenum, which points to a probable diagnostic marker of the disease. This study aimed to examine the counts and degranulation of duodenal eosinophils in FD patients. **Methodology:** Sixty-seven patients (24 with gastroesophageal reflux disease (GERD), 26 with FD and 17 controls) were included. Biopsy specimens were collected from the duodenal bulb (D1) and the second portion of the duodenum (D2) of all participants. Eosinophil counts and degranulation at both sites were quantitatively evaluated by hematoxylin and eosin staining and major basic protein immunostaining. **Results:** There was no statistically significant increase in the eosinophil count by either method in the FD group when compared to controls. Immunostaining with major basic protein antibodies in D2 biopsy specimens revealed eosinophil degranulation in FD versus GERD ($p = 0.015$), but between the FD and control groups, there was no significant difference ($p = 0.711$). A greater infiltration of eosinophils was observed in the second duodenal portion in smokers compared to that in nonsmokers ($p = 0.02$). Regarding *Helicobacter pylori* infection, uninfected individuals has a higher duodenal eosinophil count in the FD group in D1 and D2 ($p = 0.041$ and $p = 0.006$, respectively). **Conclusion:** There was no association of eosinophil increases in the second portion of the duodenum in patients with functional dyspepsia after evaluation of histological sections stained with hematoxylin-eosin and immunohistochemistry for major basic protein when compared to healthy controls, but there was a difference between the FD and GERD groups by immunochemistry evaluation.

Descriptors: Dyspepsia; Duodenum; Eosinophils; Eosinophil major basic protein; Immunohistochemistry; Cell degranulation; Gastroesophageal reflux.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Definição de dispepsia funcional

O termo dispepsia se origina das palavras gregas *dys* e *pepsis* que significam indigestão. É o termo médico que contempla um grupo heterogêneo de sintomas localizados no andar superior do abdome, como dor epigástrica, pirose, desconforto pós-prandial e empachamento ^(1, 2). Essa desordem pode ser classificada em duas categorias: orgânica, quando há alteração estrutural ou metabólica que explicam os sintomas, e funcional, na ausência dessas alterações ^(2, 3).

Dentre as causas orgânicas, destacam-se doença ulcerosa péptica, neoplasias esofágica e gástrica e doenças do trato biliar. Dispepsia também é uma queixa comum em doenças infectoparasitárias (giardíase, strongiloidíase, tuberculose), inflamatórias (Doença de Crohn, sarcoidose, gastrite linfocítica e gastroenterite eosinofílica) e infiltrativas (linfoma, amiloidose, Menetrier) ⁽²⁾.

Os sintomas dispépticos ainda podem ser provocados por medicamentos como suplementos de ferro, antibióticos, narcóticos, digitálicos, estrógenos, contraceptivos orais, anti-inflamatórios, teofilina, levodopa, entre outros ⁽²⁾.

As doenças funcionais são caracterizadas pela cronicidade e benignidade. Com o intuito de defini-las, foram criados os critérios de Roma em 1998, após reunião da Associação Americana de Gastroenterologia e do Comitê do Congresso Internacional de Gastroenterologia, realizada na cidade de Roma. Subsequentemente, o sistema de classificação Roma II foi elaborado em 1999, seguido pelo Roma III em 2006 e Roma IV em 2016 ^(4, 5).

Outros distúrbios gastroduodenais funcionais além da dispepsia funcional são: distúrbios da eructação, distúrbios como náusea e vômito e a síndrome da ruminação em adultos ⁽⁶⁾.

Embora possa haver sobreposição de doenças funcionais, a associação de dispepsia funcional com síndrome do intestino irritável é a mais estudada. Xiong e cols. (2014) demonstraram uma associação de distúrbios funcionais em 50,3% dos pacientes avaliados por meio da aplicação de questionários de Roma ⁽⁷⁾. Observa-se também a associação de dispepsia funcional com outras doenças funcionais como fibromialgia, bexiga hiperativa e dor pélvica crônica ⁽⁸⁾.

De acordo com os critérios de Roma IV, o diagnóstico de dispepsia funcional é feito na presença de um ou mais sintomas: sensação incômoda de empachamento pós-prandial, saciedade precoce, dor epigástrica e queimação epigástrica, associados à ausência de alteração estrutural, incluindo endoscopia digestiva alta, que explique os sintomas. Estes não são aliviados com a defecação ou flatulência e não preenchem os critérios para os distúrbios da vesícula biliar ou do esfíncter de Oddi. O paciente avaliado deve apresentar ultrassonografia de abdome com resultado normal e, no Brasil, parasitológico de fezes negativo, uma vez que doenças das vias biliares e parasitose podem simular as queixas do doente. Esses critérios clínicos devem estar presentes nos últimos três meses, com início pelo menos seis meses antes do diagnóstico ^(4, 9).

Mais especificamente, os sintomas podem ser definidos da seguinte forma: (1) plenitude pós-prandial é a sensação incômoda da persistência de alimentos no estômago; (2) saciedade precoce é a sensação de estômago cheio após o início da refeição, desproporcionalmente ao tamanho da mesma, o que impede seu término; (3) dor epigástrica é a queixa álgica em região epigástrica, localizada entre o umbigo e a porção distal do esterno, entre as duas linhas medioclaviculares; (4) queimação epigástrica é a sensação de queimação em região epigástrica ⁽¹⁰⁾.

A dispepsia funcional é dividida, de acordo com os sintomas prevalentes, em dois subgrupos: síndrome do desconforto pós-prandial e síndrome da dor epigástrica, que contribui para o melhor manejo terapêutico da doença. Porém esses dois subgrupos podem coexistir ⁽³⁾.

A síndrome do desconforto pós-prandial (SDPP) é diagnosticada na presença de um dos seguintes critérios, pelo menos três vezes por semana: sensação incômoda de desconforto pós-prandial severa que impacta nas atividades usuais e saciedade precoce que impede o término de uma refeição de tamanho normal. Os critérios complementares são empachamento/abaulamento em abdome superior, náusea pós-prandial e eructação excessiva ⁽⁴⁾.

O diagnóstico da síndrome da dor epigástrica (SDE) é feito pela presença de todos os critérios a seguir, pelo menos uma vez por semana: dor ou queimação localizada no epigástrio com intensidade moderada, que impacta nas atividades usuais. Os critérios secundários são a relação do sintoma com a alimentação, podendo ser induzida ou aliviada pelas refeições, porém pode ocorrer em jejum. Podem estar presentes empachamento/abaulamento em abdome superior, náusea pós-prandial e eructação ⁽⁴⁾.

Zagari e cols (2010) demonstraram, em estudo multicêntrico italiano, que 67,5% dos pacientes com dispepsia funcional tinham diagnóstico de desconforto pós-prandial, 48,2% apresentavam síndrome da dor epigástrica e 15,8% exibiam associação dos dois subgrupos, após realização de questionário validado, endoscopia digestiva alta e teste respiratório para pesquisa de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ⁽¹¹⁾.

Fang e cols (2015) propuseram avaliar fatores de risco para os dois subgrupos de dispepsia funcional na população chinesa e observaram que, tanto SDPP e SDE compartilhavam os seguintes fatores de risco: idade jovem, uso de anti-inflamatório não esteroide, ansiedade e diagnóstico concomitante de síndrome do intestino irritável. A presença de *H. pylori*, ser solteiro, menor consumo de café, estresse, distúrbios do sono e depressão

foram associados à SDPP. A associação com infecção por *H. pylori* foi atribuída à atrofia gástrica severa no antro, com maior prevalência de cepas CagA positivas ⁽¹²⁾.

1.2 Aspectos epidemiológicos

A dispepsia funcional é um problema comum no mundo, que acomete cerca de 20 a 40% da população adulta dos países desenvolvidos ⁽¹³⁾, com a prevalência global entre 2-11% ⁽¹⁴⁾. Porém, estima-se que apenas um quarto desses pacientes procure assistência médica ⁽¹⁵⁾, fato influenciado pela maior frequência e/ou intensidade dos sintomas e pelo aumento da idade dos pacientes ⁽¹⁶⁾.

A prevalência da doença é maior em mulheres, fumantes e usuários de anti-inflamatórios não esteroidais. A obesidade é incomum entre os pacientes ^(17, 18).

A incidência estimada de dispepsia funcional é de 4-5% em período de 10 anos, com taxa similar de resolução, de forma espontânea ou remissão induzida por terapia ⁽⁸⁾.

A análise sistemática de casos demonstrou a prevalência de dispepsia funcional, após endoscopia digestiva alta, de 12-15%, enquanto a incidência de dispepsia foi de 2,8% ao ano. A história natural da doença não está bem caracterizada, dados disponíveis sugerem que aproximadamente 50% dos pacientes permanecem sintomáticos após seguimento de cinco anos ^(19, 20, 21).

Piessevaux e cols (2009) observaram, em estudo Belga, que a prevalência de sintomas dispépticos aumentava com a idade sendo de 7,7% entre 15 e 17 anos, 17,6% de 18 a 24 anos, 18,3% entre 25 e 34 anos, 19,7% dos 35 aos 44 anos, 22,8% entre 45 e 54 anos, 23,7% entre 55 e 64 anos, e 24.4% nos pacientes com idade superior a 65 anos. Outras variáveis

demográficas como nível social e grau de urbanização não tiveram influência ⁽²²⁾.

No Brasil, Oliveira e cols. (2006), relataram, em estudo transversal realizado em Pelotas (RS) com 3.934 pacientes, a prevalência de 15,9% de dispepsia, definida como episódio de dor ou desconforto no andar superior do abdome no último ano do estudo, e 7,5% de dispepsia frequente, quando a queixa ocorria mais de seis vezes nesse período, utilizando os critérios de Roma II ⁽²³⁾.

Um estudo prospectivo e observacional, realizado com 282 pacientes na cidade de São Paulo, demonstrou a prevalência de dispepsia funcional em 66% dos pacientes com dispepsia não investigada, de acordo com os critérios de Roma III ⁽²⁴⁾.

Uma revisão sistemática demonstrou que dispepsia funcional é a causa de 26-70% das consultas médicas, a partir de estudos desenvolvidos no Reino Unido, Estados Unidos, China e Austrália. Em estudos realizados na Austrália e Reino Unido, o principal objetivo da consulta seria descartar doenças fatais como causa dos sintomas ⁽²⁵⁾.

A dispepsia funcional aumenta os custos diretos e indiretos com a saúde, devido às frequentes consultas médicas e medicamentos prescritos, além de ser causa de absenteísmo e queda da produtividade nos empregos ^(13, 26).

Os custos relacionados à investigação e tratamento da dispepsia aumentam a cada ano, contudo os recursos disponibilizados pelos governos são limitados. Para os governos, o custo advém da perda de produtividade provocada pela doença. Para os pacientes acometidos, do prejuízo nos ganhos, perda de tempo de lazer e gastos com viagens para tratamento, exames complementares e medicamentos para controle dos sintomas ⁽²⁷⁾.

Um estudo retrospectivo realizado nos Estados Unidos, cujos dados foram extraídos das reivindicações do seguro-saúde de trabalhadores, demonstrou que os pacientes com dispepsia funcional tiveram maior número de consultas médicas e custos com prescrição de medicamentos, além de

despesas indiretas devido a licenças e afastamentos por doença. O estudo mostrou ainda que os trabalhadores doentes tiveram um custo de US\$5.138 dólares maior que os controles saudáveis, bem como apresentaram uma ausência adicional de 0,83 dias por ano e produziram 12% menos unidades por hora ⁽¹³⁾.

Para avaliar o impacto econômico e os custos da dispepsia na comunidade do Reino Unido, foram utilizados dados do estudo Leeds UK HELP (*Helicobacter pylori eradication in general practice*) que demonstraram custo de £ 21 por pessoa por ano devido à dispepsia. Se essa condição fosse representativa para a população total, a dispepsia custaria cerca de £ 1 bilhão por ano ao Reino Unido. Para estabelecer os custos ao serviço de saúde, foram avaliados custos com consultas médicas, exames endoscópicos e medicamentos para a dispepsia, com gasto de £ 11,25 por pessoa por ano, perfazendo um custo total para os serviços de saúde de £ 500 milhões ao ano. A dispepsia é um enorme fardo econômico, sendo requeridas boas estratégias de gestão em saúde para melhor atendimento da população acometida ⁽²⁷⁾.

Custos com medicamentos para dispepsia totalizaram 7% de todos os prescritos na rede primária de assistência do Reino Unido em 2004 ⁽²⁶⁾. Na Suécia, 1,9% dos atestados médicos de 1997 foram emitidos devido à dispepsia, com prejuízo de cerca de 144 milhões de dólares ⁽²⁸⁾. Nos Estados Unidos, estima-se que 5% das consultas médicas sejam realizadas devido a queixas dispépticas, com gasto médio de um bilhão de dólares por ano ⁽²⁹⁾.

Um estudo brasileiro, realizado no Rio Grande do Sul, avaliou 850 pacientes com dispepsia não investigada com aplicação de questionário de produtividade e atividade no trabalho. Entre os trabalhadores avaliados, 32,2% faltaram ao trabalho na última semana devido a queixas dispépticas, com queda na produtividade total de 35,7%. O prejuízo na produtividade total (absenteísmo e queda de produtividade) custou cerca de US\$ 3.570 por ano ou US\$ 297,50 mensais por empregado com dispepsia. O custo do

absenteísmo foi de US\$ 20,97 mensais e da queda de produtividade de US\$ 276,52 mensais ⁽²⁶⁾.

A dispepsia funcional também tem impacto importante na qualidade de vida dos pacientes, com queda do bem-estar geral psicológico comparável ao observado em pacientes com insuficiência cardíaca leve e mulheres no climatério ⁽²⁷⁾. A doença também está associada a distúrbios do sono, especialmente naqueles com sintomas mais graves e altos níveis de ansiedade ⁽³⁰⁾.

1.3 Fisiopatologia da doença

A fisiopatologia da dispepsia funcional ainda é incerta, porém múltiplos fatores são implicados na mesma, como susceptibilidade genética, alterações de motilidade, hipersensibilidade visceral, infecções agudas ou crônicas, fatores psicossociais, hormonais e imunes ^(5, 31).

A susceptibilidade genética foi estudada por Holtmann e cols. (2004) em população alemã, o estudo sugeriu uma relação de dispepsia funcional com presença de polimorfismo na posição 825 do gene beta-3 da proteína G, em pacientes com genótipo CC [GN β 3 (C825T)]. Evidências apontam que o *status* desse polimorfismo está relacionado à depressão, aumento de resposta imune e alteração na ativação do α 2 adrenoreceptores, o que poderia levar à anormalidade na função sensorial e na motilidade, como observado nos pacientes com dispepsia funcional ⁽³²⁾.

Porém, estudos mostraram que o polimorfismo [GN β 3 (C825T)] varia com a raça e região geográfica. Entre pacientes com dispepsia funcional, houve prevalência do genótipo CC na Alemanha, TT no Japão e CT nos Estados Unidos, o que poderia explicar as diferenças regionais na incidência da doença. Dessa forma, novos estudos são necessários para avaliar a relevância clínica da presença desse polimorfismo e sua relação com a fisiopatologia da dispepsia funcional ^(5, 31, 32).

Distúrbios de motilidade são descritos em 20-40% dos pacientes com dispepsia funcional e incluem retardo no esvaziamento gástrico, alterações de contratilidade e de acomodação gástrica^(31, 33, 34).

A motilidade gástrica pós-prandial ocorre em duas fases: acomodação gástrica reflexa que advém do fundo gástrico após a ingesta alimentar, seguida da distensão gástrica distal⁽⁵⁾.

A acomodação gástrica é reflexo mediado pelo nervo vago, em resposta à refeição, que provoca redução do tônus gástrico e permite aumentos do volume intragástrico sem incremento proporcional da pressão intragástrica. Estudos realizados com barostato, cintilografia gástrica, ultrassonografia, tomografia computadorizada com emissão de fóton único (SPECT) e exames indiretos para avaliação de saciedade sugeriram alteração de acomodação gástrica em mais de 40% dos pacientes com dispepsia funcional. Porém, o mecanismo que provocou essa alteração permanece desconhecido⁽³¹⁾.

Outros distúrbios motores relatados são contração anormal do fundo gástrico, dismotilidade antroduodenal e anormalidade mioelétrica do estômago, porém sua relevância na geração de sintomas ainda é incerta^(31, 34).

A hipersensibilidade visceral é a diminuição da percepção à distensão mecânica do estômago e pode ser observada em pacientes dispépticos, como demonstrado por Lemmann e cols (1991), que avaliaram a queixa de dor provocada por insuflação de um balão colocado no estômago e relataram que o volume, que provocava dor nos pacientes com dispepsia funcional, era significativamente menor que aquele observado no grupo controle⁽³⁵⁾.

A hipersensibilidade visceral também pode ocorrer ao mínimo estímulo nocivo, como acidificação duodenal. Estudos sugerem que isso é decorrente de uma alteração do sistema nervoso central associado com a hiperexcitabilidade dos nervos aferentes periféricos. Esses achados não

necessariamente estão presentes em pacientes com dispepsia funcional e muitos indivíduos saudáveis também as apresentam ^(31, 34).

Simrén e cols (2003) investigaram os efeitos do ácido clorídrico sobre a sensibilidade mecânica duodenal e a motilidade antroduodenal em indivíduos saudáveis antes e durante a infusão duodenal de ácido, que provocou supressão das contrações de antro e aumento do número de contrações do duodeno proximal. Os pesquisadores concluíram que a presença de ácido aumenta a sensibilidade mecânica no duodeno, afeta a função motora gastroduodenal e pode ser importante para os sintomas dispépticos ⁽³⁶⁾.

Infecções agudas e crônicas podem estar envolvidas na fisiopatologia da dispepsia funcional com destaque para a infecção pelo *H. pylori*. No Brasil, estima-se que precisamos erradicar a bactéria em cerca de oito pacientes para a melhora da sintomatologia dispéptica. Entretanto, estudos conduzidos no Hemisfério Norte relatam o NNT (*Number Needed to Treat*) bem maior, entre 12 e 17 pacientes ^(31, 34, 37, 38).

A infecção causada pelo *H. pylori* promove liberação de espécies reativas de oxigênio na mucosa gástrica provocando gastrite crônica, o que pode provocar distúrbios de motilidade, principalmente retardo no esvaziamento gástrico, devido à inativação das células intersticiais de Cajal e da óxido nítrico sintetase neuronal ⁽³⁹⁾.

Quando a infecção está localizada em antro, ocorre aumento da produção de ácido que, associada à hipersensibilidade duodenal, pode ser responsável por sintomas, como pirose e epigastria. Todavia, à medida que a infecção avança para o corpo gástrico, ocorre diminuição da secreção acidopéptica ⁽³⁹⁾.

A gastrite crônica decorrente da infecção pela bactéria também altera a função endócrina do estômago, diminuindo a produção de somatostatina e aumentando a produção de gastrina ⁽³⁹⁾.

A infecção pelo *H. pylori* provoca alterações inflamatórias da mucosa gástrica e duodenal, bem como alterações motoras e sensoriais

gastroduodenais, podendo ser considerada uma causa orgânica para a dispepsia. Em 2015, houve a publicação do consenso global de Kyoto sobre *H. pylori* que sugeriu separar a dispepsia relacionada à infecção pela bactéria da dispepsia funcional. Esta só seria considerada se houvesse persistência dos sintomas ou recorrência dos mesmos até seis a doze meses após a erradicação da bactéria ^(40, 41, 42).

A dispepsia pós-infecciosa foi reconhecida após a observação de que o desenvolvimento da mesma foi cinco vezes maior após infecção por *Salmonella spp*, quando comparada ao grupo controle, em um ano de acompanhamento ⁽⁴³⁾. Pacientes com dispepsia pós-infecciosa presumida têm como sintomas prevalentes: saciedade precoce, emagrecimento, náuseas e vômitos ⁽³¹⁾.

Um estudo de seguimento de pacientes, após episódio de gastroenterite bacteriana aguda, mostrou que os mesmos apresentaram aumento de aproximadamente 2,5 vezes do risco de desenvolver dispepsia funcional, sendo maior naqueles com quadro infeccioso severo e nos fumantes ⁽⁴⁴⁾.

Tack e cols (2002) realizaram um estudo retrospectivo, em pacientes com dispepsia pós-infecciosa, que demonstrou uma alteração predominante de acomodação gástrica, associada à disfunção dos neurônios gástricos nitrérgicos, sem mudança no esvaziamento gástrico ou da hipersensibilidade à distensão gástrica. Essas observações poderiam ter implicações terapêuticas como a falta de resposta às drogas que restauram o relaxamento gástrico através da ativação de uma via nitrérgica, como o sumatriptano. Porém com um provável benefício dos fármacos que agem diretamente na musculatura lisa gástrica como nitratos ou aqueles que atuam por meio da inibição da via colinérgica como clonidina e buspirona ⁽⁴⁵⁾.

A lesão pós-infecção parece ser influenciada pela natureza do agente infeccioso. A infecção por *Rotavírus* leva a um atraso no esvaziamento gástrico. *Giardia lamblia*, *Salmonella spp* e *Campylobacter jejuni* provocam tanto dispepsia funcional quanto síndrome do intestino irritável pós-

infecciosos. Já infecções confinadas ao cólon esquerdo, como a shigelose, são associadas, principalmente, à síndrome do intestino irritável ⁽⁴⁶⁾.

Ford e cols (2010) demonstraram que a prevalência de dispepsia após um surto de gastroenterite por espécies *Campylobacter* foi maior em mulheres, em portadores de síndrome do intestino irritável, ansiedade ou depressão, naqueles com duração da diarreia superior a sete dias e nos que apresentaram cólicas abdominais durante a doença ⁽⁴⁷⁾.

Dizdar e cols (2007) mostraram hipersensibilidade visceral com diminuição da capacidade de ingestão de líquidos e atraso no esvaziamento gástrico em pacientes com dispepsia funcional pós-infecção por *Giardia lamblia* ⁽⁴⁸⁾.

Em estudo retrospectivo, Gutiérrez e cols (2015) relataram que militares dos Estados Unidos tiveram aumento significativo do risco de sintomas de dispepsia funcional (três vezes), de doença do refluxo gastroesofágico (três vezes) e de síndrome do intestino irritável (seis vezes) após episódio de infecção por *Clostridium difficile*. Esses resultados apontam que essas três doenças podem surgir após um episódio infeccioso e podem se sobrepor ⁽⁴⁹⁾.

Novas pesquisas são necessárias para melhor compreensão da dispepsia pós-infecciosa, seus principais marcadores incluiriam alteração de acomodação gástrica, diminuição da tolerância dos volumes ingeridos e lesões inflamatórias na mucosa gástrica e/ou duodenal ⁽⁴⁶⁾.

O papel da microbiota na dispepsia funcional ainda é pouco estudado, porém uma investigação recente demonstrou predominância de bactérias do gênero *Streptococcus* na mucosa duodenal dos indivíduos avaliados. Observou-se abundância relativa de *Streptococcus spp* e de bactérias anaeróbias dos gêneros *Prevotella*, *Veillonella* e *Actinomyces* nos controles, mas que diminuíram significativamente em pacientes com dispepsia funcional. Novos estudos são necessários para observar o verdadeiro papel da microbiota na fisiopatologia da dispepsia funcional ⁽⁵⁰⁾.

O papel dos fatores dietéticos relacionados diretamente à ingestão de alimentos ou potencial intolerância alimentar pode ser importante na gênese dos sintomas ⁽⁵¹⁾. Em revisão sistemática, os alimentos considerados indutores de queixas dispépticas foram trigo, gordura, carboidratos fermentáveis e cafeína. Porém os mecanismos pelos quais esses alimentos causam sintomas devem ser investigados ⁽⁵²⁾.

Diferenças nas dietas dos indivíduos podem ter impacto na microbiota dos mesmos, modulando reações inflamatórias distintas que provocam a dispepsia funcional. Os costumes alimentares e as diferentes microbiotas explicariam as prevalências variáveis entre populações orientais e ocidentais ⁽⁵³⁾.

Fatores psicossociais também são citados na fisiopatologia da dispepsia funcional, incluindo somatização, depressão e ansiedade. Estes são influenciados ou influenciam a expressão dos sintomas gastrintestinais por meio do fluxo bidirecional do eixo cérebro-intestino ⁽³⁴⁾, fato corroborado pela alta taxa de resposta a placebo (35-40%) e terapia hipnótica ⁽⁵⁾.

Há pouca evidência que fatores psicossociais são causas diretas de dispepsia, contudo eles intensificam anormalidades fisiológicas e a percepção de sintomas ⁽³³⁾. Estudos experimentais demonstraram que ansiedade e raiva podem induzir hipersensibilidade e alteração na motilidade no esôfago e estômago ^(54, 55).

Hu e cols (2002) avaliaram o efeito da dispepsia funcional e síndrome do intestino irritável na depressão e/ou ansiedade coexistentes e sua importância na utilização de serviços de saúde na China. Ambas as doenças foram associadas à ansiedade, depressão, utilização dos serviços de saúde, afastamento de atividades laborativas por motivo de doença e apresentaram efeitos sobre a vida social dos pacientes. Porém, apenas o grau de ansiedade foi fator independente associado à procura por consultas médicas em ambos os grupos ⁽⁵⁶⁾.

Uma revisão sistemática tentou avaliar alteração na atividade cerebral através de estudos de neuroimagem de pacientes com dispepsia funcional.

Alterações foram relatadas no córtex frontal, córtex somatossensorial, ínsula, córtex cingulado anterior, tálamo, hipocampo e amígdala. Estas foram relacionadas com hipersensibilidade visceral, sintomas dispépticos, menor qualidade de vida, ansiedade e depressão. Esses resultados mostram que a dispepsia funcional pode estar associada a anormalidades funcionais nas áreas de modulação sensorial e de processamento homeostático, com participação dos eixos intestino-cérebro e cérebro-intestino na doença ⁽⁵⁷⁾.

Dentre os hormônios envolvidos, destaca-se a grelina, um hormônio orexígeno produzido pela mucosa oxíntica do estômago, que também participa da regulação da secreção de hormônio de crescimento, secreção ácida gástrica, motilidade intestinal e controle do peso. A expressão da grelina no estômago aumenta no jejum e diminui cerca de uma hora após as refeições, portanto seu nível plasmático diminui no período pós-prandial e é proporcional à quantidade de calorias ingeridas ^(58, 59).

Nos pacientes com dispepsia funcional com predomínio de síndrome do desconforto pós-prandial, observou-se uma diminuição dos níveis de grelina pré-prandial, sugerindo sua participação no esvaziamento gástrico desses pacientes ^(58, 59). Ejksjaer e cols (2010) reportaram melhora do esvaziamento gástrico em pacientes portadores de gastroparesia diabética com o uso do agonista de grelina TZP-101, o que demonstra sua possível aplicação clínica em distúrbios de motilidade gástrica ⁽⁶⁰⁾.

No entanto, a associação entre grelina e dispepsia funcional permanece controversa em alguns estudos. Assim são necessárias novas pesquisas para esclarecer a participação desse hormônio na gênese dos sintomas, especialmente nos pacientes com predomínio de síndrome do desconforto pós-prandial ⁽⁶¹⁾.

Estudos recentes demonstraram a participação do duodeno tanto na fisiopatologia da dispepsia funcional, como na hipersensibilidade duodenal à exposição ao ácido, respostas anormais à presença de lipídios e à colecistoquinina liberada; além de evidências que indicam que a ativação imune, representada principalmente por aumento do número de eosinófilos

ou de linfócitos intraepiteliais, pode ter implicações na fisiopatologia da doença ⁽⁶²⁾.

Os pacientes com dispepsia funcional relatam exacerbação dos sintomas após refeições gordurosas, devido à hipersensibilidade gástrica à distensão pós-prandial e à presença de lipídios no duodeno, que podem provocar redução do tônus gástrico e diferentes efeitos na liberação da colecistoquinina ⁽⁶²⁾.

A colecistoquinina (CCK) está envolvida no controle da ingestão de alimentos e na percepção da saciedade, além de modular o esvaziamento gástrico. Consequentemente, uma resposta alterada à CCK pode levar a disfunção motora gástrica e sintomas dispépticos ⁽⁶²⁾.

1.4 Relação dispepsia funcional X eosinófilos

Estudos recentes apontam a ativação imune como outro mecanismo fisiopatológico da dispepsia funcional, representada através da eosinofilia duodenal. Powell e cols. (2007) reportaram aumento da prevalência de sintomas gastrintestinais baixos em pacientes com asma (9,9%), quando comparados à população não asmática (5,5%), bem como em pacientes com rinite alérgica (7,9%) em relação à população saudável (5,5%) ⁽⁶³⁾.

Um estudo realizado em 20 pacientes dispépticos, com idades entre sete e 15 anos, avaliou a ativação de eosinófilos por meio de microscopia eletrônica e demonstrou 95% de células ativadas em segunda porção duodenal, com taxa de degranulação moderada e extensa de 65% e 30%, respectivamente ⁽⁶⁴⁾.

Outros estudos em população pediátrica associaram dispepsia à eosinofilia duodenal, com boa resposta dos sintomas gastrintestinais, em especial dor abdominal, à terapia com cromoglicato e montelucaste ^(65, 66, 67).

Talley e cols. (2007) demonstraram associação de dispepsia funcional com eosinofilia duodenal na população adulta, principalmente aglomerados

de mais de dez eosinófilos por campo de grande aumento, assim como degranulação dos mesmos ⁽⁶⁸⁾.

Os eosinófilos estão presentes em todo o trato gastrointestinal saudável, exceto esôfago ⁽⁶⁹⁾, são encontrados na lâmina própria do estômago, intestino delgado e cólon, com maior concentração no ceco, tendo importante função imunológica e na manutenção da homeostase do epitélio intestinal que afeta a apresentação de antígenos, liberação de citocinas, ativação de mastócitos e tolerância imune ^(70, 71, 72).

Os eosinófilos respondem a vários estímulos, incluindo injúria inespecífica aos tecidos, infecções virais e presença de alérgenos e/ou parasitas, seu recrutamento e sobrevivência no trato gastrointestinal são regulados por citocinas e quimiocinas ⁽⁷²⁾.

A interleucina-3 (IL-3) e o fator estimulador de colônia de granulócito-monócito (GM-CSF) são responsáveis pela sinalização de produção e sobrevivência de diversas células sanguíneas, inclusive eosinófilos. Entretanto, o fator mais específico dos eosinófilos é a interleucina-5 (IL-5), que promove a proliferação e maturação deles na medula óssea e sua liberação na circulação, além de evitar sua apoptose, estimular sua degranulação e seu recrutamento para a mucosa. A eotaxina-1, expressa na lâmina própria intestinal, é a responsável pela migração dos eosinófilos para o trato gastrointestinal. Na ausência da mesma ou de seu receptor (CCR3), essa migração não ocorre ⁽⁷⁰⁾.

Os eosinófilos, residentes e recrutados, são ativados pela eotaxina-1, presente na lâmina própria, e pela presença de patógenos ou alérgenos que atravessam a barreira epitelial. Estes, quando ativados, podem agir como células apresentadoras de antígenos aos linfócitos Th2, iniciando uma resposta imune, com liberação de IL-4 e IL-13 que ativam mastócitos, que, por sua vez, liberam serotonina e histamina ^(69, 70, 71, 73).

Os eosinófilos ativados também liberam IL-5, responsável pela ativação e degranulação dos mesmos, com liberação da proteína básica maior, fator de crescimento do nervo, eosinófilo peroxidase, proteína

catiônica de eosinófilos, neurotoxina derivada de eosinófilos, entre outros. A proteína básica maior é produto predominante nos grânulos dos eosinófilos e induz disfunção do receptor muscarínico (M2), o que provoca aumento da reatividade da musculatura lisa. Assim os produtos de degranulação dos eosinófilos, juntamente com histamina e serotonina dos mastócitos, induzem estimulação nervosa e contração dos músculos lisos, que levam a sintomas gastrintestinais ^(69, 70, 71, 73).

As desordens gastrintestinais causadas por eosinófilos são divididas em primárias e secundárias. As primárias incluem esofagite eosinofílica, gastrite eosinofílica, colite eosinofílica, enterite eosinofílica e gastroenterite eosinofílica. Destes pacientes, 80% são atópicos e cerca de 15% têm algum parente em primeiro grau com doença semelhante. As classificadas como secundárias são a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), alergias alimentares, infecções gastrintestinais causadas por bactérias ou parasitas, doença inflamatória intestinal, vasculites sistêmicas como Churg-Strauss, asma e rinite alérgica ⁽⁷⁰⁾.

Atualmente, considera-se a participação dos eosinófilos nas doenças funcionais como dispepsia funcional e síndrome do intestino irritável, porém nesta os mastócitos teriam papel mais importante no mecanismo fisiopatológico que os eosinófilos ⁽⁷⁰⁾.

Os eosinófilos têm o citoplasma eosinofílico e núcleo bilobulado, como característica morfológica, sendo facilmente reconhecidos através de biópsias coradas com hematoxilina-eosina ⁽⁶⁹⁾. A contagem dos mesmos varia de acordo com o segmento do trato gastrintestinal. No duodeno, a presença de 22 ou mais eosinófilos em cinco campos de grande aumento é considerado anormal ⁽⁶⁸⁾.

Vanheel e cols (2014) demonstraram alteração na integridade da mucosa duodenal em pacientes com dispepsia funcional, com expressão anormal de proteínas de adesão célula-célula nas junções celulares e nos desmossomos. Essa modificação na permeabilidade celular permitiria a passagem de antígenos alimentares e/ou infecciosos através da barreira da

mucosa que promoveria uma resposta imune local, com infiltração de eosinófilos e mastócitos, caracterizando um quadro de inflamação de baixo grau ^(74, 75). Achados semelhantes foram apresentados por Komori e cols (2019) que evidenciaram diminuição da expressão da proteínas de adesão célula-célula zonula ocludens-1 (ZO-1) e aumento da expressão da IL-1 β nos pacientes com dispepsia funcional, quando comparados a controles sintomáticos ⁽⁷⁶⁾.

Esses novos achados apontam para uma alteração estrutural no trato gastrointestinal desses pacientes. Assim, a restauração da integridade da barreira intestinal pode ser um potencial alvo terapêutico para o tratamento de pacientes com dispepsia funcional ⁽⁷⁴⁾.

Uma hipótese atual proposta para dispepsia funcional aponta que a presença de alérgenos alimentares e/ou agentes infecciosos, em indivíduos geneticamente predispostos, induz o aumento da permeabilidade duodenal, levando a uma ativação imune através da apresentação de antígenos, com mudança de resposta Th1 para Th2. Isso levaria à migração e recrutamento de eosinófilos com liberação de seus produtos de degranulação, que podem agir na excitação neural e contração da musculatura lisa, provocando dor e demais sintomas associados à dispepsia funcional. Porém estudos em modelos animais e humanos para a doença devem ser realizados para comprovar tal teoria ⁽¹⁸⁾.

1.5 Relação eosinofilia X atopia

Em pacientes com doenças atópicas como asma e rinite alérgica, ocorre migração dos eosinófilos para sítios extrapulmonares, como trato gastrintestinal ⁽⁷⁷⁾.

A atopia foi definida pela Organização Mundial de Alergia como uma tendência pessoal e/ou familiar de sensibilização e produção de anticorpos IgE em resposta à exposição, geralmente na infância, a alérgenos

ambientais comuns, usualmente proteínas, que pode levar a sintomas de asma, rinoconjuntivite e eczema em indivíduos predispostos⁽⁷⁸⁾.

Um incremento na prevalência de atopia foi observado em países ocidentais, com aumento de 28% entre 1990 e 1998 em estudos conduzidos na Dinamarca⁽⁷⁹⁾.

Assim, para o desenvolvimento de atopia são necessárias predisposição genética e exposição aos alérgenos. Como o trato gastrointestinal tem uma grande densidade de bactérias comensais (10^{14} micro-organismos) e está constantemente exposto a antígenos alimentares, incluindo >60g de proteína de origem animal e/ou vegetal diariamente, acredita-se que o trato gastrointestinal tem participação no aparecimento de doenças atópicas⁽⁸⁰⁾.

Os mecanismos imunes responsáveis pelo desenvolvimento das doenças atópicas são complexos, com participação das imunidades inata e adaptativa. E a dinâmica das respostas a alérgenos pode ser subdividida em reação de fase precoce e de fase tardia⁽⁸⁰⁾.

A asma é uma doença inflamatória crônica, associada à hiper-responsividade das vias aéreas, caracterizada por episódios recorrentes de sibilos, dispneia, aperto no peito e tosse, particularmente à noite e pela manhã, ao despertar. Esses episódios são geralmente associados à limitação variável ao fluxo aéreo, reversível espontaneamente ou com tratamento apropriado. Essa desordem é um problema mundial com prevalência estimada de 1-18%, com consequências sociais e econômicas devido aos custos com o tratamento e às elevadas taxas de absenteísmo⁽⁸¹⁾. No Brasil, a prevalência de asma é de 12,8%⁽⁸²⁾.

Várias teorias foram postuladas para explicar a associação da asma com sintomas gastrointestinais altos como: hiperexpansão pulmonar nos asmáticos levando à alteração no esfíncter inferior do esôfago e consequente refluxo gastroesofágico; estimulação compartilhada dos arcos reflexos mediados pelo nervo vago, resultando em contração da musculatura lisa do brônquio e relaxamento da junção gastresofágica⁽⁷⁰⁾.

Na asma, a eosinofilia da mucosa respiratória correlaciona-se com a hiper-responsividade das vias aéreas caracterizada pela contração da musculatura lisa dos brônquios. Em processo análogo, a eosinofilia gastrointestinal pode ser responsável por sintomas gastrointestinais devido ao comprometimento da motilidade intestinal e alteração na sensibilidade visceral ⁽⁷⁰⁾.

A rinite alérgica é uma inflamação da mucosa nasal mediada por IgE, induzida pela exposição a alérgenos e caracterizada clinicamente por três sinais cardinais: espirros, obstrução nasal e rinorreia. É uma doença comum, com prevalência mundial estimada de 40% em adultos jovens. Apesar de não ser considerada uma doença grave, está associada ao prejuízo na qualidade de vida, levando à queda no aproveitamento escolar e à produtividade no trabalho ⁽⁸³⁾.

O eczema ou dermatite atópica é uma doença cutânea inflamatória que, habitualmente, ocorre em pacientes com história familiar ou pessoal de atopia. Em lactentes e crianças menores, predomina o eczema agudo, caracterizado por eritema, exsudação e vesiculação, acometendo, principalmente, couro cabeludo, face e superfícies extensoras dos membros. Já em crianças maiores e adultos, observa-se o tipo subagudo ou crônico caracterizado por escoriações, liquenificação, pouca ou nenhuma exsudação, localizadas, preferencialmente, em flexuras ⁽⁸⁴⁾. Estudos populacionais têm demonstrado aumento da prevalência dessa doença, que afeta cerca de 10-20% das crianças com menos de 18 anos nos Estados Unidos ⁽⁸⁵⁾. No Brasil, a prevalência de eczema em crianças (6-7 anos) e adolescentes (13-14 anos) foi de 8,2% e 5%, respectivamente ⁽⁸⁶⁾.

O termo atopia só deve ser utilizado em pacientes com doença alérgica (asma, rinite ou eczema) associado à confirmação de sensibilização através de documentação de anticorpos IgE ou *prick* test positivo ^(81, 87).

Na prática clínica, a evidência de sensibilização alérgica pode ser feita através de dois testes: *prick* teste cutâneo e dosagem sérica de IgE específica. O *prick* teste cutâneo é confiável, barato, de fácil execução e com

resultado imediato. A dosagem sérica de IgE específica é conveniente para o paciente, pois consiste apenas em coleta de amostra sanguínea, sem necessidade de suspensão de nenhuma medicação, porém possui alto custo para sua realização ⁽⁸⁷⁾.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a contagem de eosinófilos de bulbo e da segunda porção duodenal, bem como seus produtos de degradação, em pacientes com dispepsia funcional

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a associação de infecção pelo *H. pylori*, em estômago com eosinofilia duodenal;
- Correlacionar os sintomas apresentados pelos pacientes com achados histológicos através da aplicação de questionário de sintomas (Questionário Leeds simplificado);
- Avaliar a associação de atopia com alterações histológicas através de questionário ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*);
- Testar a associação dos subgrupos de dispepsia funcional (síndrome do desconforto pós-prandial e síndrome da dor epigástrica) com eosinofilia duodenal;
- Estudar a associação de tabagismo com eosinofilia duodenal

3 METODOLOGIA

3 METODOLOGIA

3.1 Casuística

Trata-se de um estudo prospectivo transversal, realizado no município de São Paulo (SP), no período de março de 2015 a maio de 2017, que contemplou os pacientes atendidos nos ambulatórios de esôfago, estômago, duodeno, bem como pacientes referidos ao serviço de Gastroenterologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) para realização de manometria esofágica e/ou pHmetria.

O protocolo clínico foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa do HCFMUSP com o parecer número 941.286, aprovado em 27 de janeiro de 2015.

3.1.1 Seleção dos pacientes e dos controles

Foram selecionados pacientes com queixas dispépticas que foram submetidos a exame de ultrassonografia de abdome superior, para exclusão de doenças de vias biliares, e parasitológico de fezes (três amostras aleatórias). Os pacientes com resultados negativos nos dois exames foram convidados a participar do estudo. Os exames acima citados foram considerados até um ano antes da inclusão dos pacientes.

Foram explicados aos pacientes os objetivos, os riscos e benefícios associados com suas participações, bem como a importância de suas adesões ao estudo antes da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Anexo 1).

Os pacientes, após assinatura do TCLE, responderam ao questionário sociodemográfico e de sintomas (Anexos 2 e 3), além de questionário ISAAC

(Anexo 4) quanto à presença de atopia. Depois foram submetidos a exame de endoscopia digestiva alta.

Nos casos com ausência de alterações estruturais ao exame endoscópico que justificassem as queixas, o diagnóstico de dispepsia funcional (DF) era feito, a partir dos critérios de Roma III, e amostras de biópsias eram obtidas com pinça de biópsia.

Os fragmentos de biópsias foram obtidos do esôfago distal (a 5cm da transição esofagogástrica), grande curvatura de antro e corpo médio, bulbo (parede anterior e posterior) e segunda porção (duas amostras), totalizando sete fragmentos, para contagem de eosinófilos nesses segmentos e exclusão de gastroenterite eosinofílica, compatível com o número preconizado na literatura, com mínimo de seis amostras ⁽⁸⁸⁾.

Os pacientes com queixas dispépticas que durante endoscopia digestiva alta ou em exame prévio apresentaram erosão no esôfago distal, menores que 5 mm ou com tamanhos maiores, porém não confluentes, tendo classificação endoscópica de Esofagite Erosiva Leve ou Moderada (Graus A e B de Los Angeles), foram agrupados no grupo Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE). Todos os pacientes foram submetidos a todos os exames e responderam os questionários referidos acima.

Pacientes sem queixas dispépticas que foram submetidos ao exame de endoscopia digestiva alta no Centro Diagnóstico em Gastroenterologia (CDG) no mesmo período por outros motivos como avaliação de erradicação de *H. Pylori*, história familiar de neoplasia gástrica e investigação de anemia, foram agrupados no grupo controle, sendo submetidos aos mesmos questionários.

3.1.2 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo os pacientes, com idade entre 18 e 70 anos, com diagnóstico de dispepsia funcional segundo os critérios de Roma III, que deveriam apresentar um ou mais dos seguintes sintomas: sensação

incômoda de plenitude pós-prandial, saciedade precoce, dor epigástrica e queimação epigástrica, associado à ausência de evidência de alteração estrutural ao exame de endoscopia digestiva. Esses critérios deviam estar presentes nos últimos três meses, com início pelo menos seis meses antes do diagnóstico.

Foram incluídos no grupo Doença do Refluxo Gastroesofágico pacientes, com idade entre 18 e 70 anos, com diagnóstico de doença do refluxo gastroesofágico erosiva (graus A e B de Los Angeles), comprovada por endoscopia digestiva alta.

O grupo controle foi composto por indivíduos com a mesma faixa etária, sem queixas dispépticas que foram submetidos a exame endoscópico por outros motivos.

3.1.3 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram a não assinatura do TCLE ou a presença de alguma das seguintes doenças: parasitose intestinal comprovada pelo parasitológico de fezes, colelitíase ou colecistectomia prévia, doença inflamatória intestinal, doença celíaca, doença ulcerosa péptica e neoplasia. Além de gestação, uso de antidepressivos, uso de medicação biológica, comorbidades graves, que contraindiquem ou aumentem o risco da realização de endoscopia digestiva, e uso de anticoagulação por eventos trombóticos prévios.

3.2 Amostragem

Para calcular o tamanho amostral, necessário para estudar a hipótese de que o grupo controle difere do grupo dispepsia funcional em relação a variável contagem de eosinófilos em cinco campos de grande aumento na segunda porção duodenal (eos2porção/5), foram consideradas as seguintes premissas:

Hipóteses: $H_0: \mu_2 - \mu_1 = 0$ x $H_1: \mu_2 - \mu_1 \neq 0$, em que μ_1 corresponde ao valor médio da soma de eosinófilos em segunda porção duodenal em 5 campos de grande aumento (eos2porção/5) do grupo controle e μ_2 corresponde ao valor médio de eos2porção/5 do grupo Dispepsia.

Foi utilizado um nível de significância de 5%; poder do teste de 80%; diferença aceitável entre as médias dos grupos ($\mu_2 - \mu_1$) obtida através de diferentes simulações de valores e variância populacional (σ^2) = 45 (supondo desvio-padrão populacional igual a 6,7, conforme obtido em literatura) ^(89, 90, 91).

A partir de resultados obtidos por simulação, observou-se que 58 pacientes (29 pacientes por grupo) seriam necessários para mostrar que o grupo controle difere do grupo Dispepsia Funcional em relação às variáveis eos2porção/5, sendo que essa diferença é igual a 5 com variância igual a 45, considerando um nível de significância de 5% (duas variáveis no objetivo primário) e poder do teste de 80%.

3.3 Avaliação histológica duodenal

O estudo histopatológico foi realizado na Divisão de Anatomia Patológica (DAP) do Hospital das Clínicas – FMUSP nas amostras de esôfago, estômago, bulbo e segunda porção duodenal, que foram fixadas em formol a 10%, emblocadas em parafina e coradas pelos métodos de Hematoxilina-Eosina (HE), para contagem de eosinófilos, e coloração especial de Giemsa, para pesquisa de *H. Pylori*.

A leitura das lâminas foi feita por uma patologista especializada em trato gastrointestinal da DAP-HCFMUSP que avaliou, em todas as amostras, a presença ou não de inflamação crônica e atividade, presença de erosão ou ulceração, e fez a contagem, quando presentes, dos eosinófilos intraepiteliais no esôfago, além dos intraepiteliais e em lâmina própria no

estômago e duodeno. A avaliação das lâminas pela patologista foi feita de forma cega.

Nas amostras gástricas, foram avaliadas a presença ou não de metaplasia intestinal completa ou incompleta, atrofia e pesquisa para *H. Pylori* nos segmentos biopsiados.

Nas amostras de duodeno, foram pesquisadas a presença de parasitas e avaliada a proporção vilo-cripta, para determinação de atrofia.

A quantificação dos eosinófilos em estômago e duodeno foi realizada pela soma da contagem em cinco campos aleatórios de grande aumento (400X), sendo considerada aumentada quando superior a 22 eosinófilos / 5 CGA em duodeno, tanto em bulbo (eosbulbo/5) como em segunda porção (eos2porção/5). Quando esse número foi superior a 10 eosinófilos por campo de grande aumento em corpo e antro gástricos foi considerado alterado. No esôfago foi feita a contagem em área de maior quantidade e considerada elevada a contagem maior que 15 eosinófilos intraepiteliais/CGA ⁽⁶⁸⁾.

3.4 Avaliação imuno-histoquímica

Todas as amostras de duodeno, bulbo e segunda porção, foram submetidas à reação imuno-histoquímica para avaliação dos produtos de degranulação dos eosinófilos, utilizando o anticorpo antiproteína básica maior (Eosinophil major basic protein, BMK-13, Mouse MAB, Biorad, código MCA5751, lote 180112, na concentração 0,1mg), conforme orientação do fabricante. Para recuperação antigênica foi utilizada Pepsina, Sigma Life Science, R2283 – 100ml, lote MKCGO143.

Procedimento Imuno-histoquímico:

1. Desparafinização dos cortes de 3 μ de espessura, do material incluído em parafina: incubação com xilol a 60 $^{\circ}$ C por 20 minutos seguido de outra incubação com xilol à temperatura ambiente por 20 minutos.

2. Hidratação dos cortes em concentrações de etanol a 100% com 3 banhos de 30 segundos cada, seguido de etanol a 95%, 80% e 70% por 30 segundos, lavagem em água corrente e água destilada.

3. Bloqueio da peroxidase endógena com água oxigenada (H₂O₂) a 6% diluída v/v em metanol, em três banhos de 10 minutos cada a 37 $^{\circ}$ C; seguido de lavagens em água corrente e água destilada e lavagem com solução salina tamponada com fosfatos (PBS) 10 mM pH 7,4 por 5 minutos.

4. Recuperação antigênica mediante incubação das lâminas em Pepsina por 20 minutos a 37 $^{\circ}$ C; seguida de lavagem com solução salina tamponada com fosfatos (PBS) 10 mM pH 7,4 por 5 minutos (2 trocas).

5. Bloqueio de proteínas com Cas BlockTM (Invitrogen by Life Technologies) cat. n $^{\circ}$ 00-8120 por 10 minutos a 37 $^{\circ}$ C. Escoamento e incubação com o Ac primário.

6. Incubação das lâminas com anticorpo primário (específico para o antígeno) diluído em solução de albumina bovina (BSA) (SIGMA, E.U.A.) a 1,0% e azida sódica NaN₃ (Inlab, São Paulo) 0,1% em PBS, em câmara úmida: 30 min. a 37 $^{\circ}$ C e, em seguida, 18 horas (overnight) a 4 $^{\circ}$ C, seguida de lavagens em tampão PBS com 3 trocas de 5 minutos cada.

7. Incubação com o bloqueador pós-primário (Post Primary Block, NovoLink Max Polymer Detection System, Leica Biosystems, Newcastle Ltd), Ref. RE7 159, por 30 minutos a 37 $^{\circ}$ C, seguida por lavagens com tampão PBS com 3 trocas de 5 minutos cada.

8. Incubação com NovoLink (Polímero) Leica Biosystems, Newcastle Ltd), Ref. RE7 161, por 30 minutos a 37 $^{\circ}$ C, seguida por lavagens com tampão PBS com 3 trocas de 5 minutos cada.

9. Revelação com solução de substrato cromogênico contendo diaminobenzidina (Sigma, E.U.A.) a 0,10%, peróxido de hidrogênio a 0,06%, dimetil sulfoxido (Labsynth) a 1% em PBS, em banho de 5 minutos, a 37 °C; seguida de lavagens em água corrente e água destilada.

10. Contracoloração com Hematoxilina de Harris por 1 minuto, lavagens em água corrente e água destilada. Imersão rápida em água amoniacal (sol. de hidróxido de amônia 0,5%), seguido de lavagens em água corrente e água destilada.

11. Desidratação dos cortes em banhos de etanol a 50%, 80%, 95% e etanol absoluto (3 trocas de 1 minuto cada), diafanização em banhos de xilol (3 trocas de 1 minuto cada) e montagem em meio permanente (Entellan, Merck, cod. 1.07961.0100) com lamínula.

Os controles utilizados na reação imuno-histoquímica compreenderam um controle sabidamente positivo para o anticorpo em estudo, um controle negativo com incubação em PBS e eliminação do anticorpo primário, sendo efetuados todos os demais procedimentos imuno-histoquímicos.

3.5 Avaliação de atopia

A avaliação quanto à presença de atopia como asma, rinite alérgica e eczema atópico no presente trabalho foi feita através da aplicação do questionário ISAAC (*International Study of Asthma and Allergies in Childhood*), validado no Brasil por Solé e cols (1998) ⁽⁹²⁾, e utilizado na população adulta por Gracia e cols (2008) ⁽⁹³⁾.

O questionário ISAAC é de fácil compreensão, autoaplicável, não dependente da presença de um entrevistador e capaz de identificar portadores de asma, rinite alérgica e/ou eczema atópico. Este é composto por módulos, contendo oito questões sobre asma, seis sobre rinite alérgica e seis sobre eczema atópico (Anexo 4).

Dos quesitos relacionados à asma, foram considerados os referentes a sintomas e diagnóstico médico: sibilos nos últimos 12 meses (asma ativa) e asma alguma vez na vida (asma diagnosticada). Das questões referentes à rinite alérgica, foram considerados sintomas nasais (espirros, coriza e obstrução nasal nos últimos 12 meses) e rinoconjuntivite alérgica (problemas nasais associados aos olhos com prurido e lacrimejamento nos últimos 12 meses). Com relação ao eczema atópico, foram empregadas questões referentes a sintomas: erupção cutânea que aparece e desaparece por pelo menos seis meses (eczema) e erupção cutânea em locais característicos, como dobras dos cotovelos ou atrás dos joelhos (eczema flexural) ⁽⁹²⁾. Os pacientes que tiveram respostas afirmativas a alguma das questões acima foram considerados atópicos.

Não foram contempladas as questões referentes à gravidade: sibilos intensos capazes de limitar a fala nos últimos 12 meses (asma grave), problema nasal interferindo a atividade diária (rinite grave) e rash cutâneo e pruriginoso que afetou o sono nos últimos 12 meses (eczema grave) ⁽⁹²⁾.

3.6 Análise estatística

O processo de análise de dados da presente pesquisa iniciou-se com uma exploração descritiva, resultando em tabelas de frequência para variáveis qualitativas que contaram ainda com a inclusão do intervalo de confiança para a proporção (IC95%). Estatísticas descritivas incluindo média desvio-padrão, mediana e intervalo interquartil – IIQ (P25-P75) foram calculadas para resumir as variáveis quantitativas contínuas e discretas.

Para estudar a distribuição das variáveis qualitativas de acordo com o grupo, foi empregado o teste de qui-quadrado ou teste exato de Fischer, quando necessário. O teste de Mann-Whitney foi usado para a comparação de dois grupos independentes no caso de variáveis quantitativas. O único pressuposto exigido para a aplicação do teste Mann-Whitney é que as duas amostras sejam independentes e aleatórias e que as variáveis em análise

sejam numéricas ou ordinais. O teste de Kruskal-Wallis (KW) foi utilizado para avaliar a distribuição dos fatores ordinais em relação ao resultado anatomopatológico classificado em três categorias. O teste é uma extensão do teste de Mann-Whitney e é utilizado para comparar três ou mais populações, o método estatístico testa a hipótese nula de que todas as populações possuem funções de distribuição iguais contra a hipótese alternativa de que ao menos duas das populações possuem funções de distribuição diferentes. Quando significativa, as comparações múltiplas levaram em consideração o método de Bonferroni ⁽⁹⁴⁾.

Para avaliação dos sintomas com as medidas de eosinófilos, utilizou-se o Coeficiente de correlação de postos de Spearman. Para avaliar a concordância entre os diferentes métodos de contagem de eosinófilos, foi utilizada a abordagem de Bland e Altman (1999) e o coeficiente de correlação intraclass avaliou a correlação entre os métodos ⁽⁹⁵⁾.

Todos os testes realizados levaram em consideração um α bidirecional de 0.05 e intervalo de confiança (IC) de 95% e foram realizados com apoio dos softwares IBM SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences) e Excel 2010® (Microsoft Office).

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

Foram avaliados 110 pacientes com queixas dispépticas, após anamnese, aplicação de questionário socioeconômico e de sintomas e realização de exames complementares (ultrassonografia de abdome, parasitológico de fezes e endoscopia digestiva alta). Foram incluídos 50 pacientes no estudo, com diagnóstico de doença do refluxo gastroesofágico (DRGE n=24) e com dispepsia funcional (DF n=26).

Pacientes que realizaram endoscopia no Centro de Diagnóstico em Gastroenterologia, que se apresentavam assintomáticos no momento da endoscopia digestiva alta, foram incluídos no grupo controle (n=17), totalizando 67 pacientes participantes no estudo. O detalhamento de pacientes incluídos e excluídos é apresentado na Figura 1.

EDA - endoscopia digestiva alta; USG - ultrassonografia abdominal; TCLE - termo de consentimento livre e esclarecido

Figura 1 - Fluxograma dos pacientes incluídos no estudo

Tabela 1 - Características demográficas e clínicas dos pacientes incluindo frequência absoluta, relativa, intervalo de confiança de 95% (IC95%) e nível descritivo

	n	DRGE % (IC95%)	n	DF % (IC95%)	n	Controle % (IC95%)	p-valor
Sexo							
Masculino	6	25 (11,2-44,5)	7	26,9 (12,9-45,7)	3	17,6 (5,2-40)	0,821
Feminino	18	75 (55,5-88,8)	19	73,1 (54,3-87,1)	14	82,4 (60-94,8)	
Idade							
<=47 anos	10	41,7 (23,8-61,4)	16	61,5 (42,4-78,2)	10	58,8 (35,6-79,3)	0,385
>47anos	14	58,3 (38,6-76,2)	10	38,5 (21,8-57,6)	7	41,2 (20,7-64,4)	
Escolaridade							
1º grau completo	3	12,5 (3,6-29,7)	3	11,5 (3,4-27,7)	1	5,9 (0,6-24,4)	0,812
1º grau incompleto	9	37,5 (20,4-57,4)	9	34,6 (18,7-53,7)	5	29,4 (12,2-53)	
2º grau completo	5	20,8 (8,4-39,8)	7	26,9 (12,9-45,7)	6	35,3 (16,3-58,9)	
2º grau incompleto	3	12,5 (3,6-29,7)	0	-	1	5,9 (0,6-24,4)	
3º grau completo	4	16,7 (5,9-34,9)	5	19,2 (7,7-37,1)	3	17,6 (5,2-40)	
3º grau incompleto	0	-	2	7,7 (1,6-22,5)	1	5,9 (0,6-24,4)	
História de tabagismo							
Não	15	62,5 (42,6-79,6)	18	69,2 (50,2-84,2)	14	82,4 (60-94,8)	0,392
Sim	9	37,5 (20,4-57,4)	8	30,8 (15,8-49,8)	3	17,6 (5,2-40)	
Álcool							
Não	24	-	24	92,3 (77,5-98,4)	17	-	0,303
Sim	0	-	2	7,7 (1,6-22,5)	0	-	
H. Pylori							
Não	21	87,5 (70,3-96,4)	18	69,2 (50,2-84,2)	13	76,5 (53,3-91,5)	0,301
Sim	3	12,5 (3,6-29,7)	8	30,8 (15,8-49,8)	4	23,5 (8,5-46,7)	
Asma							
Não	22	91,7 (75,9-98,2)	25	96,2 (83,4-99,6)	16	94,1 (75,6-99,4)	0,827
Sim	2	8,3 (1,8-24,1)	1	3,8 (0,4-16,6)	1	5,9 (0,6-24,4)	
Rinite							
Não	12	50 (31,0-69,0)	10	38,5 (21,8-57,6)	11	64,7 (41,1-83,7)	0,262
Sim	12	50 (31,0-69,0)	16	61,5 (42,4-78,2)	6	35,3 (16,3-58,9)	
Dermatite atópica							
Não	24	-	23	88,5 (72,3-96,6)	16	94,1 (75,6-99,4)	0,290
Sim	0	-	3	11,5 (3,4-27,7)	1	5,9 (0,6-24,4)	
História de atopia							
Não	12	50,0 (31,0-69,0)	16	61,5 (42,4-78,2)	13	76,5 (53,3-91,5)	0,240
Sim	12	50,0 (31,0-69,0)	10	38,5 (21,8-57,6)	4	23,5 (8,5-46,7)	
Esteatose hepática							
Não	16	66,7 (46,8-82,8)	23	88,5 (72,3-96,6)	0	-	0,091
Sim	8	33,3 (17,2-53,2)	3	11,5 (3,4-27,7)	0	-	
EDA Esofagite							
Sem esofagite	6	25,0 (11,2-44,5)	26	-	17	-	<0,001
Grau A LA	11	45,8 (27,3-65,3)	0	-	0	-	
Grau B LA	7	29,2 (14,1-48,9)	0	-	0	-	
EDA Gastrite							
Sem gastrite	3	12,5 (3,6-29,7)	16	61,5 (42,4-78,2)	8	47,1 (25,4-69,7)	0,007
Gastrite enantematosa leve	12	50,0 (31,0-69,0)	5	19,2 (7,7-37,1)	6	35,3 (16,3-58,9)	
Gastrite erosiva leve	9	37,5 (20,4-57,4)	5	19,2 (7,7-37,1)	3	17,6 (5,2-40,0)	
EDA Outras alterações							
Não	11	45,8 (27,3-65,3)	18	69,2 (50,2-84,2)	8	47,1 (25,4-69,7)	0,209
Sim	13	54,2 (34,7-72,7)	8	30,8 (15,8-49,8)	9	52,9 (30,3-74,6)	
Bulbo							
Normal	14	58,3 (38,6-76,2)	14	53,8 (35,1-71,8)	11	64,7 (41,1-83,7)	0,815
Duodenite	9	37,5 (20,4-57,4)	12	46,2 (28,2-64,9)	6	35,3 (16,3-58,9)	
Alteração relação vilo- cripta	1	4,2 (0,5-17,9)	0	-	0	-	
2 porção							
Normal	19	79,2 (60,2-91,6)	18	69,2 (50,2-84,2)	11	64,7 (41,1-83,7)	0,443
Duodenite	4	16,7 (5,9-34,9)	8	30,8 (15,8-49,8)	6	35,3 (16,3-58,9)	
Alteração relação vilo- cripta	1	4,2 (0,5-17,9)	0	-	0	-	

* Tabagismo atual ou passado;

** Valor de p baseado no teste exato de Fischer

As Tabelas 1 e 2 apresentam as características demográficas e clínicas dos grupos avaliados. No geral, 76,1% da amostra era constituída por mulheres, com média de idade de 46,7 anos ($\pm 12,1$ anos), IMC médio de 26 ($\pm 4,7$), 34,3% com primeiro grau incompleto, apenas 3% relataram consumo de álcool, *H. Pylori* foi positiva em 22,4% dos casos, rinite em 50,7%, dermatite atópica associada à asma foi relatado em 6% dos indivíduos avaliados.

O tabagismo foi abordado como “ativo” ou “passado” com registro da carga tabágica, 20 (29,8%) pacientes tinham história de tabagismo, destes, apenas oito (12,9%) apresentavam tabagismo ativo, sendo quatro no grupo de DRGE, dois no grupo de DF e dois no grupo controle. A maior carga tabágica registrada foi de 80 anos/maço, em indivíduo ainda fumante do grupo de DRGE. Para essas variáveis, a amostra mostrou-se homogênea e em acordo com os grupos ($p > 0,05$).

Alguns aspectos endoscópicos também podem ser vistos na Tabela 1. Diferenças significantes foram observadas entre os grupos para EDA esofagite, sendo que os 11 pacientes com Grau A LA e 7 indivíduos Grau B LA ocorreram apenas no grupo DRGE ($p < 0,001$), no caso do EDA Gastrite também há maior frequência de gastrite enantematosa leve (50%) e gastrite erosiva leve (37%) no grupo DRGE, enquanto no grupo da dispepsia funcional era de 19,2% nas duas categorias e, no controle, 35,6% e 17,6% ($p = 0,007$).

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo

	DRGE Mediana (IQQ)	DF Mediana (IQQ)	Controle Mediana (IQQ)	p-valor*
IDADE	50,0 (44,0-58,0)	44,0 (36,0-52,0)	47,0 (34,0-57,0)	0,263
IMC	25,0 (23,5-29,4)	24,0 (21,5-27,0)	25,8 (23,8-30,9)	0,064

*Valor de p baseado no teste de Kruskal-Wallis

*DRGE: doença do refluxo gastroesofágico

*DF: dispepsia funcional

*IMC: índice de massa corpórea

Todos os pacientes incluídos realizaram biópsias de esôfago, estômago e duodeno, conforme protocolo. Não foram diagnosticados casos de esofagite eosinofílica, gastroenterite eosinofílica nem de doença celíaca nos indivíduos estudados.

Não foram descritos metaplasia intestinal nos fragmentos de estômago ou metaplasia gástrica nos fragmentos retirados de duodeno. Nenhuma lesão maligna foi diagnosticada nos pacientes estudados.

Figura 2 - Eosinófilos em lâmina própria em paciente com dispepsia funcional (HE – 400X)

Figura 3 - Imuno-histoquímica com proteína básica maior, mostrando eosinófilos na lâmina própria (200X e 400X)

Observou-se também a alteração do exame de ultrassonografia em 22 pacientes com a seguinte distribuição: alteração de ecogenicidade do fígado (um), cistos renais (três), cisto hepático simples (um), hemangioma (dois), nefrolitíase (dois), nefropatia parenquimatosa (um), ureterocele (um), esteatose hepática (11). Os achados descritos não impediram a participação dos pacientes no estudo.

Quando se avaliou as comorbidades, a mais referida pelos pacientes nos questionários sociodemográficos foi hipertensão arterial sistêmica, presente em 14 pacientes, consequentemente, anti-hipertensivos foram os medicamentos mais registrados como de uso contínuo. Contudo, 33 pacientes negaram qualquer comorbidades ou uso de medicações.

Em relação à distribuição estatística dos desfechos, a maioria apresentou elevada variabilidade com desvios-padrão frequentemente superiores à estimativa média; apenas a medida de IH 2 porção /5CG com média de 33 eosinófilo (DP=21) apresentou simetria na distribuição comprovada pelo teste de normalidade ($p>0,05$). Devido a esse fato, as estatísticas utilizadas nas análises a seguir levam em consideração os métodos não paramétricos (Tabela 3).

Tabela 3 - Teste de normalidade para avaliar a distribuição estatística dos diferentes desfechos incluindo média, desvio-padrão e nível descritivo

	Média	Desvio-padrão	p-valor*
Eos Bulbo	3	4	<0,001
Eos 2 porção	3	4	<0,001
Eos bulbo/5CGA	7	9	<0,001
Eos 2 porção/5CGA	7	10	<0,001
IH bulbo/ 5CGA	28	22	0,013
IH 2 porção/ 5CGA	33	21	0,200

*p-valor baseado no teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors

* Eos bulbo: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em segunda porção duodenal

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

A distribuição de eosinófilos de segunda porção mostrou-se estatisticamente diferente entre o grupo DRGE e DF, sendo que no primeiro a mediana de eosinófilos foi de 0 (IIQ = 0-3) e no último 2 (IIQ = 0-5), $p=0,045$ (Tabela 4 e Figura 4). Na comparação de IH 2 porção / 5CG o grupo DRGE mostrou mediana de 12 (IIQ = 4-33) ao passo que o grupo DF apresentou mediana de 40 (IIQ = 25-50) e o Controle 39 (IIQ 31-54), $p=0,005$ (Tabela 4). Ao analisar a Figura 5 pode-se verificar nitidamente que o grupo DF é diferente significativamente do grupo DRGE ($p=0,015$) e o grupo controle também é diferente sob a óptica estatística do DRGE ($p=0,018$), mas entre DF e Controle não há diferença significativa ($p=0,711$).

Tabela 4 – Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com os grupos DRGE, DF e Controle

	DRGE Mediana (IQQ)	DF Mediana (IQQ)	Controle Mediana (IQQ)	p-valor*
Eos bulbo	1 (0-4)	2 (0-4)	-	0,454
Eos 2 porção	0 (0-3)	2 (0-5)	-	0,045
Eos bulbo/5CGA	5 (2-10)	5 (1-8)	4 (0-7)	0,594
Eos 2 porção/5CGA	4 (0-9)	7 (3-15)	5 (0-7)	0,150
IH bulbo/ 5CGA	13 (2-38)	23 (9-42)	38 (21-47)	0,067
IH 2 porção / 5CGA	12 (4-33)	40 (25-50)	39 (31-54)	0,005

* Valor de p baseado no teste de KW

* Eos bulbo: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em segunda porção duodenal

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

Valor de p baseado no teste de MW ($p=0,045$)

Figura 4 - Distribuição eosinófilos 2 porção em 1 CGA nos grupos DRGE e DF

Valor de p baseado no teste de KW ($p=0,005$)

Figura 5 - Distribuição de eosinófilos IH 2 porção / 5CGA segundo os grupos DRGE, DF e Controle

Na análise do subgrupo de DF bem como na análise do grupo com queixa dispéptica, nenhuma diferença significativa foi observada $p > 0,05$ (Tabela 5 e 6). A medida que pareceu ser mais heterogênea foi a IH bulbo/5CG que resultou numa mediana de 38 (IIQ = 21-47) no grupo controle e 19 (IIQ = 9-42) no grupo de queixa dispéptica (DF + DRGE) com nível descritivo não significativo $p = 0,072$.

Tabela 5 - Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com o subgrupo DF

	DPP Mediana (IIQ)	EPS Mediana (IIQ)	p-valor*
Eos bulbo	2 (0-3)	3 (2-9)	0,152
Eos 2 porção	2 (0-4)	5 (2-8)	0,152
Eos bulbo/5CGA	5 (0-8)	8 (3-13)	0,334
Eos 2 porção/5CGA	6 (0-10)	14 (4-16)	0,231
IH bulbo/ 5CGA	21 (9-42)	24 (9-58)	0,836
IH 2 porção/ 5CGA	36 (20-48)	44 (40-56)	0,178

*Valor de p baseado no teste de MW

* Eos bulbo: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em segunda porção duodenal

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

Tabela 6 - Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com o grupo controle e de queixa dispéptica

	Controles Mediana (IIQ)	DF + DRGE Mediana (IIQ)	p valor*
Eos bulbo/5CGA	4 (0-7)	5 (1-8)	0,428
Eos 2 porção/5CGA	5 (0-7)	5 (0-10)	0,431
IH bulbo/ 5CGA	38 (21-47)	19 (9-42)	0,072
IH 2 porção/ 5CGA	39 (31-54)	32 (12-48)	0,127

*Valor de p baseado no teste de MW

* Eos bulbo: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em segunda porção duodenal

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

A aplicação do questionário ISAAC para atopia, no grupo de DRGE, confirmou dois pacientes com questionário positivo para asma, 15 para rinite, mas sem casos de dermatite atópica. Em um paciente, o questionário foi compatível com história de asma e rinite, porém o paciente só relatou asma. No grupo de dispepsia funcional, o questionário ISAAC foi positivo para asma em um paciente, para rinite em 13 e para dermatite atópica em três.

Destes, dois apresentaram rinite e dermatite atópica e um apresentou asma, rinite e dermatite atópica, porém esses três pacientes relataram apenas rinite na história pessoal. Não houve relato de dermatite atópica na história pessoal de atopia e cinco dos pacientes que negavam atopia, apresentaram questionário positivo para rinite alérgica. O grupo controle apresentou um indivíduo com asma e rinite e três apenas com rinite, não tendo diferença nos registros de história pessoal e os resultados obtidos no questionário ISAAC.

Tabela 7 - Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a história de atopia estratificada por grupo DRGE, DF e controle

	Sem história de atopia Mediana (IIQ)	Com história de atopia Mediana (IIQ)	p-valor*
Geral			
Eos esôfago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,423
Eos estômago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,389
Eos bulbo/5CGA	5 (3-7)	5 (0-13)	0,691
Eos 2 porção/5CGA	5 (0-10)	5 (0-10)	0,860
IH bulbo/ 5CGA	23 (6-46)	23 (12-42)	0,662
IH 2 porção / 5CGA	36 (14-52)	34 (15-47)	0,873
DRGE			
Eos esôfago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,999
Eos estômago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,755
Eos bulbo/5CGA	5 (3-10)	3 (0-10)	0,219
Eos 2 porção/5CGA	4 (0-9)	3 (0-8)	0,755
IH bulbo/ 5CGA	12 (2-46)	17 (1-38)	0,863
IH 2 porção / 5CG	14 (5-32)	12 (3-46)	0,928
DF			
Eos esôfago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,816
Eos estômago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,979
Eos bulbo/5CGA	5 (2-7)	11 (1-16)	0,135
Eos 2 porção/5CGA	7 (2-15)	7 (3-16)	0,698
IH bulbo/ 5CGA	21 (6-47)	28 (16-35)	0,357
IH 2 porção / 5CGA	40 (19-53)	44 (30-48)	0,760
Controle			
Eos esôfago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,999
Eos estômago	0 (0-0)	0 (0-0)	0,871
Eos bulbo/5CGA	4 (0-6)	5 (0-11)	0,871
Eos 2 porção/5CGA	5 (0-7)	2 (0-10)	0,703
IH bulbo/ 5CGA	38 (21-46)	34 (21-67)	0,770
IH 2 porção / 5CGA	39 (29-54)	42 (33-55)	0,689

*Valor de p baseado no teste de MW

* Eos bulbo: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em segunda porção duodenal

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

A história de atopia não mostrou capacidade de agrupar indivíduos segundo as diferentes medidas de eosinófilos realizadas no estudo geral ou na avaliação estratificada (Tabela 7).

A Tabela 8 traz o estudo da relação do tabagismo atual ou passado com as diferentes medidas de eosinófilos estratificadas por grupo. Eos2porção/5CGA mostrou maior mediana 10 (IIQ = 3-15) no grupo de tabagistas versus não tabagistas 4 (IIQ = 0-8), $p=0,020$. Entre os extratos, nenhuma diferença foi observada no grupo DRGE ou DF ($p>0,05$). No grupo controle, chamou atenção a menor mediana de eosinófilos no IH bulbo/5CGA no grupo tabagista 12 (IIQ = 6-17) versus 40 (IIQ = 24-49) e, para IH 2 porção / 5CGA no grupo tabagista 12 (IIQ = 0-23) versus 43 (IIQ = 35-54), $p=0,033$ e $0,017$, subsequentemente.

Em relação à infecção por *H. Pylori*, na análise geral, não parece existir nenhuma diferença relevante entre os grupos DRGE e controle para as diferentes contagens de eosinófilos. No grupo DF, entre os indivíduos não infectados, existe maior contagem de eosinófilos em bulbo/5CGA com mediana de 7 (IIQ = 7-13) versus 2 (IIQ = 0-6), $p=0,041$; e em 2 porção/5CGA com mediana de 10 (IIQ = 5-16) versus 3 (IIQ = 0-5), $p=0,006$ (Tabela 9).

Tabela 8 - Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a história de tabagismo estratificada por grupo DRGE, DF e controle

	Não Mediana (IIQ)	Sim Mediana (IIQ)	p-valor*
Geral			
Eos bulbo/5CGA	4 (0-7)	6 (3-13)	0,088
Eos 2 porção/5CGA	4 (0-8)	10 (3-15)	0,020
IH bulbo/ 5CGA	24 (9-46)	16 (12-33)	0,566
IH 2 porção / 5CGA	36 (12-50)	33 (20-52)	0,988
DRGE			
Eos bulbo/5CGA	5 (0-5)	3 (3-13)	0,770
Eos 2 porção/5CGA	4 (0-7)	4 (1-10)	0,318
IH bulbo/ 5CGA	4 (0-38)	15 (13-35)	0,210
IH 2 porção / 5CGA	9 (3-16)	32 (20-46)	0,072
DF			
Eos bulbo/5CGA	4 (0-8)	7 (4-12)	0,261
Eos 2 porção/5CGA	5 (1-9)	15 (8-16)	0,070
IH bulbo/ 5CGA	23 (9-42)	22 (8-46)	0,932
IH 2 porção bulbo/ 5CGA	40 (25-48)	42 (28-56)	0,628
Controle			
Eos bulbo/5CGA	2 (0-7)	5 (4-23)	0,244
Eos 2 porção/5CGA	2 (0-7)	5 (5-15)	0,300
IH bulbo/ 5CGA	40 (24-49)	12 (6-17)	0,033
IH 2 porção / 5CGA	43 (35-54)	12 (0-23)	0,017

* Valor de p baseado no teste de MW

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

Tabela 9 - Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a infecção por *H. Pylori* estratificada por grupo DRGE, DF e controle

	Não Mediana (IIQ)	Sim Mediana (IIQ)	p-valor*
Geral			
Eos bulbo/5CGA	5 (2-12)	4 (0-7)	0,226
Eos 2 porção/5CGA	5 (0-12)	3 (0-7)	0,072
IH bulbo/ 5CGA	19 (9-45)	24 (10-42)	0,736
IH 2 porção / 5CGA	34 (12-50)	39 (18-52)	0,606
DRGE			
Eos bulbo/5CGA	5 (2-6)	5 (3-20)	0,505
Eos 2 porção/5CGA	4 (0-8)	0 (0-12)	0,620
IH bulbo/ 5CGA	13 (2-38)	15 (0-46)	0,998
IH 2 porção / 5CGA	14 (5-40)	12 (0-20)	0,514
DF			
Eos bulbo/5CGA	7 (3-13)	2 (0-6)	0,041
Eos 2 porção/5CGA	10 (5-16)	3 (0-5)	0,006
IH bulbo/ 5CGA	19 (9-52)	26 (13-39)	0,798
IH 2 porção / 5CGA	40 (30-50)	42 (19-56)	0,998
Controle			
Eos bulbo/5	4 (0-10)	3 (0-7)	0,785
Eos 2 porção/5	5 (0-7)	4 (0-11)	0,998
IH bulbo/ 5CG	39 (21-47)	32 (17-64)	0,953
IH 2 po rção/ 5CG	37 (26-54)	46 (39-58)	0,262

* Valor de p baseado no teste de MW

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

A relação da duodenite com a contagem de eosinófilos também foi estudada para toda amostra investigada (Tabela 10). Diferenças medianas significativas foram observadas tanto na duodenite bulbo quanto na 2ª porção, no caso do bulbo, contagem de Eos bulbo/5CGA com mediana 4 (IIQ = 0-6) *versus* 7 (IIQ = 0-16), $p=0,041$ e IH bulbo/ 5CGA mediana 16 (IIQ = 6-35) *versus* 36 (IIQ = 19-49), $p=0,023$. Já no caso da 2ª porção, as diferenças ocorreram em IH bulbo/ 5CGA 18 (IIQ = 6-39) *versus* 39 (IIQ = 19-54), $p=0,035$ e IH 2 porção / 5CGA 29 (IIQ 10-46) *versus* 40 (IIQ = 34-52), $p=0,029$.

Tabela 10 - Distribuição de eosinófilos incluindo mediana, intervalo interquartil (IIQ: P25-P75) e nível descritivo de acordo com a presença de duodenite

	Não Mediana (IIQ)	Sim Mediana (IIQ)	p-valor*
Duodenite bulbo			
Eos bulbo/5CGA	4 (0-6)	7 (0-16)	0,041
Eos 2 porção/5CGA	4 (0-8)	7 (0-14)	0,111
IH bulbo/ 5CGA	16 (6-35)	36(19-49)	0,023
IH 2 porção/ 5CGA	30 (543)	37(25-54)	0,076
Duodenite 2 porção			
Eos bulbo/5CGA	4 (0-8)	5 (0-13)	0,298
Eos 2 porção/5CGA	4 (0-9)	8 (0-16)	0,098
IH bulbo/ 5CGA	18 (6-39)	39 (19-54)	0,035
IH 2 porção / 5CGA	29 (10-46)	40 (34-52)	0,029

* Valor de p baseado no teste de MW

* Eos bulbo: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção: soma de eosinófilos em 1 campo de grande aumento em segunda porção duodenal

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

Os sintomas foram avaliados através do questionário de Leeds que abordou a frequência dos seguintes sintomas: indigestão, pirose, regurgitação e náuseas. Apenas pirose apresentou correlação negativa com eos bulbo/5CGA (coeficiente -0,330, $p=0,019$) e eos2porção/5CGA (coeficiente -0,302, $p=0,033$). Outros resultados não significativos estão expressos na Tabela 11.

Tabela 11 - Correlação entre contagem de eosinófilos e sintomas de indigestão, pirose, regurgitação e náuseas

	Indigestão	Pirose	Regurgitação	Náuseas
Eos bulbo/5CGA				
Coeficiente de Correlação	-0,253	-,330*	-0,26	0,03
p-valor	0,077	0,019	0,072	0,835
N	50	50	49	50
Eos 2 porção/5CGA				
Coeficiente de Correlação	-0,167	-,302*	-0,227	0,002
p-valor	0,247	0,033	0,116	0,989
N	50	50	49	50
IH bulbo/ 5CGA				
Coeficiente de Correlação	-0,111	-0,085	-0,096	0,17
p-valor	0,461	0,573	0,532	0,258
N	46	46	45	46
IH 2 porção / 5CGA				
Coeficiente de Correlação	-0,016	-0,023	0,019	0,103
p-valor	0,911	0,877	0,897	0,487
N	48	48	47	48

* Valor de $p < 0,05$

* Eos bulbo/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo

* Eos 2 porção/5CGA: soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

* IH bulbo/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em bulbo

* IH 2 porção/5CGA: soma de produtos de degranulação de eosinófilos pela imuno-histoquímica em 5 campos de grande aumento em segunda porção duodenal

A - HE versus IH bulbo/5, B - HE versus IH 2 porção bulbo/5, C - HE bulbo/5 versus 2 porção bulbo/5 e D - IH bulbo/5 versus 2 porção bulbo/5

Figura 6 - Abordagem gráfica de Band-Altman para avaliação da concordância entre as diferentes medidas de eosinófilos

O presente estudo também avaliou a concordância entre os métodos HE e IH para contagem de eosinófilos em bulbo/5CGA e 2 porção / 5CGA. A concordância entre os métodos parece baixa pois a diferença média que deveria tender a zero é de -21,08 (IC95%-27,3 a -19,9) para bulbo/5CGA, com coeficiente de correlação intraclass (CCI) de -0,06 (Figura 6A). No caso da 2 porção / 5CGA, um fenômeno semelhante foi observado entre HE

e IH com média da diferença de -25,3 (IC95%-30,7 a -19,8) e CCI de 0,199 (Figura 6B).

O estudo da concordância entre as regiões HE bulbo/5CGA *versus* 2 porção/5CGA e IH bulbo/5CGA *versus* 2 porção/5CGA mostrou-se mais promissor. A diferença média tendeu a zero -0,58 (IC95%-2,2 a 1,0) com CCI de 0,745 no caso HE bulbo/5CGA *versus* 2 porção /5CGA (Figura 6C) e, para IH bulbo/5CGA *versus* 2 porção / 5CGA foi de -6,11 (IC95%-10,6 a -1,5) que embora não tenha tendido a zero apresentou um CCI de 0,662 (Figura 6D).

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Estudos pregressos realizados na Austrália, Estados Unidos, Reino Unido e Suécia demonstraram associação de eosinofilia duodenal nas populações adulta e pediátrica com dispepsia funcional, particularmente nos pacientes com síndrome do desconforto pós-prandial ⁽¹⁷⁾. Porém, não foi possível replicar esses resultados no presente estudo. Todavia, notamos aumento de eosinófilos em bulbo e na segunda porção duodenal, quando avaliados por imuno-histoquímica, em pacientes com dispepsia funcional em relação ao grupo com DRGE.

Um estudo australiano, com resultados similares a outro conduzido no Irã, apontou o tabagismo como fator de risco para eosinofilia duodenal, especialmente nos pacientes com sintomas relacionados à alimentação, como desconforto pós-prandial e saciedade precoce ^(96, 97), fato também constatado em nossa amostra, porém não observamos diferença entre os subgrupos estudados.

Apesar da utilização no presente estudo dos critérios de Roma III para diagnóstico e divisão da dispepsia funcional em subgrupos, em 2016, foi publicado o Roma IV com pequenas mudanças nas definições da síndrome da dor epigástrica e do desconforto pós-prandial, descritos na tabela abaixo ⁽⁴⁾.

Tabela 12 - Critérios Roma III X Roma IV para subgrupos de dispepsia funcional

	Roma III 2006	Roma IV 2016
Síndrome do desconforto pós-prandial	Saciedade precoce ou empachamento pós-prandial $\geq 1x/semana$	Saciedade precoce ou empachamento pós-prandial incômodos $\geq 3x/semana$
Síndrome da dor epigástrica	Dor ou queimação no epigástrico $\geq 1x/semana$	Desconforto, dor ou queimação no epigástrico incômodos $\geq 1x/semana$

Porém, a maior mudança foi a aceitação que pode haver sobreposição com doença do refluxo gastresofágico e síndrome do intestino irritável ⁽⁹⁸⁾. As mudanças ocorridas nos critérios de Roma não alterariam as classificações nos subgrupos da doença dos pacientes incluídos no estudo.

A sobreposição entre DRGE e DF pode ser originária de desordens no mecanismo fisiopatológico comum. Na doença do refluxo, as alterações propostas na geração dos sintomas incluem falência na barreira antirrefluxo devido à redução na pressão do esfíncter inferior do esôfago (EIE) ou relaxamentos transitórios do mesmo, além de atraso no esvaziamento gástrico e alterações nos mecanismos de defesa da mucosa do esôfago ou no clareamento do órgão, promovido pela peristalse esofágica e pelo bicarbonato presente na saliva ⁽⁹⁹⁾.

Desordens na acomodação e esvaziamento gástricos, como observados nos pacientes com dispepsia funcional, podem promover, devido à distensão gástrica, relaxamentos no EIE, provocando refluxo e, conseqüentemente, sintomas como pirose e regurgitação ^(17, 99).

Apesar de Walker e cols (2010) evidenciarem o aumento de eosinófilos mais significativo entre paciente com síndrome do desconforto pós-prandial ⁽⁷¹⁾, o nosso trabalho não demonstrou diferença entre os subgrupos de dispepsia funcional.

Nos últimos anos, evidências epidemiológicas têm relacionado atopia com doenças gastrintestinais como: alergias alimentares; doenças eosinofílicas primárias; distúrbios funcionais; doenças precipitadas pela exposição ao glúten como a doença celíaca, alergia ao glúten e sensibilidade ao glúten não celíaca; doença do refluxo gastroesofágico e doença inflamatória intestinal. Essas associações podem ser explicadas por susceptibilidade genética, mecanismos imunes, padrões de exposição ambiental incluindo contato com antígenos e/ou alérgenos e a diferente composição da microbiota de cada indivíduo ⁽⁸⁰⁾.

Os pacientes com atopia têm risco aumentado de desenvolver distúrbios funcionais ⁽⁸⁰⁾. Um estudo retrospectivo com 7.235 adultos

observou que os sintomas do trato gastrointestinal baixo eram mais comuns em pacientes com asma (9,9%) e rinite alérgica (7,9%) em comparação com os pacientes com outras doenças crônicas (4,9%) ⁽⁶³⁾. Outro estudo demonstrou que a dispepsia era significativamente mais comum em pacientes com asma (21,1%) e rinite alérgica (15,4%), quando comparados aos controles (11,3%) ⁽⁷⁷⁾.

Um estudo realizado no Reino Unido com mais de 23.000 pacientes indicou um aumento na prevalência das doenças atópicas nos pacientes com doenças funcionais do trato gastrointestinal (síndrome do intestino irritável, dispepsia funcional e constipação idiopática), especialmente naqueles com múltiplas desordens funcionais ⁽¹⁰⁰⁾.

O mecanismo imune pode explicar a associação de distúrbios funcionais, como dispepsia funcional, com atopia, pois evidências atuais apontam aumento de eosinófilos na segunda porção duodenal nas duas doenças; além da maior expressão de citocinas pró-alérgicas, como interleucina-5, responsável pela migração, ativação e degranulação dos eosinófilos, nos pacientes com atopia ^(69, 80, 101).

Indivíduos com dispepsia funcional podem apresentar risco aumentado de doenças atópicas, fato observado em dados de prática clínica do Reino Unido ⁽⁶³⁾. A atopia poderia explicar o aumento de eosinófilos no duodeno, como relatado pela primeira vez por Talley em 2007 ⁽⁶⁸⁾. Porém, não observamos em nosso estudo uma associação entre atopia e eosinofilia em todos os pacientes incluídos ou naqueles com dispepsia funcional.

A presença do *H. Pylori* nos pacientes com dispepsia funcional promove aumento da ativação e expressão das células T e da secreção de peptídeos, que atraem os eosinófilos ⁽¹⁰²⁾. Entretanto, nosso estudo demonstrou que a mediana da soma de eosinófilos em 5 campos de grande aumento em bulbo e na segunda porção duodenal é significativamente menor nos pacientes com infecção pela bactéria no grupo com dispepsia funcional.

Neste estudo, a pesquisa do *H. Pylori* foi realizada apenas com fragmentos de grande curvatura de antro e corpo para pesquisa da bactéria na avaliação histopatológica após a coloração com Giemsa. Não foram realizados teste rápido da urease, teste respiratório ou sorologia em nenhum paciente incluído.

No trabalho, cuja coleta foi iniciada no início de 2015, não houve distinção entre os pacientes quanto à infecção pelo *H. Pylori*. Porém, em julho do mesmo ano, foi publicado o consenso de Kyoto que distinguiu a dispepsia funcional da dispepsia relacionada à infecção pela bactéria, se houvesse persistência dos sintomas após seis a doze meses da erradicação da mesma ⁽⁴²⁾.

Optamos por não excluir os pacientes com pesquisa de *H. Pylori* positiva, pois a presença da bactéria em população de alta prevalência, como a brasileira, poderia ser fator importante no quadro de dispepsia funcional, associado ao fato de mantermos o número de pacientes na amostra, seguindo o descrito no cálculo amostral. Além disso, haveria necessidade de nova endoscopia digestiva alta desses pacientes para registro de erradicação da bactéria, associado ao seguimento mínimo de seis meses, o que poderia ser outro fator para perda de participantes.

Este estudo foi bem caracterizado pois excluiu os pacientes que tinham alguma condição clínica ou uso de medicamentos que pudessem aumentar o risco do exame endoscópico ou a eosinofilia periférica e/ou tecidual.

Houve a exclusão de um paciente com estrogiloidíase, pois a presença de parasitose pode ser causa das queixas dispépticas e também promover eosinofilia sanguínea e do trato gastrointestinal. O paciente em questão foi tratado com ivermectina na dose preconizada pela literatura, sendo reavaliado com novo exame parasitológico com resultado negativo. Como não há relatos na literatura de quanto tempo após o tratamento pode ocorrer normalização dos eosinófilos, o mesmo não foi incluído no estudo posteriormente.

Pacientes em uso de medicação biológica para artrite reumatoide foram excluídos, porque sua ação no trato gastrointestinal, especialmente a alteração histológica, é desconhecida.

Os antidepressivos são utilizados no tratamento da dispepsia funcional, portanto influenciariam nas queixas dispépticas. Os usuários desses medicamentos foram excluídos do presente estudo porque o tempo de suspensão necessário para uma avaliação mais fidedigna dos sintomas não é preconizado, aliado à impossibilidade de suspensão do tratamento em alguns pacientes devido a sintomas depressivos.

Muitos pacientes se negaram a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, alegando ausência de interesse em participar da pesquisa, falta de acompanhante para exame endoscópico, custo relacionado ao transporte até o hospital, impossibilidade ou medo de faltar ao trabalho por parte do paciente ou de seu acompanhante, devido ao aumento de demissões ocorridas no período, entre outros motivos.

Algumas limitações do trabalho devem ser apontadas: o tamanho da amostra foi pequeno, que pode influenciar a validade do estudo; todos os pacientes incluídos foram do Estado de São Paulo que têm fatores sociodemográficos muito distintos das outras regiões do país, assim para uma amostra mais fidedigna da população brasileira um estudo multicêntrico envolvendo todas as regiões seria interessante. A análise histopatológica foi realizada apenas por uma patologista com vasta experiência em trato gastrointestinal, o que impediu a avaliação de concordância entre avaliadores.

Nos pacientes com dispepsia funcional, pode haver o recrutamento e ativação tanto de eosinófilos quanto de mastócitos. O sistema nervoso entérico controla principalmente a contratilidade da musculatura lisa do trato gastrointestinal via neurotransmissores de serotonina, o que promove a quimiotaxia de eosinófilos ⁽¹⁰³⁾.

Os mastócitos liberam serotonina que podem induzir a migração de eosinófilos que por sua vez ativam novos mastócitos. Na degranulação dos

eosinófilos, há liberação de proteína básica maior como grânulo predominante, que aumenta diretamente a reatividade da musculatura lisa, cuja contração pode provocar sintomas, especialmente desconforto pós-prandial, além de provocar dismotilidade gástrica. A proteína básica maior também foi implicada na degranulação dos mastócitos e na regulação da plasticidade nervosa periférica que influencia a sensibilidade visceral ^(103, 104).

Apesar da grande quantidade de estudos que mostram que a soma dos eosinófilos em cinco campos de grande aumento tem boa acurácia diagnóstica, com diferença estatística entre pacientes com dispepsia funcional e controles saudáveis, Wang e cols (2015) sugeriram que apenas a contagem dos eosinófilos no duodeno poderia levar a falhas na avaliação dos pacientes ⁽⁸⁹⁾.

Portanto, a contagem de eosinófilos corados com hematoxilina-eosina associada à demonstração da degranulação dos mesmos em bulbo e na segunda porção duodenal, através de imuno-histoquímica, tem boa acurácia para discriminação entre pacientes com dispepsia funcional e controles. Esses pesquisadores especularam que os eosinófilos sofrem extensa degranulação nos pacientes com dispepsia funcional. Assim, a detecção dessas células intactas nos fragmentos de biópsia seria difícil, podendo representar um viés na contagem das mesmas na avaliação por hematoxilina-eosina ⁽⁸⁹⁾. Em nosso estudo, encontramos uma baixa correlação entre as avaliações de eosinófilos nos dois métodos utilizados (hematoxilina eosina e imuno-histoquímica).

Du e cols (2016) compararam eosinofilia duodenal e o grau e degranulação dessas células entre pacientes com dispepsia funcional e controles saudáveis em população chinesa. E, semelhante ao nosso estudo, não houve diferença estatisticamente significativa na contagem de eosinófilos após a coloração com hematoxilina-eosina entre os grupos estudados. Mas, quando avaliada a degranulação dos eosinófilos através de imuno-histoquímica com proteína básica maior, houve um aumento estatisticamente significativo entre os pacientes com dispepsia funcional em

relação aos controles na segunda porção duodenal ($p = 0,003$), mas não em bulbo duodenal ($p = 0,08$) ⁽¹⁰⁴⁾.

Assim é importante, sempre que possível, avaliar a ativação dos eosinófilos através da reação de imuno-histoquímica de seus produtos de degranulação, pois a simples contagem das células após a coloração com hematoxilina-eosina pode não refletir o grau de infiltração e ativação dos mesmos.

Bafutto e cols (2015), em estudo brasileiro, avaliaram a contagem de eosinófilos no duodeno proximal (parede anterior e posterior), após a coloração de hematoxilina-eosina, em paciente com dispepsia funcional segundo critérios de Roma III e compararam com pacientes com dispepsia funcional pós-infecciosa (DF-PI) e controles sadios. Os autores demonstraram aumento da contagem de eosinófilos em paciente com DF e DF-PI quando comparados aos controles sadios ($p=0,03$ e $p=0,0003$, respectivamente), bem como aumento da contagem de eosinófilos duodenais de DF-PI em relação a DF ($p=0,003$), demonstrando que o aumento dessas células pode ter ligação com os quadros pós-infecciosos ⁽¹⁰⁵⁾.

Entretanto Komori e cols (2019) mostraram que a contagem de eosinófilos tende a ser maior nos pacientes com dispepsia funcional que nos controles sintomáticos, porém sem diferença estatística ($p=0,24$). Além disso, demonstraram que a contagem dessas células tende a ser maior no grupo com desconforto pós-prandial do que naqueles com dor epigástrica ($p=0,076$) ⁽⁷⁶⁾.

Apesar dos achados reportados, não demonstramos diferença na contagem de eosinófilos pela hematoxilina-eosina e imuno-histoquímica entre DF e controles. Porém, notou-se uma diferença significativa entre os grupos de DF e DRGE. A causa para essa observação é desconhecida e requer investigação.

Devido à observação de aumento de eosinófilos em pacientes com dispepsia funcional relatado desde 2007 por Talley, algumas suposições

sobre as causas desses achados foram feitas. Um estudo epidemiológico australiano sugeriu que a exposição a animais herbívoros como cavalos estaria associada ao aumento do risco de dispepsia funcional, porque a infestação parasitária observada nesses animais poderia induzir à inflamação eosinofílica no intestino de humanos ⁽⁶⁸⁾. Porém nosso trabalho foi desenvolvido na cidade de São Paulo, área totalmente urbana, cuja exposição a animais e a possíveis infestações parasitárias dos mesmos não acontece, o que difere da amostra australiana obtida em área rural/urbana.

Outras teorias seriam a participação de intolerância ou alergia alimentar, especialmente a trigo, uso de antibióticos e história de gastroenterites ou infestações parasitárias que poderiam modificar o microbioma desses indivíduos. Esses fatores descritos acima poderiam explicar as diferenças regionais na prevalência da doença. Porém, novos estudos são necessários para confirmar essas teorias ^(106, 107).

No nosso estudo tentamos excluir os pacientes com doença celíaca e parasitoses, através de biópsia de segunda porção e parasitológico de fezes. Entretanto, não foram realizadas avaliações específicas de microbioma e questionamentos sobre gastroenterites pregressas ou uso repetido de antibióticos.

O uso de antibióticos aumentou muito nas últimas décadas, o que pode levar a uma alteração importante da microbiota dos indivíduos, podendo ter participação importante no desenvolvimento de várias doenças, incluindo as doenças funcionais. Paula e cols (2015) demonstraram, em estudo de caso-controle desenvolvido na Clínica Mayo dos Estados Unidos, que o uso de antibióticos para infecções fora do trato gastrointestinal foi um fator de risco significativo para o desenvolvimento de sintomas gastrointestinais ⁽¹⁰⁸⁾.

Atualmente são considerados fatores de risco para dispepsia funcional: gastroenterite pós-infecciosa, atopia, possuir animais de estimação herbívoros, exposição a antibióticos, com consequente alteração do microbioma. Observa-se ainda aumento das citocinas circulatórias que

podem promover lentidão no esvaziamento gástrico e possível associação com doenças reumatológicas autoimunes, fato que suporta a ativação do sistema imune em ambas as doenças ⁽¹⁰⁹⁾.

A avaliação histológica de duodeno não faz parte da rotina na investigação de indivíduos com doenças funcionais, como dispepsia funcional, e os fragmentos obtidos por biópsias tanto do bulbo quanto da segunda porção duodenal desses pacientes são aparentemente normais.

Assim, seria necessária uma divulgação entre os patologistas que avaliam as biópsias de trato intestinal para que realizassem a contagem dessas células na avaliação de fragmentos duodenais e as descrevessem nos laudos histopatológicos

O presente estudo demonstrou que a descrição de duodenite nas biópsias de duodeno está relacionada à maior infiltração de eosinófilos nesse segmento, pelo método imuno-histoquímico. Assim, a presença de duodenite pode ser um sinal para a necessidade de contagem dos eosinófilos pelos patologistas nos fragmentos de biópsia.

A contagem de eosinófilos na mucosa duodenal tem sido investigada esporadicamente, principalmente em pacientes pediátricos. Porém, não existe consenso sobre os limites de normalidade nem orientações específicas para diagnóstico de eosinofilia duodenal ^(110, 111). O ponto de corte do número de eosinófilos pode variar com a região geográfica, mas um valor acima de 22 eosinófilos em 5 campos de grande aumento é considerado anormal na literatura ⁽⁶⁸⁾. Contudo, não há um valor determinado para a população brasileira.

A determinação dos mecanismos fisiopatológicos da dispepsia funcional é importante para um melhor entendimento dos sintomas apresentados, bem como as terapias que podem ser utilizadas para controle dos mesmos.

A supressão ácida é a terapia inicial da dispepsia funcional, com uma melhor resposta no subgrupo de síndrome da dor epigástrica. Estudos recentes demonstram que o uso de bloqueador H₂ pode ser mais eficiente

no controle dos sintomas que o inibidor da bomba de prótons, não apenas pela supressão ácida, mas também pela inibição da histamina liberada pelos mastócitos, especialmente se usada a combinação de bloqueadores H_1/H_2 ⁽⁶⁶⁾.

Em contrapartida, os inibidores de bomba de prótons podem inibir a eotaxina, responsável pela migração de eosinófilos para a mucosa do trato gastrointestinal. Assim, esses medicamentos teriam ação tanto no bloqueio ácido quanto na diminuição da infiltração de eosinófilos no duodeno, com consequente diminuição da inflamação local ^(109, 112).

Estudos foram conduzidos com montelukaste, droga utilizada no tratamento da asma e que também promove estabilização de eosinófilos, que se mostrou superior ao placebo no tratamento de crianças com dispepsia funcional e eosinofilia duodenal. Porém, estudos com adultos não estão disponíveis para avaliar a utilização desse medicamento para tratamento efetivo da dispepsia funcional ⁽⁶⁵⁾.

Os tratamentos disponíveis tendem a ser sintomáticos e não curativos. Então, atualmente, a inflamação duodenal e alterações no microbioma são alvos para novas terapias nos estudos clínicos ⁽¹⁰⁹⁾.

A dispepsia funcional é considerada hoje uma doença crônica, porém de comportamento benigno que, apesar de prejudicar a qualidade de vida dos pacientes, não altera a expectativa de vida. Sua apresentação clínica é flutuante, com períodos assintomáticos e outros com recidiva dos sintomas. Um estudo populacional de seguimento desses pacientes sugeriu que 15 a 20% dos pacientes terão sintomas persistentes, cerca de 50% terão resolução do quadro clínico e 30 a 35% terão critérios para outra doença funcional do trato gastrointestinal já que elas podem compartilhar o mesmo mecanismo fisiopatológico e podem se sobrepor ⁽¹¹³⁾.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Concluimos que a contagem de eosinófilos, bem como seus produtos de degranulação, é maior em bulbo e na segunda porção duodenal nos pacientes com dispepsia funcional quando comparados ao grupo com doença do refluxo gastroesofágico. Porém, sem diferença entre esses e os controles assintomáticos. Todavia, os métodos utilizados para avaliação histológica, coloração com hematoxilina-eosina e imuno-histoquímica com proteína básica maior, não têm boa concordância entre eles.

Quando comparados os dois subgrupos de dispepsia funcional, síndrome do desconforto pós-prandial e síndrome da dor epigástrica, não houve diferença significativa entre a contagem de eosinófilos em bulbo ou na segunda porção duodenal.

Observou-se menor infiltração de eosinófilos no duodeno nos pacientes com dispepsia funcional infectados pelo *Helicobacter Pylori* quando comparados àqueles sem infecção, pela avaliação histológica após coloração com hematoxilina-eosina.

A contagem de eosinófilos em segunda porção duodenal mostrou maior mediana entre os tabagistas quando comparados aos não tabagistas, porém sem diferença entre os grupos.

Não se comprovou associação de história de atopia e infiltração de eosinófilos em duodeno, independentemente do método utilizado para avaliação histológica.

Dos sintomas avaliados através do questionário de Leeds, apenas a pirose apresentou correlação negativa com a soma da contagem de eosinófilos em cinco campos de grande aumento em bulbo e na segunda porção duodenal.

A implicação clínica da eosinofilia duodenal deve ser estabelecida, considerando diferenças ambientais, climáticas e genéticas das diferentes populações, para serem considerados biomarcadores da dispepsia funcional, bem como possíveis alvos terapêuticos no tratamento desta doença.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. Wee EWL. Evidence-based approach to dyspepsia: from *Helicobacter pylori* to functional disease. *Postgrad Med*. 2013;125(4):169-80.
2. Lewis BR, Kious B. Organic versus Functional. *Encycl Clin Psychol*. 2015;46(3):1-7.
3. Tack J, Talley NJ. Functional dyspepsia - Symptoms, definitions and validity of the Rome III criteria. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013;10(3):134-41.
4. Stanghellini V, Chan FKL, Hasler WL, Malagelada JR, Suzuki H, Tack J, et al. Gastroduodenal disorders. *Gastroenterology*. 2016;150(6):1380-92.
5. Miwa H, Watari J, Fukui H, Oshima T, Tomita T, Sakurai J, et al. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(SUPPL. 3):53-60.
6. Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology*. 2006 Apr;130(5):1377-90.
7. Xiong LS, Shi Q, Gong XR, Cui Y, Chen MH. The spectra, symptom profiles and overlap of Rome III functional gastrointestinal disorders in a tertiary center in South China. *J Dig Dis*. 2014;15(10):538-44.
8. Enck P. Functional dyspepsia. *Aust Prescr*. 2017;40(6):209-13.
9. Coelho LGV, Marinho JR, Genta R, Ribeiro LT, Passos M do CF, Zaterka S, et al. IVth Brazilian consensus conference on *helicobacter pylori* infection. *Arq Gastroenterol*. 2018;55(2):97-121.

10. Brun R, Kuo B. Review: Functional dyspepsia. *Therap Adv Gastroenterol*. 2010;3(3):145-64.
11. Zagari RM, Law GR, Fuccio L, Cennamo V, Gilthorpe MS, Forman D, et al. Epidemiology of functional dyspepsia and subgroups in the italian general population: an endoscopic study. *Gastroenterology* 2010;138(4):1302-11.
12. Fang YJ, Liou JM, Chen CC, Lee JY, Hsu YC, Chen MJ, et al. Distinct aetiopathogenesis in subgroups of functional dyspepsia according to the Rome III criteria. *Gut*. 2015;64(10):1517-28.
13. Brook RA, Kleinman NL, Choung RS, Melkonian AK, Smeeding JE, Talley NJ. Functional dyspepsia impacts absenteeism and direct and indirect costs. *Clin Gastroenterol Hepatol* . 2010;8(6):498-503.
14. Ford AC, Marwaha A, Sood R, Moayyedi P. Global prevalence of, and risk factors for, uninvestigated dyspepsia: A meta-analysis. *Gut*. 2015;64(7):1049-57.
15. Aro P, Talley NJ, Ronkainen J, Storskrubb T, Vieth M, Johansson SE, et al. Anxiety is associated with uninvestigated and functional dyspepsia (Rome III Criteria) in a Swedish Population-Based Study. *Gastroenterology* . 2009;137(1):94-100.
16. Black CJ, Houghton LA, Ford AC. Insights into the evaluation and management of dyspepsia: recent developments and new guidelines. *Ther Adv Gastroenterol*. 2018;11:1-17.
17. Walker MM, Talley NJ. The role of duodenal inflammation in functional dyspepsia. *J Clin Gastroenterol*. 2017;51(1):12-8.

18. Talley NJ. Functional dyspepsia: New insights into pathogenesis and therapy. *Korean J Intern Med.* 2016;31(3):444-56.
19. El-Serag HB, Talley NJ. Systematic review: The prevalence and clinical course of functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;19(6):643-54.
20. Castillo EJ, Camilleri M, Locke GR, Burton DD, Stephens DA, Geno DM, et al. A community-based, controlled study of the epidemiology and pathophysiology of dyspepsia. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004;2(11):985-96.
21. Ford AC, Forman D, Bailey AG, Axon ATR, Moayyedi P. Initial poor quality of life and new onset of dyspepsia: Results from a longitudinal 10-year follow-up study. *Gut.* 2007;56(3):321-7.
22. Piessevaux H, De Winter B, Louis E, Muls V, De Looze D, Pelckmans P, Deltenre M, Urbain D, Tack J. Dyspeptic symptoms in the general population: a factor and cluster analysis of symptom groupings. *Neurogastroenterol Motil.* 2009 Apr;21(4):378-88.
23. de Oliveira SS, da Silva dos Santos I, da Silva JFP, Machado EC. Prevalence of dyspepsia and associated sociodemographic factors. *Rev Saude Publica.* 2006;40(3):420-7.
24. Faintuch JJ, Silva FM, Navarro-Rodriguez T, Barbuti RC, Hashimoto CL, Rossini ARAL, et al. Endoscopic findings in uninvestigated dyspepsia. *BMC Gastroenterol.* 2014;14(1):19.
25. Hungin APS, Hill C, Raghunath A. Systematic review: Frequency and reasons for consultation for gastro-oesophageal reflux disease and dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;30(4):331-42.

26. Sander GB, Mazzoleni LE, Francesconi CFDM, Balbinotto G, Mazzoleni F, Wortmann AC, et al. Influence of organic and functional dyspepsia on work productivity: The HEROES-DIP study. *Value Heal.* 2011;14(5 Suppl.):S126-9.
27. Moayyedi P, Mason J. Clinical and economic consequences of dyspepsia in the community. *Gut.* 2008;50(Supplement 4):iv10-2.
28. Agréus L, Borgquist L. The cost of gastro-oesophageal reflux disease, dyspepsia and peptic ulcer disease in Sweden. *Pharmacoeconomics.* 2002;20(5):347-55.
29. Camilleri M, Stanghellini V. Current management strategies and emerging treatments for functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* . 2013;10(3):187-94.
30. Lacy BE, Everhart K, Crowell MD. Functional Dyspepsia Is Associated With Sleep Disorders. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2011;9(5):410-4.
31. Choung RS, Talley NJ. Novel mechanisms in functional dyspepsia. *World J Gastroenterol.* 2006;12(5):673.
32. Holtmann G, Siffert W, Haag S, Mueller N, Langkafel M, Senf W, et al. G-Protein $\beta 3$ Subunit 825 CC Genotype Is Associated with Unexplained (Functional) Dyspepsia. *Gastroenterology.* 2004;126(4): 971-9.
33. Miwa H. Why dyspepsia can occur without organic disease: Pathogenesis and management of functional dyspepsia. *J Gastroenterol.* 2012;47(8):862-71.

34. Talley NJ, Choung RS. Whither dyspepsia? A historical perspective of functional dyspepsia, and concepts of pathogenesis and therapy in 2009. *J Gastroenterol Hepatol*. 2009;24:S20-8.
35. Lémann M, Dederding JP, Flourie B, Franchisseur C, Rambaud JC, Jian R. Abnormal perception of visceral pain in response to gastric distension in chronic idiopathic dyspepsia. *Dig Dis Sci*. 1991;36(9):1249-54.
36. Simrén M, Vos R, Janssens J, Tack J. Acid infusion enhances duodenal mechanosensitivity in healthy subjects. *Am J Physiol Liver Physiol*. 2003;285(2):G309-15.
37. Moayyedi P, Soo S, Deeks JJ, Delaney B, Harris A, Innes M, et al. WITHDRAWN: Eradication of *Helicobacter pylori* for non-ulcer dyspepsia. *Cochrane database Syst Rev*. 2011.
38. Mazzoleni LE, Sander GB, Francesconi CF, Mazzoleni F, Uchoa DM, De Bona LR, Milbradt TC, Von Reisswitz PS, Berwanger O, Bressel M, Edelweiss MI, Marini SS, Molina CG, Folador L, Lunkes RP, Heck R, Birkhan OA, Spindler BM, Katz N, Colombo Bda S, Guerrieri PP, Renck LB, Grando E, Hocevar de Moura B, Dahmer FD, Rauber J, Prolla JC. *Helicobacter pylori* eradication in functional dyspepsia: HEROES trial. *Arch Intern Med*. 2011 Nov 28;171(21):1929-36.
39. Suzuki H, Moayyedi P. *Helicobacter pylori* infection in functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013;10(3):168-74.
40. Suzuki H, Nishizawa T, Hibi T. Can *Helicobacter pylori*-associated dyspepsia be categorized as functional dyspepsia? *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(Suppl. 3):42-5.

41. Suzuki H, Matsuzaki J, Hibi T. What is the difference between *Helicobacter pylori*- associated dyspepsia and functional dyspepsia? *J Neurogastroenterol Motil.* 2011;17(2):124-30.
42. Sugano K, Tack J, Kuipers EJ, Graham DY, El-Omar EM, Miura S, et al. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. *Gut.* 2015;64(9):1353-67.
43. Mearin F, Pérez-Oliveras M, Perelló A, Vinyet J, Ibañez A, Coderch J, et al. Dyspepsia and irritable bowel syndrome after a *Salmonella* gastroenteritis outbreak: One-year follow-up cohort study. *Gastroenterology.* 2005;129(1):98-104.
44. Futagami S, Itoh T, Sakamoto C. Systematic review with meta-analysis: Post-infectious functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;41(2):177-88.
45. Tack J, Demedts I, Dehondt G, Caenepeel P, Fischler B, Zandecki M, et al. Clinical and pathophysiological characteristics of acute-onset functional dyspepsia. *Gastroenterology.* 2002;122(7):1738-47.
46. Spiller R. Postinfectious functional dyspepsia and postinfectious irritable bowel syndrome: different symptoms but similar risk factors. *Gastroenterology.* 2010;138(5):1660-3.
47. Ford AC, Thabane M, Collins SM, Moayyedi P, Garg AX, Clark WF, et al. Prevalence of uninvestigated dyspepsia 8 years after a large waterborne outbreak of bacterial dysentery: a cohort study. *Gastroenterology .* 2010;138(5):1727-36.

48. Dizdar V, Gilja OH, Hausken T. Increased visceral sensitivity in Giardia-induced postinfectious irritable bowel syndrome and functional dyspepsia. Effect of the 5HT3- antagonist ondansetron. *Neurogastroenterol Motil.* 2007;19(12):977-82.
49. Gutiérrez RL, Riddle MS, Porter CK. Increased risk of functional gastrointestinal sequelae after *Clostridium difficile* Infection among Active Duty United States Military Personnel (1998-2010). *Gastroenterology* 2015;149(6):1408-14.
50. Zhong L, Shanahan ER, Raj A, Koloski NA, Fletcher L, Morrison M, et al. Dyspepsia and the microbiome: Time to focus on the small intestine. *Gut.* 2017;66(6):1168-9.
51. Jung HK, Talley NJ. Role of the Duodenum in the Pathogenesis of Functional Dyspepsia: A Paradigm Shift. *J Neurogastroenterol Motil.* 2018 Jul 30;24(3):345-354
52. Duncanson KR, Talley NJ, Walker MM, Burrows TL. Food and functional dyspepsia: a systematic review. *J Hum Nutr Diet.* 2018;31(3):390-407.
53. Walker MM, Talley NJ. Review article: Bacteria and pathogenesis of disease in the upper gastrointestinal tract - Beyond the era of *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(8):767-79.
54. Fass R, Naliboff BD, Fass SS, Peleg N, Wendel C, Malagon IB, et al. The effect of auditory stress on perception of intraesophageal acid in patients with gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology.* 2008;134(3):696-705.

55. Geeraerts B, Vandenberghe J, Van Oudenhove L, Gregory LJ, Aziz Q, Dupont P, et al. Influence of experimentally induced anxiety on gastric sensorimotor function in humans. *Gastroenterology*. 2005;129(5):1437-44.
56. Hu WHC, Wong WM, Lam CLK, Lam KF, Hui WM, Lai KC, et al. Anxiety but not depression determines health care-seeking behaviour in Chinese patients with dyspepsia and irritable bowel syndrome: A population-based study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002;16(12):2081-8.
57. Lee IS, Wang H, Chae Y, Preissl H, Enck P. Functional neuroimaging studies in functional dyspepsia patients: A systematic review. *Neurogastroenterol Motil*. 2016;28(6):793-805.
58. Cheung CK, Wu JCY. Role of ghrelin in the pathophysiology of gastrointestinal disease. *Gut Liver*. 2013;7(5):505-12.
59. Shindo T, Futagami S, Hiratsuka T, Horie A, Hamamoto T, Ueki N, et al. Comparison of gastric emptying and plasma ghrelin levels in patients with functional dyspepsia and non-erosive reflux disease. *Digestion*. 2009;79(2):65-72.
60. Ejsskjaer N, Dimcevski G, Wo J, Hellström PM, Gormsen LC, Sarosiek I, et al. Safety and efficacy of ghrelin agonist TZIP-101 in relieving symptoms in patients with diabetic gastroparesis: A randomized, placebo-controlled study. *Neurogastroenterol Motil*. 2010;22(10):1069-78.
61. Ogiso K, Asakawa A, Amitani H, Inui A. Ghrelin: A gut hormonal basis of motility regulation and functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(Suppl. 3):67-72.

62. Lee KJ, Tack J. Duodenal implications in the pathophysiology of functional dyspepsia. *J Neurogastroenterol Motil.* 2010;16(3):251-7.
63. Powell N, Huntley B, Beech T, Knight W, Knight H, Corrigan CJ. Increased prevalence of gastrointestinal symptoms in patients with allergic disease. *Postgrad Med J [Internet].* 2007;83(977):182-6.
64. Friesen CA, Andre L, Garola R, Hodge C, Roberts C. Activated duodenal mucosal eosinophils in children with dyspepsia: a pilot transmission electron microscopic study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr [Internet].* 2002;35(3):329-33.
65. Friesen CA, Kearns GL, Andre L, Neustrom M, Roberts CC, Abdel-Rahman SM. Clinical Efficacy and pharmacokinetics of montelukast in dyspeptic children with duodenal eosinophilia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004;38(3):343-51.
66. Friesen CA, Sandridge L, Andre L, Roberts CC, Abdel-Rahman SM. Mucosal eosinophilia and response to H1/H2 antagonist and cromolyn therapy in pediatric dyspepsia. *Clin Pediatr (Phila).* 2006;45(2):143-7.
67. Friesen CA, Neilan NA, Schurman J V., Taylor DL, Kearns GL, Abdel-Rahman SM. Montelukast in the treatment of duodenal eosinophilia in children with dyspepsia: Effect on eosinophil density and activation in relation to pharmacokinetics. *BMC Gastroenterol.* 2009;9:1-10.
68. Talley NJ, Walker MM, Aro P, Ronkainen J, Storskrubb T, Hindley LA, et al. Non-ulcer dyspepsia and duodenal eosinophilia: an adult endoscopic population-based case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007;5(10):1175-83.

69. Walker MM, Talley NJ. Functional gastrointestinal disorders and the potential role of eosinophils. *Gastroenterol Clin North Am.* 2008;37(2):383-95.
70. Powell N, Walker MM, Talley NJ. Gastrointestinal eosinophils in health, disease and functional disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010;7(3):146-56.
71. Walker MM, Salehian SS, Murray CE, Rajendran A, Hoare JM, Negus R, et al. Implications of eosinophilia in the normal duodenal biopsy - An association with allergy and functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31(11):1229-36.
72. Hua S, Cook D, Walker MM, Talley NJ. Pharmacological treatment of eosinophilic gastrointestinal disorders. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2016;9(9):1195-209.
73. Walker MM, Warwick A, Ung C, Talley NJ. The role of eosinophils and mast cells in intestinal functional disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2011;13(4):323-30.
74. Vanheel H, Vicario M, Vanuytsel T, Van Oudenhove L, Martinez C, Keita À V., et al. Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia. *Gut.* 2014;63(2):262-71.
75. Vanheel H, Farré R. Changes in gastrointestinal tract function and structure in functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2013;10(3):142-9.
76. Komori K, Ihara E, Minoda Y, Ogino H, Sasaki T, Fujiwara M, et al. The altered mucosal barrier function in the duodenum plays a role in the pathogenesis of functional dyspepsia. *Dig Dis Sci.* 2019 jan 23

77. Powell N, Huntley B BT. Upper gastrointestinal symptoms and asthma: a manifestation of allergy? *Gut*. 2008;57(7):1025-6.
78. Johansson SGO, Bieber T, Dahl R, Friedmann PS, Lanier BQ, Lockey RF, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(5):832-6.
79. Linneberg A, Nielsen NH, Madsen F, Frølund L, Dirksen A, Jørgensen T. Increasing prevalence of specific IgE to aeroallergens in an adult population: Two cross-sectional surveys 8 years apart: The Copenhagen allergy study. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(2):247-52.
80. Walker MM, Powell N, Talley NJ. Atopy and the gastrointestinal tract--a review of a common association in unexplained gastrointestinal disease. *Expert Ver Gastroenterol Hepatol*. 2014 Mar;8(3):289-99.
81. GINA. Global strategy for asthma management and prevention. 2012;1-132.
82. Chatkin MN, Menezes AMB. Prevalence and risk factors for asthma in schoolchildren in southern Brazil. *J Pediatr (Rio J)*. 2005;81(5):411-6.
83. Costa DJ, Bousquet PJ, Ryan D, Price D, Demoly P, Brozek J, et al. Guidelines for allergic rhinitis need to be used in primary care. *Prim Care Respir J*. 2009;18(4):250-7.
84. Camelo-Nunes IC, Wandalsen GF, Melo KC, Naspitz CK, Solé D. Prevalência de eczema atópico e sintomas relacionados entre estudantes. *J Pediatr (Rio J)*. 2004;80(1):60-4.

85. Wolter S, Price HN. Atopic dermatitis. *Pediatr Clin North Am*. 2014 Apr;61(2):241-60.
86. Solé D, Wandalsen GF, Camelo-Nunes IC, Naspitz C. Prevalência de sintomas de asma, rinite e eczema atópico entre crianças e adolescentes brasileiros identificados pelo International Study of Asthma and Allergies (ISAAC) - Fase 3. *Rev Chil pediatría*. 2009;79(5):4-10.
87. Vidal C, Gude F, Boquete O, Fernández-Merino MC, Meijide LM, Rey J, et al. Evaluation of the PhadiatopTM test in the diagnosis of allergic sensitization in a general adult population. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2005;15(2):124-30.
88. Ingle SB, Hinge Ingle CR. Eosinophilic gastroenteritis: An unusual type of gastroenteritis. *World J Gastroenterol*. 2013;19(31):5061-6.
89. Wang X, Li X, Ge W, Huang J, Li G, Cong Y, et al. Quantitative evaluation of duodenal eosinophils and mast cells in adult patients with functional dyspepsia. *Ann Diagn Pathol* . 2015;19(2):50-6.
90. Chow SC, Shao J, Wang H, Lokhnygina Y. Sample size calculations in clinical research. New York: Taylor&Francis; 2003. p. 56-57.
91. Senn. S. Statistical issues in drug development. 2nd Edition. New York: John Wiley & Sons; 2007. p. 197.
92. Sole D, Vanna AT, Yamada E, Rizzo MCV, Naspitz CK. International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC) written questionnaire: Validation of the asthma component among Brazilian children. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1998;8(6):376-82.

93. Gracia MP, Mello JF de, Fernandes MDFM, Wandalsen NF. Freqüência de sintomas associados à asma e doenças alérgicas em adultos jovens, na cidade de Santo André, SP. *J Hum Growth Dev.* 2008;18(2):201.
94. WW D. Daniel WW. *Biostatistics: A foundation for analysis in the health sciences.* 10th Edition. New York: John Wiley & Sons; 2013.
95. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies — a review. *Stat Methods Med Res.* 1999;8(2):135-60.
96. Walker MM, Aggarwal KR, Shim LS, Bassan M, Kalantar JS, Weltman MD, et al. Duodenal eosinophilia and early satiety in functional dyspepsia: Confirmation of a positive association in an Australian cohort. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014;29(3):474-9.
97. Esmailzadeh A, Keshteli AH, Tabesh M, Feizi A, Adibi P. Smoking status and prevalence of upper gastrointestinal disorders. *Digestion.* 2014;89(4):282-90.
98. Talley NJ. Functional dyspepsia: advances in diagnosis and therapy. *Gut Liver.* 2017;11(3):349-57.
99. Herregods TVK, Bredenoord AJ, Smout AJPM. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease: New understanding in a new era. *Neurogastroenterol Motil.* 2015;27(9):1202-13.
100. Jones MP, Walker MM, Ford AC, Talley NJ. The overlap of atopy and functional gastrointestinal disorders among 23 471 patients in primary care. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40(4):382-91.

101. Wallaert B, Desreumaux P, Copin MC, Tillie I, Benard A, Colombel JF, Gosselin B, Tonnel AB, Janin A. Immunoreactivity for interleukin 3 and 5 and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor of intestinal mucosa in bronchial asthma. *J Exp Med*. 1995;182(6):1897-904.
102. Kikuchi T, Kato K, Ohara S, Sekine H, Arikawa T, Suzuki T, et al. The relationship between persistent secretion of RANTES and residual infiltration of eosinophils and memory T lymphocytes after *Helicobacter pylori* eradication. *J Pathol*. 2000;192(2):243-50.
103. Walker MM, Talley NJ, Prabhakar M, Pennaneac'H CJ, Aro P, Ronkainen J, et al. Duodenal mastocytosis, eosinophilia and intraepithelial lymphocytosis as possible disease markers in the irritable bowel syndrome and functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;29(7):765-73.
104. Du L, Shen J, Kim JJ, Yu Y, Ma L, Dai N. Increased duodenal eosinophil degranulation in patients with functional dyspepsia: a prospective study. *Sci Rep*. 2016 Oct 6;6:34305. Erratum in: *Sci Rep*. 2017 Apr 07;7:46121.
105. Bafutto M, Oliveira EC, Bafutto AA, Bafutto EHF, Bomfim IC, Filho JR. 977 Duodenal eosinophilia: a link between functional dyspepsia and post-infective functional dyspepsia? *Gastroenterology*. 2015;142(5):S-171.
106. Boettcher E, Crowe SE. Dietary proteins and functional gastrointestinal disorders. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(5):728-36.
107. Koloski NA, Jones M, Weltman M, Kalantar J, Bone C, Gowryshankar A, et al. Identification of early environmental risk factors for irritable bowel syndrome and dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil*. 2015;27(9):1317-25.

108. Paula H, Grover M, Halder SL, Locke GR 3rd, Schleck CD, Zinsmeister AR, Talley NJ. Non-enteric infections, antibiotic use, and risk of development of functional gastrointestinal disorders. *Neurogastroenterol Motil.* 2015 Nov;27(11):1580-6.
109. Fan K, Talley NJ. Functional dyspepsia and duodenal eosinophilia: A new model. *J Dig Dis.* 2017;18(12):667-77.
110. Genta RM, Sonnenberg A, Turner K. Quantification of the duodenal eosinophil content in adults: a necessary step for an evidence-based diagnosis of duodenal eosinophilia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;47(8):1143-50.
111. Kiss Z, Tél B, Farkas N, Garami A, Vincze Á, Bajor J, Sarlós P, Márta K, Erős A, Mikó A, Szakács Z, Pécsi D, Mátrai P, Hegyi P, Veres G. Eosinophil counts in the small intestine and colon of children without apparent gastrointestinal disease: a meta-analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018 Jul;67(1):6-12
112. Molina-Infante J, Rivas MD, Hernandez-Alonso M, Vinagre-Rodríguez G, Mateos-Rodríguez JM, Dueñas-Sadornil C, et al. Proton pump inhibitor-responsive oesophageal eosinophilia correlates with downregulation of eotaxin-3 and Th2 cytokines overexpression. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;40(8):955–65.
113. Talley NJ, Goodsall T, Potter M. Functional dyspepsia. *Aust Prescr.* 2015;40(6):209-13.

8 ANEXOS

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:.....
Documento de identidade:..... Sexo
Data de nascimento
Endereço:
Bairro:..... Cidade.....
CEP:..... Telefone:.....
 2. RESPONSÁVEL LEGAL.....
Natureza do parentesco
Documento de identidade:..... Sexo
Data de nascimento
Endereço:
Bairro:..... Cidade.....
CEP:..... Telefone:.....
-

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **ASSOCIAÇÃO DO AUMENTO DE EOSINÓFILOS EM SEGUNDA PORÇÃO DUODENAL COM DISPEPSIA FUNCIONAL**

2. PESQUISADOR: **Dra. Ivanna Beserra Santos**

CARGO/FUNÇÃO: Médica Gastroenterologista

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL: 136.139

UNIDADE: Disciplina de Gastroenterologia Clínica do Departamento de Gastroenterologia

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	☐	RISCO MÉDIO	☒
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 24 meses

Rubrica do pesquisador

Rubrica do paciente

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - HCFMUSP

1 – Essas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária neste estudo, que objetiva avaliar pacientes com sintomas de azia ou dor de estômago, desconforto após alimentação, empachamento ou retorno de alimentos até a boca após alimentação. Os pacientes devem realizar exames de ultrassonografia de abdome superior, exame de fezes e endoscopia digestiva alta.

2 – Durante o estudo, se você aceitar participar, antes da realização dos exames será feita uma entrevista, para sabermos sobre doenças prévias, uso de medicamentos e história de doença alérgica (asma, rinite e dermatite). Você já deverá ter feito um exame de ultrassonografia de abdome normal, exame de fezes normal e endoscopia digestiva alta sem feridas (lesões ou erosões no esôfago). Será coletado 10 ml de seu sangue para avaliação de doenças alérgicas.

3 – A endoscopia digestiva alta com biópsias será realizada com acompanhante adulto, pois, após o exame, o paciente poderá ficar um pouco sonolento, devido à medicação utilizada. A endoscopia digestiva alta consiste na introdução de tubo flexível pela boca, para avaliação de esôfago, estômago e primeira porção do intestino (intestino delgado). Através do exame, serão retirados pequenos pedaços do esôfago, estômago e duodeno, para contagem de células (eosinófilos) presentes na superfície (mucosa) desses órgãos, realizada pelo patologista (avaliação histológica e imuno-histoquímica). Os exames endoscópicos são seguros, entretanto, como todos os procedimentos médicos, podem ocorrer complicações. Após o exame, o paciente pode apresentar sensação de incômodo na garganta pelo efeito do anestésico tópico e pela passagem do aparelho, pode ocorrer flebite (irritação da veia no local da injeção do medicamento), reações ao sedativo, perfuração ou sangramento nos locais de retirada dos pedaços, que possam necessitar de internação e/ou cirurgia

4 - Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os pesquisadores são **Dra. Ivanna Beserra Santos** ou **Dr. Tomás Navarro Rodriguez** que poderão ser encontrados na Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 – Prédio dos Ambulatórios, 5º andar, Bloco B, Telefone(s) 2661-6442 ramais 8026 e 3336. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br.

5 - É garantido a você a liberdade de deixar de participar do estudo e a retirada de consentimento a qualquer momento, sem qualquer prejuízo à continuação de seu tratamento;

6 – As informações obtidas serão analisadas e não será divulgada a identificação de nenhum paciente. Você tem o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas;

7 – Não há despesas pessoais para os participantes, incluindo exames e consultas. Também não haverá pagamentos relacionados à sua participação;

8 – Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas;

9 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“ASSOCIAÇÃO DO AUMENTO DE EOSINÓFILOS EM SEGUNDA PORÇÃO DUODENAL COM DISPEPSIA FUNCIONAL”**

Eu conversei com **Dra. Ivanna Beserra Santos** sobre a minha decisão em participar deste estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data ____/____/____

Assinatura da testemunha

Data ____/____/____

Para casos de pacientes analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual

(Somente para responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

Rubrica do pesquisador

Rubrica do paciente

QUESTIONÁRIO**Idade:****Tabagismo:****Carga tabágica:****Comorbidades:****Medicamentos em uso:****Escolaridade:****Consumo de álcool:****História de atopia (asma, rinite e eczema):****SINTOMAS****() dor epigástrica****() pirose****() desconforto pós-prandial****() regurgitação****() saciedade precoce****() disfagia****() náuseas****() empachamento****() vômitos****() anorexia**

QUESTIONÁRIO LEEDS SIMPLIFICADO

	Com que frequência você teve um desses sintomas nos últimos 2 meses	Com que frequência esses sintomas interferiram nas suas atividades (alimentação, sono, trabalho, aprendizado) nos últimos 2 meses
Indigestão: desconforto ou dor em andar superior	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente
Pirose: sensação de queimação retroesternal	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente
Regurgitação: gosto ácido em boca proveniente do estômago	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente
Náuseas	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente	☐ nenhuma ☐ menos de 1 X mês ☐ entre 1 X mês e 1 X semana ☐ entre 1 X semana e diariamente ☐ diariamente
Qual desses sintomas mais lhe incomodou nos últimos 2 meses?	☐ Indigestão ☐ Pirose ☐ Regurgitação ☐ Náuseas ☐ Nenhum deles	

QUESTIONÁRIO ISAAC**MÓDULO ASMA****SIM NÃO**

A1. Alguma vez na vida você teve sibilos (chiado no peito)?

☐☐

(Identificar pacientes que já tiveram sintomas atribuíveis à asma)

A2. Nos últimos 12 meses você teve sibilos (chiado no peito)?

☐☐

(Maior sensibilidade para avaliação de frequência de asma ativa, procura evitar erros de memória)

A3. Nos últimos 12 meses quantas crises de sibilos (chiado no peito) você teve?

☐☐

(Quantifica o número de crises de asma no ano)

A4. Nos últimos 12 meses, com que frequência você teve seu sono perturbado por chiado no peito?

☐☐

(Frequência de sibilância recorrente e conceito de crise de asma noturna)

A5. Nos últimos 12 meses seu chiado foi tão forte a ponto de impedir que você conseguisse dizer mais de 2 palavras entre cada respiração?

☐☐

(Avaliar a informação sobre asma aguda grave)

A6. Alguma vez na vida você teve asma?

☐☐

(Avalia a asma diagnosticada por médico)

QUESTIONÁRIO ISAAC**MÓDULO RINITE ALÉRGICA****SIM NÃO**

R1. Alguma vez na vida você teve problemas com espirros ou coriza
(corrimento nasal ou obstrução nasal), quando não estava resfriado ou gripado?
(Identificar pacientes que não sabem que têm rinite)

☐ ☐

R2. Nos últimos 12 meses você teve algum problema com espirros
ou coriza (corrimento nasal ou obstrução nasal), quando não estava resfriado
ou gripado?
(Crise de rinite no último ano)

☐ ☐

R3. Nos últimos 12 meses esse problema nasal foi acompanhado
de lacrimejamento ou coceira nos olhos?
(Avalia possibilidade de rinoconjuntivite)

☐ ☐

R4. Em qual dos últimos 12 meses esse problema nasal ocorreu?
(Quantificar número de crises ao ano e identificar sazonalidade)

☐ ☐

R5. Nos últimos 12 meses quantas vezes suas atividades diárias
foram trapalhadas por esse problema nasal?
(Identificar a gravidade da rinite)

☐ ☐

R6. Alguma vez na vida você teve rinite?
(Avalia a rinite diagnosticada por médico)

☐ ☐

QUESTIONÁRIO ISAAC**MÓDULO ECZEMA**

	SIM	NÃO
E1. Alguma vez na vida você teve manchas com coceira na pele (eczema) que apareciam e desapareciam por pelo menos 6 meses? (Identificar pacientes que não sabem que têm eczema)	☐	☐
E2. Nos últimos 12 meses você teve essas manchas na pele? (Avalia número de episódios em um ano)	☐	☐
E3. Alguma vez essas manchas com coceira afetaram: dobras de cotovelos, atrás dos joelhos, na frente das nádegas ou em volta de pescoço, orelhas ou olhos? (Avalia frequência de eczema flexural)	☐	☐
E4. Alguma vez essas manchas com coceira desapareceram completamente nos últimos 12 meses? (Identifica o tempo de evolução da doença)	☐	☐
E5. Nos últimos 12 meses, quantas vezes, aproximadamente, você ficou acordado à noite por causa dessa coceira na pele? (Identificar a gravidade do eczema)	☐	☐
E6. Alguma vez na vida você teve eczema? (Avalia o eczema diagnosticado por médico)	☐	☐