



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA
OCIDENTAL

Associação entre níveis sanguíneos de vitamina B₁₂, vitamina B₉, contagem de eritrócitos, índices hematimétricos e concentrações séricas de lipídeos em pacientes com refluxo faringo-laríngeo sob uso de inibidores de bomba de prótons

FERNANDO AMBROS RIBEIRO

Orientador: Prof Dr Nilson Penha Silva

Co-Orientador: Prof Dr Romeu Paulo Martins Silva

RIO BRANCO - AC

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA
OCIDENTAL

Associação entre níveis sanguíneos de vitamina B₁₂, vitamina B₉, contagem de eritrócitos, índices hematimétricos e concentrações séricas de lipídeos em pacientes com refluxo faringo-laríngeo sob uso de inibidores de bomba de prótons

FERNANDO AMBROS RIBEIRO

Orientador: Prof Dr Nilson Penha Silva

Co-Orientador: Prof Dr Romeu Paulo Martins Silva

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Acre como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental

RIO BRANCO – AC
2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Sobrenome, nome, ano nascimento -

- Rio Branco: Ano da Defesa

Nº total de folhas:, Nº total de fotos

Nome do Orientador

Dissertação de Mestrado (ou Doutorado) Universidade Federal de Acre. Coordenação de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental.

Inclui Bibliografia

Palavra chave - Teses. 2. Palavra chave - Teses. 3. Palavra Chave - Teses. I. Universidade Federal do Acre. Coordenação de Pós-Graduação em Genética Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental.

PALAVRAS-CHAVE:

Refluxo Faringo-Laríngeo; Inibidor de Bomba de Próton; Vitamina B₉; Vitamina B₁₂; Hemograma; Lipidograma



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA
OCIDENTAL

Associação entre níveis sanguíneos de vitamina B₁₂, vitamina B₉, contagem de eritrócitos, índices hematimétricos e concentrações séricas de lipídeos em pacientes com refluxo faringo-laríngeo sob uso de inibidores de bomba de prótons

Aluno: FERNANDO AMBROS RIBEIRO

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. Nilson Penha Silva (Orientador)
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Examinadores:

Prof. Dr Nilton Ghiotti de Siqueira
Universidade Federal do Acre - UFAC

Prof. Dr Mário da Silva Garrote Filho
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Suplente:

Prof. Dr Wagner de Jesus Pinto
Universidade Federal do Acre – UFAC

Suplente:

Prof. Dr Romeu Paulo Martins Silva
Universidade Federal do Acre – UFAC

RIO BRANCO – / /

Prof. Dr. Nilson Penha Silva

AGRADECIMENTOS

Sinto-me realizado e grato à cada conquista em minha vida, portanto gostaria de agradecer a todos que me auxiliaram e contribuíram para que esta realização se tornasse possível.

Agradeço primeiramente à Deus e ao meu senhor Jesus Cristo, reconheço que sem a sua presença constante em minha vida nada seria possível, portanto recebo esta benção e sou grato por esta conquista.

Ao meu orientador, Professor Doutor Nilson Penha Silva, que apesar da distância sempre se fez presente, seu auxílio constante tornou possível a conclusão deste trabalho, sua disposição e empenho desde o início do nosso projeto até sua finalização demonstra o real significado de um orientador, admiro sua ética, competência e experiência e sou imensamente grato por toda a orientação e dedicação a mim oferecida.

Ao meu co-orientador, Professor Doutor Romeu Paulo Martins Silva, agradeço pelo seu empenho e auxílio, fundamentais para a elaboração e conclusão de nosso trabalho. Sou grato pela sua dedicação e profissionalismo frente ao nosso programa e pós-graduação e em especial, à contribuição em nosso trabalho.

Ao Professor Doutor Mário da Silva Garrote Filho, sou grato pela sua dedicação e colaboração na escrita do trabalho científico e em especial à contribuição com a estatística do estudo, sendo fundamental para a conclusão do mesmo.

Aos membros da minha banca, Professor Doutor Nilton Ghiotti de Siqueira e Professor Doutor Wagner de Jesus Pinto, agradeço pelo tempo dedicado, pela disposição e contribuição no aprimoramento deste trabalho científico.

À minha esposa e futura mestre Rebecca Heidrich Thoen Ribeiro, sou grato por seus auxílios durante todas as fases do trabalho e do curso de pós graduação, sou testemunha do seu empenho e dedicação durante todo este percurso. Tenho o privilégio de compartilharmos juntos desta conquista em nossas vidas, obrigado pela sua disposição e companheirismo.

Aos meus pais, Valmir Gomes Ribeiro e Dilza Teresinha Ambros Ribeiro, sou imensamente grato por todas as oportunidades que me concederam, vocês são os meus exemplos, sou grato por tê-los sempre ao meu lado, pelos conselhos e ensinamentos que me proporcionaram mais esta conquista.

À minha família, Heidrich, Thoen, Ambros, Ribeiro, pela confiança e apoio, seus incentivos foram fundamentais para concluirmos este projeto em nossas vidas.

Aos meus amigos, pela amizade e incentivo, aos colegas de mestrado pelo companheirismo, em especial à futura mestre Brunna Crystynne Souza Leão, pela dedicação e contribuição durante a elaboração de nosso trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Análises Clínicas da Fundação Hospitalar do Acre, pela dedicação e disposição, fundamentais para tornar possível a realização deste trabalho e pelo atendimento sempre prestativo aos nossos pacientes.

Por fim agradeço aos nossos pacientes, pela disposição e participação em nosso trabalho, proporcionando assim que os conhecimentos e resultados obtidos possam contribuir e beneficiar à outros pacientes. Obrigado por esta consciência nobre que nos remete ao sentimento de amor ao próximo.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo analisar em pacientes com diagnóstico de refluxo faringo-laríngeo (LPR) a relação do uso de inibidor de bomba de próton (PPI) com os níveis de vitaminas B₉ e B₁₂ e os perfis hematológico e lipídico no início e aos três e seis meses de tratamento com duas doses diárias de 40 mg de Omeprazol (80 mg ou dose plena). A amostra foi constituída por 23 pacientes com diagnóstico de refluxo faringo-laríngeo atendidos no ambulatório de otorrinolaringologia em Rio Branco de dezembro de 2016 a fevereiro de 2017. O uso de PPI ao longo de seis meses levou à diminuição significativa na contagem de eritrócitos (RBC), a qual foi associada à elevação nos valores de volume corpuscular médio (MCV) e de hemoglobina corpuscular média (MCH), o que significa tendência ao desenvolvimento de anemia macrocítica. Entretanto, como nem o declínio na contagem de RBC e nem as elevações nos valores de MCV e de MCH foram associados a menores níveis sanguíneos de vitaminas B₉ e B₁₂, a tendência ao desenvolvimento de anemia macrocítica, no presente estudo, não demonstrou associação com a redução nos níveis sanguíneos dessas vitaminas. Pelo contrário, uma elevação nos níveis plasmáticos de vitamina B₁₂ foi observada após seis meses de tratamento, o que contradiz alguns estudos da literatura e deve exigir um maior período de acompanhamento para eliminação de possíveis fatores de confusão, como a insuficiência do tempo de tratamento.

Palavras-chave: Refluxo Faringo-Laríngeo; Inibidor de Bomba de Próton; Vitamina B₉; Vitamina B₁₂; Hemograma; Lipidograma

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the relationship between the use of proton pump inhibitors (PPI) with vitamin B₉ and B₁₂ levels and hematological and lipid profiles in patients with laryngopharyngeal reflux (LPR) at baseline and at three and six months of treatment with two daily doses of 40 mg Omeprazole (80 mg or full dose). The sample consisted of 23 patients with diagnostic suspicion of laryngopharyngeal reflux seen at the otorhinolaryngology outpatient clinic in Rio Branco from December 2016 to February 2017. The use of PPI over the course of six months led to a significant decrease in erythrocyte counts (RBC), which was associated with elevation in mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH), which means a tendency to develop macrocytic anemia. However, as neither the decline in RBC count nor the elevations in MCV and MCH values were associated with lower blood levels of vitamins B₉ and B₁₂, this means that the tendency to develop macrocytic anemia, in the present study, was not associated with a decrease in blood levels from these vitamins. In contrast, a rise in plasma levels of vitamin B₁₂ was observed after six months of treatment, which contradicts some studies in the literature and should require a longer period of follow-up to eliminate possible confounding factors, such as insufficient treatment time.

Key-words: Laryngopharyngeal reflux; Proton pump inhibitors; Vitamin B₉; Vitamin B₁₂; Hemogram; Lipidogram

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	1
2	OBJETIVOS	2
2.1	Objetivo Geral	2
2.2	Objetivo Específico	2
3	CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1	Refluxo faringo-laríngeo	3
3.2	Obesidade e sobrepeso: correlações com o refluxo faringo-laríngeo e a dislipidemia	5
3.3	Farmacologia dos inibidores de bomba de prótons	6
3.4	Deficiência de vitamina B ₁₂	7
3.5	Anemia e metabolismo do ferro	8
3.6	Homocisteína e folato	9
4	REFERÊNCIAS	10
5	CAPÍTULO II - ARTIGO CIENTÍFICO	15

1 APRESENTAÇÃO

Esta dissertação está estruturada da seguinte forma: inicialmente apresentam-se os objetivos do estudo. Subsequentemente seguem os capítulos: capítulo I onde encontra-se uma revisão de literatura atualizada sobre a temática abordada; capítulo II onde encontra-se o manuscrito do artigo científico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste estudo é analisar e correlacionar os níveis sanguíneos de vitamina B₁₂, vitamina B₉, contagem de eritrócitos, índices hematimétricos e concentrações séricas de lipídeos em pacientes com refluxo faringo-laríngeo sob uso de inibidores de bomba de prótons.

2.2 Objetivo Específico

1. Analisar a existência de associações entre as variáveis estudadas.

3 CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Refluxo faringo-laríngeo

O refluxo faringo-laríngeo (LPR) encontra-se atualmente entre os principais motivos de consulta médica com o otorrinolaringologista (1). Estima-se que até 15 % das visitas ao otorrinolaringologista podem ser relacionadas ao LPR (2). O LPR é definido com o fluxo retrógrado de conteúdo estomacal para a laringe e faringe, entrando este material em contato com o trato aerodigestivo superior (3).

Dentre os sintomas associados encontram-se o *globus* faríngeo (sensação de “bolo” na garganta), disfagia, tosse crônica e outros distúrbios de vias aéreas (1). Os métodos diagnósticos mais amplamente utilizados em pacientes com suspeita de LPR são a videolaringoscopia e pHmetria (4), porém não se possui atualmente um exame padrão ouro para o seu diagnóstico. Dentre os sinais atribuídos ao LPR à videolaringoscopia, podemos citar: edema e eritema de laringe, granulomas e úlceras de contato, pólipos, estenose subglótica, tumores e hiperplasia linfoide da parede posterior da faringe (4).

Na pHmetria de 24h duplo canal, dois sensores em um cateter são posicionados respectivamente acima do esfíncter esofageano superior, na altura do músculo cricofaríngeo e o outro, cinco centímetros acima do esfíncter esofageano inferior, a medida da pressão dos esfíncteres é realizada através de um manômetro inserido da cavidade nasal ao esôfago (5, 6). Os sensores da pHmetria avaliam durante um período de 24h a presença de refluxo de ácido estomacal no esôfago e faringe, sendo utilizado principalmente nos casos de dúvida diagnóstica e para avaliar a efetividade do tratamento (7, 8).

Pesquisa realizada com 2000 otorrinos demonstrou que eritema e edema de laringe são os sinais mais frequentemente encontrados e utilizados para diagnosticar pacientes sintomáticos (9). Quando persiste dúvida no diagnóstico, a pHmetria de 24 horas duplo canal pode ser utilizada; entretanto, há muita variabilidade nos métodos de teste e falta de consenso na definição do pH anormal (10). Além disso, a pHmetria demonstrou fraca relação com a severidade dos sinais e sintomas nos pacientes (11) e, mesmo sendo útil no diagnóstico, não é considerada padrão ouro para o mesmo (12, 13).

Considerando a baixa especificidade do exame laringoscópico e a baixa sensibilidade da pHmetria, o método mais aceito e utilizado na prática clínica para sugerir o diagnóstico de LPR é o tratamento empírico com Inibidor de Bomba de Próton (PPI) (10, 14). Usualmente utiliza-se para o tratamento do LPR, doses plenas de PPIs, devido à estes serem os inibidores de secreção gástricas mais potentes da atualidade (15).

O tratamento empírico consiste no uso de PPI duas vezes por dia por 2–3 meses (16). Paralelo à medicação, é comprovado que modificações de estilo de vida, tais como mudanças na dieta, perda de peso, cessação de tabagismo e não comer imediatamente antes de deitar auxiliam no tratamento e sintomatologia do LPR (17). Alguns alimentos são relacionados com a exacerbação dos sintomas de LPR, tais como o café, álcool, chocolate, frutas cítricas e frituras (18)

Recomenda-se em pacientes portadores de LPR uma dieta com baixo teor ácido e baixo teor de gorduras, sendo demonstrado resultado positivo nos sintomas após cerca de duas semanas (19). O objetivo é instituir uma alimentação que a longo prazo irá minimizar os efeitos do LPR, reduzindo os sintomas e a necessidade de uso diário e a longo prazo de PPI, evitando seus possíveis efeitos colaterais (19).

Pacientes portadores de LPR possuem mecanismos fisiopatológicos, manifestações e sintomas diferentes de pacientes com Doença do Refluxo Gastro-Esofágico (GERD) (20, 21). Uma das características principais é que os pacientes portadores de LPR não costumam apresentar sintomas de pirose e sinais de esofagite à endoscopia digestiva alta (22). Dentre os mecanismos fisiopatológicos podemos citar como principais diferenças: pacientes portadores de LPR possuem uma maior quantidade de refluxo no período diurno, o período de exposição ao conteúdo ácido é menor do que no GERD, o defeito primário encontrado em pacientes com LPR costuma ser na motilidade do esfíncter esofageano superior, enquanto no GERD o mais acometido é o esfíncter esofageano inferior (23). Deve-se porém considerar que alguns pacientes podem apresentar a associação dos mecanismos e sintomas, quando apresentar LPR e GERD concomitantes (24).

Em contraste com os pacientes com (GERD), a resposta ao tratamento empírico com PPI em pacientes com LPR é variável (25), em parte porque o LPR exige um tratamento mais agressivo e prolongado que a GERD (26), em função dos tecidos da laringe e faringe apresentarem pouca proteção contra o ácido gástrico e pepsina (27). Apesar de a maioria dos pacientes apresentar alguma melhora após 3

meses de tratamento, a resolução dos sintomas e melhora dos achados laríngeos geralmente ocorre após 6 meses (3, 28).

3.2 Obesidade e sobrepeso: correlações com o refluxo faringo-laríngeo e a dislipidemia

A associação entre LPR e o sobrepeso e obesidade pode ser explicada por diferentes mecanismos, dentre eles o aumento das pressões intra-abdominais(29), o comprometimento do esvaziamento gástrico(30), a redução da pressão do esfíncter esofágico inferior e o aumento da frequência de relaxamento do esfíncter transitório(31, 32), mecanismos estes que promovem um aumento da exposição ácida no esôfago e conseqüentemente na faringe e laringe.

Nos pacientes obesos, a compressão gástrica extrínseca pelo tecido adiposo circundante ocasiona um aumento nas pressões intragástricas resultando no relaxamento do esfíncter esofágico inferior(33-35). Estudos sugerem que o excesso de peso e a obesidade são fatores de risco para doenças esofágicas relacionadas ao ácido(33-35). Wilson e colaboradores demonstraram que a obesidade era associada com a esofagite, sendo portanto recomendável a perda de peso em pacientes obesos que possuam sintomas relacionados ao LPR (36).

Devido à presença demonstrada em alguns estudos de uma correlação positiva entre GERD e dislipidemia (37, 38), recomenda-se o controle do peso e um adequado perfil lipídico em pacientes portadores de GERD e LPR (39). A hipercolesterolemia é freqüentemente encontrada em pacientes com obesidade, de modo que o nível médio de colesterol sérico é significativamente maior em indivíduos com sobrepeso do que em pacientes eutróficos, demonstrando uma correlação significativa entre colesterol sérico e obesidade(40, 41). Estudos demonstram correlação positiva entre a produção de colesterol e o excesso de peso corporal, sendo que a redução de peso tende a normalizar efetivamente a sua produção(42, 43)

Estudo com 52 pacientes portadores de GERD demonstrou que a redução do peso corporal após modificações de estilo de vida, educação alimentar e acompanhamento multidisciplinar, proporcionou aos pacientes uma melhor qualidade de vida e redução dos sintomas (44). Devido à dislipidemia ser considerada um fator

de risco para doenças coronarianas e hipertensão(45) , recomenda-se a redução do peso corporal naqueles pacientes que encontram-se em sobrepeso ou obesidade, devido à esta redução ser relacionada à uma diminuição na síntese de colesterol e consequentemente promover redução no nível de colesterol plasmático em pacientes com sobrepeso(46, 47).

3.3 Farmacologia dos inibidores de bomba de prótons

A estimulação da bomba de próton H^+,K^+ -Adenosina TriFosfatase (H^+,K^+ -ATPase ou bomba de prótons) constitui a etapa final da secreção ácida (48). A inibição de bomba de prótons pelos PPIs se dá pela inibição da enzima ATPase e pelo consequente bloqueio da secreção de HCl pelas células parietais da mucosa gástrica (49). Eles não somente previnem a via aérea superior da exposição ao ácido, como também reduzem o dano resultante da atividade enzimática da pepsina, a qual necessita de um meio ácido para sua ativação (50).

A bomba de prótons, através da ação da enzima ATPase, secreta íons de hidrogênio no lúmen gástrico em troca de íons de potássio (51). A enzima realiza a troca do próton citoplasmático pelo K^+ extracelular (51).

Os PPIs acumulam-se nos canalículos secretores ácidos da célula parietal, onde são ativados por um processo catalisado por prótons, o que resulta na formação de uma sulfenamida tiofílica ou ácido sulfênico (52). Essa forma ativada reage por meio de ligação covalente com o grupo sulfidril de cisteínas do domínio extracelular da H^+,K^+ -ATPase, as quais são essenciais para a inibição da produção ácida (52). O resultado é a inibição irreversível da secreção ácida da bomba de prótons (52).

A meia vida plasmática dos PPIs varia em torno de 1 a 2 horas, e o efeito sobre a secreção ácida pode durar até 24 horas, até que ocorra a síntese de nova enzima (53). Todo o potencial inibidor do ácido pode levar até 3 a 4 dias (53). Os PPIs são metabolizados no fígado pela enzima CYP450 (54).

Devido à sua eficácia e segurança, os PPIs encontram-se atualmente entre os medicamentos mais prescritos mundialmente (55). Geralmente causam poucos efeitos adversos, sendo os mais comuns: flatulência, diarreia, dores de cabeça, constipação e náuseas. (55) Apesar destas drogas serem consideradas seguras e serem aprovadas para uso a longo prazo, alguns questionamentos sobre a segurança

do uso a longo prazo têm sido levantados (55, 56). Considera-se uso a curto prazo o período entre quatro a oito semanas e longo prazo a partir de oito semanas de uso (57). Dentre os possíveis efeitos colaterais ao uso de PPI podem-se citar as deficiências vitamínicas, minerais e a anemia (55, 56, 58).

3.4 Deficiência de vitamina B₁₂

Estudos demonstram que o uso crônico de PPI diminui a absorção da vitamina B₁₂ (57, 59). Até mesmo o uso a curto prazo de PPI demonstrou diminuir a absorção de vitamina B₁₂ em condições experimentais (58-60). Estudo de caso-controle demonstrou um risco relativo para deficiência de vitamina B₁₂ em pacientes em uso de PPI durante um período menor de 12 meses de 1.03, enquanto que nos pacientes em uso por mais de 12 meses este risco foi de 4.46 (61). Associação dose dependente também foi observada, onde maiores doses de PPI foram associadas mais fortemente à deficiência de vitamina B₁₂ (62).

Supõe-se que o uso crônico de PPI associe-se à deficiência de B₁₂ de duas formas: primeiro, pela diminuição da acidez gástrica e conseqüente interferência na liberação da B₁₂ das proteínas no estômago; segundo pelo aumento do pH gástrico facilitar o crescimento de bactérias no intestino, interferindo na absorção da mesma (63). Entretanto, apesar dos possíveis efeitos adversos, não se contraindica atualmente o uso de PPI em pacientes com sintomas presentes e indicação de uso (62).

A deficiência de vitamina B₁₂ pode resultar em problemas hematológicos e neurológicos (64). É classicamente associada à anemia megaloblástica e alterações neuropsiquiátricas como parestesias, depressão, psicose e confusão mental (64). A deficiência de vitamina B₁₂ eleva os níveis sanguíneos do ácido metilmalônico e da homocisteína (65). Desta forma, quando há deficiência de vitamina B₁₂ ocorre uma interrupção na metilação ou remetilação da homocisteína, ocasionando uma hiperhomocisteinemia (66). Recentemente estes parâmetros têm sido utilizados para acessar alterações subclínicas antes mesmo da constatação de decréscimo na vitamina B₁₂ sérica (65).

3.5 Anemia e metabolismo do ferro

O Ferro é um componente essencial para a formação da molécula heme e participa na composição de diversas proteínas (67). Na forma de hemoproteína é fundamental para o transporte de oxigênio, geração de energia celular e detoxificação (67). O Ferro heme e o ferro não heme são obtidos através da dieta (68). Alguns fatores favorecem a absorção intestinal do ferro, como a acidez e a presença de agentes solubilizantes, como açúcares (67).

A absorção do ferro ocorre no epitélio duodenal superior, que possui estruturas vilosas necessárias para ampliar a superfície de absorção (67). Para que ocorra esta absorção o ferro férrico (Fe^{3+}) necessita ser convertido para ferro ferroso (Fe^{2+}), esta conversão ocorre mediada pela redutase citocromo b duodenal (Dcytb), sendo posteriormente transportado pela proteína transportadora de metal divalente (DMT-1) para sua captação e internalização no enterócito (69).

A transferrina é uma glicoproteína responsável pelo transporte do ferro absorvido nos enterócitos ao plasma, visando suprir as necessidades teciduais (70). O complexo ferro-transferrina, ligado ao receptor, adentra a célula por endocitose (70). A redução do pH nas vesículas endocíticas libera o íon férrico da transferrina (70).

Questionários de frequência de consumo alimentar podem ser utilizados para inferir o consumo alimentar em pesquisas populacionais (71). A absorção do ferro não heme encontra-se aumentada quando na presença do ácido gástrico (68), pois a acidez facilita esta absorção ao auxiliar no processo de conversão do Fe^{3+} para o Fe^{2+} (72). Estudos têm demonstrado que a hiposecreção de ácido gástrico associa-se com uma redução na absorção de ferro (73).

O uso de PPIs por prazo de 12 meses foi associado com redução de hemoglobina e hematócrito em comparação com grupo controle (74). Considera-se portanto a anemia uma possível consequência em paciente em uso de PPIs (74). Atualmente existem poucos estudos na literatura que relatem esta associação entre anemia e redução de ferro sérico associados ao uso de PPI (8). Além da anemia relacionada a redução da absorção do ferro, (74) a anemia megaloblástica, relacionada à deficiência de vitamina B_{12} , também pode estar presente em pacientes em uso de PPI (64).

3.6 Homocisteína e folato

A dislipidemia é reconhecidamente um fator de risco para doenças coronarianas, aterosclerose e outras doenças cardiovasculares (45, 75, 76). A presença de índices séricos anormais de homocisteína e folato (vitamina B₉) correlacionam-se também, com o aumento do risco de doenças cardiovasculares (77, 78).

Estudo clínico realizado na China em 2015, demonstrou que a suplementação de folato reduziu de forma eficiente o nível sérico de homocisteína, reduzindo portanto o risco de doença vascular cerebral (79). Estes achados sugerem que há uma correlação inerente entre o folato, a homocisteína e o perfil lipídico (79). Índices plasmáticos elevados de homocisteína foram sugeridos como fatores indutores na biossíntese de colesterol hepático e acúmulo lipídico (80). Outros estudos demonstraram a redução dos níveis séricos de lipídeos em paciente com terapia nutricional associada à reposição de folato (81, 82).

Níveis elevados de LDL-colesterol se relacionam com risco aumentado de se desenvolver doença vascular aterosclerótica(76). O HDL-colesterol possui efeito benéfico para a prevenção de doença aterosclerótica e inflamatória vascular(76). A presença de altos níveis de folato se relacionou com redução no nível sérico de LDL-colesterol e aumento de HDL-colesterol (83)

4 REFERÊNCIAS

1. Koufman JA, Aviv JE, Casiano RR, Shaw GY. Laryngopharyngeal reflux: position statement of the committee on speech, voice, and swallowing disorders of the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;127:32-5.
2. Vaezi MF. Laryngitis: from the gastroenterologist's point of view. *Extraesophageal reflux.* San Diego: Plural; 2009. p. 37-47.
3. Ford CN. Evaluation and management of laryngopharyngeal reflux. *JAMA.* 2005;1534-40.
4. Hicks DM, Ours TM, Abelson TI. The prevalence of hypopharynx findings associated with gastroesophageal reflux in normal volunteers. *J Voice.* 2002;654-79.
5. Postma GN. Ambulatory pH monitoring methodology. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl.* 2000;184:10-4.
6. Vincent DAJ, Garret JD, Radionoff SL, Reussner LA, Stasney CR. The proximal probe in esophageal pH monitoring: development of a normative database. *J Voice.* 2000;14:247-54.
7. Yates PD, Pryde A, Maher L, Heading RC, Wilson JA. Pattern of ambulatory pharyngo-oesophageal motility and pHmetry in healthy volunteers. *Clin Otolaryngol.* 2001;26:113-6.
8. Eubanks TR, Omelanczuk PE, Maronian N, Hillel A, Pellegrini CA. Pharyngeal pH monitoring in 222 patients with suspected laryngeal reflux. *J Gastrointest Surg.* 2001;5:183-90.
9. Ahmed TF, Khandwala F, Abelson TI. Chronic laryngitis associated with gastroesophageal reflux: prospective assesment of differences in practice patterns between gastroenterologists and ENT physitians. *Am J Gastroenterol.* 2006:470-8.
10. Abou-Ismael A, Vaezi MF. Evaluation of Patients with Suspected Laryngopharyngeal Reflux: A Practical Approach. *Curr Gastroenterol Rep.* 2011:213-8.
11. Noordzij JP, Khidr A, Desper E, Meek RB, Reibel JF, Levine PA. Correlation of pH probe-measured laryngopharyngeal reflux with symptoms and signs of reflux laryngitis. *Laryngoscope.* 2002:2192-5.
12. Jacob P, Kahrilas PJ, Herzon G. Proximal esophageal pH-metry in patients with 'reflux laryngitis'. *Gastroenterology.* 1991:305-10.
13. Ahmed T, Vaezi MF. The role of PH monitoring in extraesophageal gastroesophageal reflux disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am.* 2005:319-31.
14. Sataloff RT, Hawkshaw MJ, Gupta R. Laryngopharyngeal reflux and voice disorders: an overview on disease mechanisms, treatments, and research advances. *Discov Med.* 2010:213-24.
15. Song H, Zhu J, Lu D. Long term proton pump inhibitor use and the development of gastric (pre) malignant lesions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;12:106-23.
16. Kahrilas PJ, Shaheen NJ, Vaezi MF. American Gastroenterological Association Institute technical review on the manegement of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology.* 2008:1392-413.
17. Steward DL, Wilson KM, Kelly DH. Proton pump inhibitor therapy for chronic laryngo-pharyngitis: a randomized placebo-control trial. *Otolayngol Head and Neck Surg.* 2004:342-50.
18. Roman S, Kahrilas PJ. Overview of gastroesophageal reflux disease treatments. *Practical Manual of Gastroesophageal Reflux Dis.* 2013:53-68.
19. Jamie A, Koufman MD. Low-Acid Diet for Recalcitrant Laryngopharyngeal Reflux: Therapeutic Benefits and Their Implications. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology.* 2011;120(5):281-7.

20. Postma GN, Tomek MA, Belafsky PC. Esophageal reflux disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110(11):14-6.
21. Ossakow SJ, Elta G, Colturi T. Esophageal reflux and dysmotility as the basis for persistent cervical symptoms. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1987;96:387-92.
22. Belafsky PC, Postma GN, Koufman JA. Transnasal esophagoscopy (TNE). *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2001;125:588-9.
23. Karim ST, Daniel GT, Emir D. Long-term outcomes after transoral incisionless fundoplication in patients with GERD and LPR symptoms. *Surg Endosc*. 2012;26(3):650-60.
24. Valentin B, Romina D, Simone G, Simon N, Roland M, Dieter S. New aspects in the pathomechanism and diagnosis of the laryngopharyngeal reflux-clinical impact of laryngeal proton pumps and pharyngeal pH metry in extraesophageal reflux disease. *World J Gastroenterol*. 2015;21(3):982-7.
25. Vaezi MF, Hicks DM, Abelson TI, Richter JE. Laryngeal signs and symptoms and gastroesophageal reflux disease (GERD): a critical assesment of cause and effect association. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2003:333-44.
26. Park W, Hicks DM, Khandwala F. Laryngopharyngeal reflux: prospective cohort study evaluating optimal dose of proton-pump inhibitor therapy and pretherapy predictors of response. *Laryngoscope*. 2005:1230-8.
27. Koufman JA. The otolaryngologic manifestations of gastroesophageal reflux disease (GERD): a clinical investigation of 225 patients using ambulatory 24-hour pH monitoring and an experimental investigation of the role of acid and pepsin in the development of laryngeal injury. *Laryngoscope*. 1991;101(53):1-78.
28. Bove MJ, Rosen C. Diagnosis and management of laryngopharyngeal reflux disease. *Curr Opin Otolaryngol Head and Neck Surg*. 2006:116-23.
29. Barak NE, ED; Harrison, JR; Sitrin, MD. Gastro-oesophageal reflux disease in obesity: pathophysiological and therapeutic considerations. *Obes Rev*. 2002;3:9-15.
30. Maddox AH, M; Wishart, J; Collins, P. Gastric and oesophageal emptying in obesity. *Scand J Gastroenterol*. 1989;24:593-8.
31. O'Brien TJ. Lower esophageal sphincter pressure (LESP) and esophageal function in obese humans. *J Clin Gastroenterol*. 1980;2:145-8.
32. Orlando R. Overview of the mechanisms of gastroesophageal reflux. *Am J Med*. 2001;111(8):174-7.
33. Mercer CR, C; Hanelin, L; Hill, LD. Effect of obesity on esophageal transit. *Am J Surg*. 1985;149:177-81.
34. Mercer CW, SF; DaCosta, LR; Beck, IT. Lower esophageal sphincter pressure and gastroesophageal pressure gradients in excessively obese patients. *J Med*. 1987;18:135-46.
35. Zacchi PM, F; Humbert, P; Formiguera, X; Malagelada, JR. Effect of obesity on gastroesophageal resistance to flow in man. *Dig Dis Sci*. 1991;36:1473-80.
36. Wilson LM, W; Hirschowitz, BI. Association of obesity with hiatal hernia and esophagitis. *Am J Gastroenterol*. 1999;94:2840-4.
37. Gudlaugsdottir S, Verschuren W, Dees J, Wilson J. Hypertension is frequently present in patients with reflux esophagitis or Barret's esophagus but not in those with non-ulcer dyspepsia. *Eur J Intern Med*. 2002;13:369-75.
38. Song HJ, Shim KN, Yoon SJ, Kim SE, Oh HJ, Ryu KH, et al. The prevalence and clinical characteristics of reflux esophagitis in koreans and its possible relation to metabolic syndrome. *J Korean Med Sci*. 2009;24(2):197-202.
39. Hampel H, Abraham NS, El-Seraq HB. Meta-analysis: obesity and the risk of gastroesophageal reflux disease and its complications. *Ann Intern Med*. 2005;143(3):199-211.
40. Tanner J. The relation between serum cholesterol and physique in healthy young men. *J Physiol*. 2001;115:371.

41. Montoye HE, FH; Kjelsberg, MO. Relationship between serum cholesterol and body fatness. *Amer J Clin Nutr.* 2000;18:397.
42. Nestel PW, HM; Goodman, De WS. Distribution and turnover of cholesterol in humans. *J Clin Invest.* 2005;48:982.
43. Miettinen T. Enhanced cholesterol metabolism in obesity. *Scand J Clin Lab Invest.* 2001;25:28.
44. Yadlapati R, Pandolfino JE, Alexeeva O, Gregory DL, Craven MR, Liebovitz D, et al. The Reflux improvement and monitoring (TRIM) program is associated with symptom improvement and weight reduction for patients with obesity and gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol.* 2017;152(5):216-20.
45. Di Angelantonio E, Gao P, Pennells L, Kaptoge S, Caslake M, Thompson A, et al. Emerging Risk Factors: Lipid-related markers and cardiovascular disease prediction. *JAMA.* 2012;307:2499-506.
46. Epstein FF, T JR; Hayner, NS; Johnson, BC; Kjelsberg, MO; Napier, JA; Ostrander, LD JR; Payne, NW; Dodge, HJ. relevance of chronic diseases and distribution of selected physiologic variables in a total community, Tecumseh, Michigan. *Amer J Epidem.* 2001;81:307.
47. Lewis LO, F; Page, IH; Lawry, EY; Mann, GV; Stare, FJ; Haning, M; Lauffer, MA; Gordon, T; Moore, FE. Serum lipid levels in normal persons: Findings of a cooperative study of lipoproteins and atherosclerosis. *Circulation.* 1997;16:227.
48. Aihara T, Nakamura E, Amagase K, Tomita K, Fujishita T, Furutani K, et al. Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present, and future. *Pharmacol Ther.* 2003;98:109-27.
49. Savarino V, Di Mario F, Scarpignato C. Proton pump inhibitors in GORD: an overview of their pharmacology, efficacy and safety. *Pharmacol Res.* 2009;59:135-53.
50. Dobhan R, Castell DO. Normal and abnormal proximal esophageal acid exposure: results of ambulatory dual-probe pH monitoring. *Am J Gastroenterol.* 1993:25-9.
51. Shin JM, Munson K, Vagin O, Sachs G. The gastric H⁺, K⁺-ATPase: structure, function, and inhibition. *Pflugers Arch.* in press.
52. Jai MS, George S. Pharmacology of proton pump inhibitors. *Curr Gastroenterol Rep.* 2008;10(6):528-34.
53. Ralph-Steven W, Henning B. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors: An Update. *Drug Saf.* 2014;37(4):201-11.
54. Andersson T, Cederberg C, Edvardsson G, Heggelund A, Lundborg P. Effect of omeprazole treatment on diazepam plasma levels in slow versus normal rapid metabolizers of omeprazole. *Clin Pharmacol Ther.* 1990;47:79-85.
55. Ali T, Roberts DN, Tierney WM. Long-term Safety Concerns with Proton Pump Inhibitors. *Am J Med.* 2009;122(10):896-903.
56. Garnett WR. Considerations for long-term use of proton-pump inhibitors. *Am J Health Syst Pharm.* 1998;55:2268-79.
57. Termanini B, Gibril F, Sutliff VE, Yu F, Venzon DJ, Jensen RT. Effect of long-term gastric acid suppressive therapy on serum vitamin B12 levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome. *Am J Med.* 1998;104:422-30.
58. Schenk BE, Festen HP, Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Meuwissen SG. Effect of short- and long-term treatment with omeprazole on the absorption and serum levels of cobalamin. *Aliment Pharmacol Ther.* 1996;10(4):541-5.
59. Marcuard SP, Albernaz L, Khazanie PG. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann Intern Med.* 1994;120:211-5.

60. Saltzman JR, Kemp JA, Golner BB, Pedrosa MC, Dallal GE, Russell RM. Effect of hypochlorhydria due to omeprazole treatment or atrophic gastritis on protein-bound vitamin B12 absorption. *J Am Coll Nutr.* 1994;13(6):584-91.
61. Valuck R, Ruscin J. A case-control study on adverse effects: H2 blocker or proton pump inhibitor use and risk of vitamin B12 deficiency in older adults. *J Clin Epi.* 2004;57:422-8.
62. Lam JR, Schneider JL, Zhao W, Corley DA. Proton pump inhibitor and histamine 2 receptor antagonist use and vitamin B12 deficiency. *JAMA.* 2013;310:2435-42.
63. Abraham NS. Proton pump inhibitors: potential adverse effects. *Curr Opin Gastroenterol.* 2002;28:615-20.
64. Langan RC, Zawistoski KJ. Update on vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician.* 2011;83:1425-30.
65. Hirschowitz BI, Worthington J, Mohnen J. Vitamin B12 deficiency in hypersecretors during long-term acid suppression with proton pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008;27:1110-21.
66. Osip A, Kisielewski J, Dorszewska J, Rybakowski J. Homocysteine and cognitive functions in bipolar depression. *Psychiatria Polska.* 2014;48(6):1117-26.
67. Manuel M, Isabel V, Jose AG. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol.* 2009;15(37):4617-26.
68. Conrad ME, Schade SG. Ascorbic acid chelates in iron absorption: a role for hydrochloric acid and bile. *Gastroenterology.* 1968;55:35-45.
69. Chung J, Wessling R. Molecular mechanisms and regulation of iron transport. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2003;40(2):151-82.
70. Conrad ME, Umbreit JN. Iron absorption and transport-an update. *Am J Hematol.* 2000;64(4):287-98.
71. Ribeiro AC, Savio KEOR, M L C F, Costa THM, Schmitz BAS. Validação de um questionário de frequência de consumo alimentar para população adulta. *Rev Nutr.* 2006;19(5):553-62.
72. Bezwoda W, Charlton R, Bothwell T, Torrance J, Mayet F. The importance of gastric hydrochloric acid in the absorption of nonheme food iron. *J Clin Gastroenterol CrossRef.* 2000;30:29-33.
73. Cook JD, Brown GM, Valberg LS. The effect of achylia gastrica on iron absorption. *J Clin Invest.* 1964;43:1185-91.
74. Sarzynski E, Puttarajappa C, Xie Y, Grover M, Laird-Fick H. Association Between Proton Pump Inhibitor Use and Anemia: A Retrospective Cohort Study. *Digestive Diseases and Sciences.* 2011;56(8):2349-53.
75. Pisciotta L, Bertolini S, Pende A. Lipoproteins, stroke and statins. *Curr Vasc Pharmacol Res.* 2015;13:202-8.
76. Shao B, Heinecke JW. HDL, lipid peroxidation, and atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2009;50:599-601.
77. Verhaar MC, Stroes E, Rabelink TJ. Foliates and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:6-13.
78. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med.* 1998;49:31-62.
79. Huo Y, Li J, Qin X, Huang Y, Wang X, Gottesman RF, et al. Efficacy of folic acid therapy in primary prevention of stroke among adults with hypertension in China: the CSPPT randomized clinical trial. *JAMA.* 2015;313:1325-35.
80. Woo CW, Siow YL, Pierce GN, Choy PC, Minuk GY, Mymin D, et al. Hyperhomocysteinemia induces hepatic cholesterol biosynthesis and lipid accumulation via activation of transcription factors. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288:E1002-10.

81. Lim HJ, Choi YM, Choue R. Dietary intervention with emphasis on folate intake reduces serum lipids but not plasma homocysteine levels in hyperlipidemic patients. *Nutr Res.* 2008;28:767-74.
82. Mohammadian Z, Eidi A, Mortazavi P, Tavangar MM, Asghari A. Effects of folic acid on dyslipidemia and serum homocysteine in a rat model of cholestasis and hepatic fibrosis. *Pol J Pathol.* 2015;66:49-56.
83. Semmler A, Moskau S, Grigull A, Farmand S, Klockgether T, Smulders Y, et al. Plasma folate levels are associated with the lipoprotein profile: a retrospective database analysis. *Nutr J.* 2010;9:31.

5 CAPÍTULO II - ARTIGO CIENTÍFICO

Associação entre níveis sanguíneos de vitamina B₁₂, vitamina B₉, hemograma e lipidograma em pacientes com refluxo faringo-laríngeo sob uso de inibidores de bomba de prótons

Fernando Ambros Ribeiro¹, Rebecca Heidrich Thoen Ribeiro¹, Romeu Paulo Martins Silva¹, Miguel Júnior Sordi Bortolini¹, Mario da Silva Garrote-Filho², Nilson Penha-Silva²

¹Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

²Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil

Resumo

Este estudo teve por objetivo analisar em pacientes com diagnóstico de refluxo faringo-laríngeo (LPR) a relação do uso de inibidor de bomba de próton (PPI) com os níveis de vitaminas B₉ e B₁₂ e os perfis hematológico e lipídico no início e aos três e seis meses de tratamento com duas doses diárias de 40 mg de Omeprazol (80 mg ou dose plena). A amostra foi constituída por 23 pacientes com suspeita diagnóstica de refluxo faringo-laríngeo atendidos no ambulatório de otorrinolaringologia em Rio Branco de dezembro de 2016 a fevereiro de 2017. O uso de PPI ao longo de seis meses levou à diminuição significativa na contagem de eritrócitos (RBC), a qual foi associada à elevação nos valores de volume corpuscular médio (MCV) e de hemoglobina corpuscular média (MCH), o que significa tendência ao desenvolvimento de anemia macrocítica. Entretanto, como nem o declínio na contagem de RBC e nem as elevações nos valores de MCV e de MCH foram associados a menores níveis sanguíneos de vitaminas B₉ e B₁₂, a tendência ao desenvolvimento de anemia macrocítica, no presente estudo, não demonstrou associação com a redução nos níveis sanguíneos dessas vitaminas. Pelo contrário, uma elevação nos níveis plasmáticos de vitamina B₁₂ foi observada após seis meses de tratamento, o que contradiz alguns estudos da literatura e deve exigir um maior período de acompanhamento para eliminação de possíveis fatores de confusão, como a insuficiência do tempo de tratamento.

Usar subscrito para os números

Não é necessário especificar a data no resumo. Pode ser incluído em Material e métodos

Palavras-chave: Refluxo Faringo-Laríngeo; Inibidor de Bomba de Próton; Vitamina B₉; Vitamina B₁₂; Hemograma; Lipidograma

Introdução

O refluxo faringo-laríngeo (LPR) encontra-se atualmente entre os principais motivos de consulta médica com o otorrinolaringologista (1). Estima-se que até 15% das consultas destinadas ao otorrinolaringologista sejam relacionadas ao LPR (2).

A introdução está bem escrita, mas poderia ser mais breve, mais focada nos aspectos do LPR de fato abordados pela pesquisa. Atualmente as revistas pedem e valorizam introduções mais curtas, pois se um leitor quer se aprofundar no assunto o ideal é que leia um artigo de revisão

O LPR pode ser definido como o fluxo retrógrado de conteúdo estomacal para a laringe e faringe, de modo que esse material entra em contato com o trato aerodigestivo superior (3). Como sintomas associados, destacam-se o *globus* faríngeo (sensação de “bolo” na garganta), a disfagia, tosse crônica e outros distúrbios de vias aéreas (1).

Fatores associados à persistência e manutenção dos sintomas do LPR incluem o sobrepeso e a obesidade. Esta associação pode ser explicada por diferentes mecanismos: aumento da pressão intra-abdominal (4); comprometimento do esvaziamento gástrico (5); redução da pressão do esfíncter esofágico inferior; aumento da frequência de relaxamento do esfíncter transitório (6, 7). Com isto há aumento da exposição ácida no esôfago e, conseqüentemente, na faringe e laringe.

Dentre os métodos diagnósticos utilizados na prática clínica para sugerir a presença de LPR, o mais aceito atualmente é o tratamento empírico com Inibidor de Bomba de Próton (PPI) (8, 9), pois são os mais potentes inibidores de secreção gástrica da atualidade (10). Esses inibidores previnem o contato do ácido com a via aérea superior e reduzem o dano resultante da atividade enzimática da pepsina, já que essa enzima necessita de um meio ácido para sua ativação (11). O

exame laringoscópico e a pHmetria, apesar de ainda serem utilizados para sugerir o diagnóstico de LPR, possuem baixa especificidade e sensibilidade, respectivamente. Isso reforça a importância do uso de PPI como opção diagnóstica.

Além da medicação, é comprovado que modificações de estilo de vida, como mudanças na dieta, perda de peso, cessação de tabagismo e não comer imediatamente antes de deitar auxiliam no tratamento e sintomatologia do LPR (12). Usualmente, utiliza-se para o tratamento doses plenas de PPI, duas vezes por dia (13). A maioria dos pacientes apresentam alguma melhora após 3 meses de tratamento. Porém, a resolução dos sintomas e melhora dos achados laríngeos geralmente ocorrem após 6 meses de tratamento (3, 14).

Devido à sua eficácia, os PPIs encontram-se atualmente entre os medicamentos mais prescritos mundialmente (15), porém questionamentos sobre a sua segurança têm sido levantados, dentre eles podem-se citar as possíveis associações com deficiências vitamínicas, minerais e anemia (15-17).

Estudos revelaram uma diminuição da absorção da vitamina B₁₂ em pacientes em uso crônico de PPI (18, 19). Em condições experimentais, mostrou-se que isso acontece mesmo à curto prazo (17, 18, 20). Além disso, esse processo é dose-dependente (21). A deficiência de vitamina B₁₂ pode resultar em problemas hematológicos, como anemia megaloblástica e também neurológicos, como parestesias, depressão, psicose e confusão mental (22, 23).

A anemia pode ser considerada uma potencial consequência em paciente em uso de PPI, conforme revela estudo em que essa substância foi usada por 12 meses, onde se encontrou diminuição de hemoglobina e hematócrito em comparação com grupo controle (24). Além disso, atualmente existem poucos estudos na literatura que relatem anemia por diminuição de ferro sérico devido ao uso de PPI (8). Dessa forma, o uso de PPI poderia resultar tanto em anemia megaloblástica como em anemia ferropriva. É interessante observar que esses dois tipos de anemias apresentam características opostas, como macrocitose e microcitose, respectivamente (22, 23).

O objetivo deste estudo é analisar em pacientes com diagnóstico de LPR a relação do uso de PPI com os níveis de vitamina B₁₂, vitamina B₉ e os perfis hematológico e lipídico no início e aos três e seis meses de tratamento.

Material e Métodos

Amostra

A amostra foi constituída por pacientes com suspeita diagnóstica de refluxo faringo-laríngeo e tratados com PPI. Os pacientes foram atendidos no ambulatório de otorrinolaringologia do Hospital das Clínicas da cidade de Rio Branco, Estado do Acre, Brasil. Este hospital trata-se de uma instituição pública ligada ao sistema único de saúde vigente no Brasil, sendo a referência no Estado para todos os pacientes encaminhados para avaliação otorrinolaringológica. Os atendimentos foram de dezembro de 2016 a fevereiro de 2017.

Além de apresentarem LPR e serem usuários de PPI, outros critérios de inclusão foram: ser maiores de 18 anos e ter realizado exame de videolaringoscopia com sinais de refluxo faringo-laríngeo e sintomas clínicos presentes.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal do Acre sob parecer número 1.918.908. Os indivíduos elegíveis assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

Avaliações hematológicas e terapia

Os pacientes realizaram os seguintes exames laboratoriais: hemograma, lipidograma e dosagem de vitamina B₁₂ e vitamina B₉. Iniciaram tratamento com duas doses diárias de 40 mg de Omeprazol (80 mg ou dose plena). **Ao final de 3 e 6 meses de tratamento, os mesmos exames foram feitos novamente.** O hemograma foi realizado por impedância elétrica em analisador Abbot-Cell-Dyn 3700 (Abbott Diagnostics Division, Mountain View, CA, EUA). O lipidograma e a dosagem de vitamina B₁₂ foram realizados eletroquimioluminescência em analisador Roche Cobas 6000 e601 (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, EUA).

Especificar com clareza os três momentos em que as coletas foram feitas e o intervalo de tempo entre eles.

Análise de dados

Os dados foram analisados com a utilização do software SPSS 22 (IBM Corporation, Chicago, IL, EUA). Quando os dados de uma variável analisada apresentavam distribuição normal, sem violação da esfericidade, eles foram comparados com a utilização de ANOVA para medidas repetidas. Quando os dados de uma variável não apresentavam distribuição normal em que pelo menos um dos momentos do estudo, eles foram comparados com a utilização da ANOVA de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon e aplicação da correção de Bonferroni.

O ideal é que o software estatístico seja mencionado por último

Para a construção da matriz de correlação, os três momentos para cada variável foram reunidos em uma única coluna. Foi gerada separadamente uma matriz de Pearson e uma de Spearman. Essas matrizes foram posteriormente agrupadas em uma única matriz, tendo sido preservados os valores da matriz de Pearson ou de Spearman, quando ambas as variáveis apresentavam distribuição normal ou quando pelo menos uma das variáveis não apresentava distribuição normal, respectivamente.

Resultados e Discussão

Dos 23 participantes do estudo, 20 eram do sexo feminino e **03 do sexo masculino**, sendo 51.5 (38.5-59) anos a mediana (Q1-Q3) de idade. Os valores das variáveis analisadas antes e depois de 3 e seis meses de tratamento com IBP são apresentadas na Tabela 1.

Pode ser que o revisor de alguma revista implique com o fato de se ter tido apenas 3 indivíduos do sexo masculino. Uma possibilidade seria refazer as análises estatísticas sem esses indivíduos

Uma diminuição significativa ($p=0.036$) da quantidade de eritrócitos (RBC) é observada entre os momentos 2 (4.69 ± 0.09) e 3 (4.56 ± 0.08). Esta redução da contagem de eritrócitos corrobora com dados da literatura quanto desenvolvimento de anemia em pacientes que tomam PPI (24). A menor secreção de ácido gástrico, decorrente do uso de PPI, resultaria em menor absorção de ferro e diminuição da eritropoiese (25). Isto é muito relevante e demonstra a necessidade de se fazer monitoração hematológica de pacientes sob uso de PPI a médio ou longo prazo.

Entretanto, entre os diferentes momentos do estudo nenhuma diferença significativa foi observada na quantidade de hemoglobina (Hb) e nos valores de hematócrito (Ht), apesar de terem sido observadas correlações dessas variáveis com RBC (Tabela 2). A inexistência de diferença nos valores de Hb e Ht entre os 3 momentos estudados pode ter sido devida à insuficiência no tempo total de duração desse estudo, que foi de apenas 6 meses. **Novos estudos com maior tempo de acompanhamento e com um número maior de participantes podem ser necessários para melhor avaliar estas variáveis.**

Ficaria melhor em limitações do estudo

O volume corpuscular médio (MCV) apresentou um aumento significativo ($p = 0.049$) entre os momentos 2 (86.51 ± 0.86) e 3 (88.81 ± 0.86) do estudo. O mesmo foi encontrado para o MCH (28.68 ± 0.39 e 29.53 ± 0.33 , respectivamente). Isto evidencia a ocorrência de tendência à apresentação de macrocitose durante o estudo, o que poderia ser decorrente à deficiência de vitaminas B₉ e/ou B₁₂ reportada em pacientes sob uso de PPI (18, 19, 22, 23). O uso crônico de PPI foi associado à deficiência de vitamina B₁₂ em decorrência da diminuição da acidez gástrica, por prejudicar a liberação da vitamina a partir dos alimentos e/ou por promover a proliferação de bactérias que dificultariam a absorção dessa vitamina pelo organismo humano (22, 26).

Entretanto, paradoxalmente, os níveis de vitamina B₁₂ aumentaram significativamente entre o momento inicial e após 6 meses de estudo, sem correspondente alteração nos níveis de vitamina B₉, embora as análises de correlação tenham associado o aumento dos níveis de vitamina B₁₂ a aumento nos níveis de vitamina B₉, como seria esperado (27).

Apesar do declínio observado nas contagens de RBC ao longo do estudo (Tabela 1) não ter sido associada a alterações nos níveis sanguíneos de vitamina B₁₂, a diminuição nas contagens de RBC foi associada a aumentos nos valores de MCV e de MCH (Tabela 2). Isso associa a tendência à anemia observada neste estudo à tendência à macrocitose, ou seja, o uso de PPI estaria levando à anemia macrocítica, o que neste trabalho não pôde ser vinculado aos menores níveis sanguíneos de vitaminas B₉ e B₁₂ (Tabela 1 e Tabela 2) reportados em pacientes sob uso de PPI (22, 23). A natureza fraca destas correlações pode ser decorrente de uma tendência concomitante à microcitose, provavelmente por redução na absorção do ferro, sendo esta característica também reportada em pacientes sob uso de PPI (24).

É possível que a ausência de vinculação do uso de PPI à deficiência de vitamina B₁₂ no presente trabalho seja decorrente à limitação do tempo de estudo, pois alguns autores mostraram que a deficiência de vitamina B₁₂ em pacientes que usam PPI pode levar anos para se desenvolver, principalmente em paciente com níveis normais de vitamina B₁₂ ao início do tratamento, de tal forma que em tratamento em curto prazo pode não chegar a ocorrer deficiência de vitamina B₁₂ (28).

Entretanto, o aumento na concentração sérica de vitamina B₁₂, reportada no presente estudo, mesmo que os valores tenham se preservado dentro do limite da faixa de referência considerada normal, contradiz os resultados reportados na literatura (18, 19, 22, 23, 28). É possível que a origem dessa discrepância seja decorrente da falta de comunicação ao médico de alterações na dieta, utilização de suplementos vitamínicos e mesmo a interrupção do uso do PPI após melhora dos sintomas, diante de uma amostra com dimensão pouco robusta.

Na tentativa de tentar encontrar possíveis fatores que possam ter contribuído para a tendência de ocorrência de anemia macrocítica associada ao uso de PPI, é importante inspecionar outras associações observadas entre MCV e MCH, especialmente.

Neste sentido, chamam atenção as correlações fortes de MCV e MCH com Ht e Hb (Tabela 2), as quais refletem apenas o fato de MCV e MCH serem índices calculados a partir de Hb e Ht, sem maiores implicações.

Chama também atenção a correlação negativa observada entre MCV e RDW, porém também sem maior significado, uma vez que RDW é uma variável definida a partir da variabilidade dos valores de MCV.

Por outro lado, a associação significativa, porém fraca, do aumento nos níveis de MCV com a diminuição nos níveis de HDL-C (Tabela 2) faz sentido, à luz das funções dessa lipoproteína. Como a HDL retira excesso de colesterol do próprio eritrócito, isso deve significar que as células vermelhas circulantes não têm excesso de colesterol para ser transferido para a HDL, o que ocorre tipicamente quando há aumento na taxa de reticulócitos na circulação sanguínea (29), o que normalmente está associado a elevação nos valores de MCV (30), o que ocorreu no presente estudo em decorrência do tratamento com PPI, embora a causa mais provável de elevação no MCV esteja associada à deficiência de vitaminas B₉ e ou B₁₂ (23), o que não ocorreu no presente estudo.

Embora a obesidade seja frequentemente associada à hipercolesterolemia (31, 32) e por isso a redução de peso corporal seja usualmente recomendada a pacientes com sobrepeso ou obesos com hipercolesterolemia (33, 34), as variações nos níveis sanguíneos de colesterol nem sempre têm implicações deletérias. Sob a influência de elevação na produção de reticulócitos, um aumento de LDL-C está associado a elevação da estabilidade osmótica de células vermelhas, com melhora na sua deformabilidade e diminuição na variabilidade de formas assumidas pelos eritrócitos (35). É possível que sob estas circunstâncias, esta seja a razão pela qual o aumento nos níveis de LDL-C tenha sido associado à diminuição nos valores de RDW (Tabela 2).

Limitações do estudo

Infelizmente não foram avaliadas diversas variáveis que ajudariam a explicar os resultados. Citar também a não obtenção dos valores de RDW no momento inicial da pesquisa. Dentre elas se destacam os níveis de ferro sérico e de ferritina. Outras variáveis importantes que poderiam ter sido avaliadas incluem: acidemia e gasometria sanguínea, contagem de reticulócitos, glicemia, e bilirrubina direta e indireta. Além disso, a proporção de homens em relação às mulheres era praticamente insignificante. O ideal é que essa proporção fosse mais próxima, de modo que se pudesse avaliar um possível efeito do sexo. Além disso, mulheres, em especial no período fértil, passam por mudanças hormonais que podem interferir nos resultados, em especial das variáveis hematológicas; por isso, a identificação da quantidade de mulheres que já tenham alcançado a menopausa seria importante para análise da população.

Conclusão

O uso de PPI ao longo de seis meses levou à diminuição na contagem de RBC e um aumento nos valores de MCV, MCH e vitamina B₁₂. Não se evidenciou redução nos níveis de vitamina B₉. A elevação nos níveis plasmáticos de vitamina B₁₂ contradiz o demonstrado em alguns estudos da literatura, recomendando um maior período de acompanhamento dos pacientes estudados para a eliminação de possíveis fatores de confusão.

Referências

1. Koufman JA, Aviv JE, Casiano RR, Shaw GY. Laryngopharyngeal reflux: position statement of the committee on speech, voice, and swallowing disorders of the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;127:32–5.
2. Vaezi MF. Laryngitis: from the gastroenterologist's point of view. *Extracapsular reflux.* San Diego: Plural; 2009. p. 37-47.
3. Ford CN. Evaluation and management of laryngopharyngeal reflux. *JAMA.* 2005;1534-40.
4. Barak NE, ED; Harrison, JR; Sitrin, MD. Gastro-oesophageal reflux disease in obesity: pathophysiological and therapeutic considerations. *Obes Rev.* 2002;3:9-15.
5. Maddox AH, M; Wishart, J; Collins, P. Gastric and oesophageal emptying in obesity. *Scand J Gastroenterol.* 1989;24:593-8.
6. O'Brien TJ. Lower esophageal sphincter pressure (LESP) and esophageal function in obese humans. *J Clin Gastroenterol.* 1980;2:145-8.
7. Orlando R. Overview of the mechanisms of gastroesophageal reflux. *Am J Med.* 2001;111(8):174-7.
8. Abou-Ismaïl A, Vaezi MF. Evaluation of Patients with Suspected Laryngopharyngeal Reflux: A Practical Approach. *Curr Gastroenterol Rep.* 2011:213-8.
9. Sataloff RT, Hawkshaw MJ, Gupta R. Laryngopharyngeal reflux and voice disorders: an overview on disease mechanisms, treatments, and research advances. *Discov Med.* 2010:213-24.
10. Song H, Zhu J, Lu D. Long term proton pump inhibitor use and the development of gastric (pre) malignant lesions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;12:106-23.
11. Dobhan R, Castell DO. Normal and abnormal proximal esophageal acid exposure: results of ambulatory dual-probe pH monitoring. *Am J Gastroenterol.* 1993:25-9.
12. Steward DL, Wilson KM, Kelly DH. Proton pump inhibitor therapy for chronic laryngo-pharyngitis: a randomized placebo-control trial. *Otolaryngol Head and Neck Surg.* 2004:342-50.
13. Kahrilas PJ, Shaheen NJ, Vaezi MF. American Gastroenterological Association Institute technical review on the management of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology.* 2008:1392-413.
14. Bove MJ, Rosen C. Diagnosis and management of laryngopharyngeal reflux disease. *Curr Opin Otolaryngol Head and Neck Surg.* 2006:116-23.
15. Ali T, Roberts DN, Tierney WM. Long-term Safety Concerns with Proton Pump Inhibitors. *Am J Med.* 2009;122(10):896-903.
16. Garnett WR. Considerations for long-term use of proton-pump inhibitors. *Am J Health Syst Pharm.* 1998;55:2268-79.
17. Schenk BE, Festen HP, Kuipers EJ, Klinkenberg-Knol EC, Meuwissen SG. Effect of short- and long-term treatment with omeprazole on the absorption and serum levels of cobalamin. *Aliment Pharmacol Ther.* 1996;10(4):541-5.
18. Marcuard SP, Albernaz L, Khazanie PG. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann Intern Med.* 1994;120:211-5.
19. Termanini B, Gibril F, Sutliff VE, Yu F, Venzon DJ, Jensen RT. Effect of long-term gastric acid suppressive therapy on serum vitamin B12 levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome. *Am J Med.* 1998;104:422-30.
20. Saltzman JR, Kemp JA, Golner BB, Pedrosa MC, Dallal GE, Russell RM. Effect of hypochlorhydria due to omeprazole treatment or atrophic gastritis on protein-bound vitamin B12 absorption. *J Am Coll Nutr.* 1994;13(6):584-91.
21. Lam JR, Schneider JL, Zhao W, Corley DA. Proton pump inhibitor and histamine 2 receptor antagonist use and vitamin B12 deficiency. *JAMA.* 2013;310:2435-42.
22. Linder L, Tamboue C, Clements, JN. Drug-Induced Vitamin B12 Deficiency: A focus on Proton Pump Inhibitors and Histamine-2 Antagonists. *J Pharm Pract.* 2017;30(6):639-642.

23. Langan RC, Zawistoski KJ. Update on vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician*. 2011;83:1425-30.
24. Sarzynski E, Puttarajappa C, Xie Y, Grover M, Laird-Fick H. Association Between Proton Pump Inhibitor Use and Anemia: A Retrospective Cohort Study. *Digestive Diseases and Sciences*. 2011;56(8):2349-53.
25. Cook JD, Brown GM, Valberg LS. The effect of achylia gastrica on iron absorption. *J Clin Invest*. 1964;43:1185-91.
26. Abraham NS. Proton pump inhibitors: potential adverse effects. *Curr Opin Gastroenterol*. 2002;28:615-20.
27. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Folate and Vitamin B-12 status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(1):193-200.
28. den Elzen WP, Groeneveld Y, de Ruijter W, Souverijijn JH, le Cessie S, Assendelf WJ. Long-term use of proton pump inhibitors and vitamin B12 status in elderly individuals. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008;15(27):491-7.
29. Meurs I, Hoekstra M, van Wanrooij EJ, Hildebrand RB, Kuiper J, Kuipers F, et al. HDL cholesterol levels are an important factor for determining the lifespan of erythrocytes. *Exp Hematol*. 2005;33(11):1309-19.
30. Lippi G, Sanchis-Gomar F, Danese E, Montagnana M. Association of red blood cell distribution width with plasma lipids in a general population of unselected outpatients. *Kardiol Pol*. 2013;71(9):931-6.
31. Tanner J. The relation between serum cholesterol and physique in healthy young men. *J Physiol*. 2001;115:371.
32. Montoye HE, FH; Kjelsberg, MO. Relationship between serum cholesterol and body fatness. *Amer J Clin Nutr*. 2000;18:397.
33. Epstein FF, T JR; Hayner, NS; Johnson, BC; Kjelsberg, MO; Napier, JA; Ostrander, LD JR; Payne, NW; Dodge, HJ. relevance of chronic diseases and distribution of selected physiologic variables in a total community, Tecumseh, Michigan. *Amer J Epidem*. 2001;81:307.
34. Lewis LO, F; Page, IH; Lawry, EY; Mann, GV; Stare, FJ; Haning, M; Lauffer, MA; Gordon, T; Moore, FE. Serum lipid levels in normal persons: Findings of a cooperative study of lipoproteins and atherosclerosis. *Circulation*. 1997;16:227.
35. Tziakas D, Chalikias G, Grapsa A, Gioka T, Tentis I, Konstantinides S. Red blood cell distribution width: a strong prognostic marker in cardiovascular disease: is associated with cholesterol content of erythrocyte membrane. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2012;51(4):243-54.

Tabela 1. Características de base e níveis de variáveis hematológicas, lipídicas e de vitaminas B₉ e B₁₂ nos outros momentos do estudo

	Reference Range	Baseline	3 Months Later	6 Months Later
Age (years)	-	51.5 (38.5 - 59)	51.5 (38.5 - 59)	51.5 (38.5 - 59)
Height (m)	-	1.55 (1.52 - 1.6)	1.55 (1.52 - 1.6)	1.55 (1.52 - 1.6)
Weight (kg)	-	67.8 ± 2.39	66.8 ± 2.47	66.52 ± 2.27
RBC	M(4.5-6.1) F(3.9-5.4) milhões	4.68 ± 0.1	4.69 ± 0.09*	4.56 ± 0.08*
Hb	M(12.8-16.3) F(11.3-14.5) g/dL	13 (12.6 - 14.4)	13.2 (12.6 - 14.3)	13.1 (12.7 - 14.3)
Ht	M(40-54) F(36-48)%	39.5 (38.1 - 42.6)	39.8 (38.6 - 43.6)	39.5 (38.5 - 42.6)
MCV	78-100 fL	87.24 ± 0.9	86.51 ± 0.86*	88.81 ± 0.86*
MCH	26-32 fL	29.03 ± 0.41	28.68 ± 0.39*	29.53 ± 0.33*
MCHC	31-36 g/dL	33.3 (32.64 - 33.77)	32.9 (32.64 - 33.67)	33.25 (33.02 - 33.7)
RDW	11.5-15.5 %	12.15 (12.15 - 12.15)	15.85 (15.4 - 16)	14.95 (13.85 - 15.2)
Platelets	150-450/ mm ³	226741.18 ± 6561.54	230434.78 ± 7096.13	233090.91 ± 9566.33
Leucocyte	4000-11000 /mm ³	7161.25 ± 542.02	6427.39 ± 308.39	6461.82 ± 288.48
t-C	< 200 mg/dL	198.23 ± 7.32	192.42 ± 7.33	192.23 ± 8.13
TGC	< 150 mg/dL	106 (74.5 - 143.5)	119 (94 - 197.5)	108.5 (79 - 172)
HDL-C	> 40 mg/dL	56.5 (39 - 63)	48 (39.5 - 57.5)	49 (40 - 54)
LDL-C	100-129 mg/dL	116.86 ± 7.6	115.46 ± 6.36	118.23 ± 6.99
VLDL-C	0-40 mg/dL	21 (15 - 27)	24 (19 - 39.5)	21.5 (16 - 34)
Vitamin B ₉	3.1-17.5 ng/mL	10.7 ± 0.75	10.91 ± 0.44	13.08 ± 0.9
Vitamin B ₁₂	211-926 pg/mL	341 (262 - 410)*	313 (253 - 503)	413.45 (293.1 - 553)*

Abbreviations: RBC: Red Blood Cells; Hb: Hemoglobin; Ht: Hematocrit; MCV: Mean Corpuscular Volume; MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin; RDW: Red Cell Distribution Width; ; t-C: Total Cholesterol; TGC: Triglycerides; HDL-C: High Density Lipoprotein Cholesterol; LDL-C: Low Density Lipoprotein Cholesterol; VLDL-C: Very Low Density Lipoprotein Cholesterol.

Valores com distribuição normal e não normal foram apresentados, respectivamente, como média ± SD e mediana (Q1 – Q3).

* p < 0.05 indicando diferença estatisticamente significante entre momentos do estudo quando comparados por ANOVA para medidas repetidas, (para dados com distribuição normal) e ANOVA de Friedman, com pós-teste de Wilcoxon e aplicação da correção de Bonferroni (para dados com distribuição não normal).

Tabela 2. Matriz de correlações de Spearman ou Pearson (1) para todos os pares de variáveis com distribuição não normal (0) ou normal (1) consideradas no estudo

Variable	Distribution	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1 Age	0	1.0																		
2 Height	0	-0.2*	1.0																	
3 Weight	1	-0.2	0.8 [§]	1.0																
4 RBC	1	-0.1	0.2	0.4 [§]	1.0															
5 Hemoglobin	0	-0.2	0.4 [§]	0.5 [§]	0.8 [§]	1.0														
6 Hematocrit	0	-0.1	0.4 [§]	0.5 [§]	0.8 [§]	0.9 [§]	1.0													
7 MCV	0	0.0	0.2	0.1	-0.4 [§]	0.1	0.1	1.0												
8 MCH	1	-0.1	0.2	0.1	-0.3*	0.3*	0.2	0.9 [§]	1.0											
9 MCHC	0	-0.3*	0.1	0.1	0.1	0.5 [§]	0.2	0.2*	0.5 [§]	1.0										
10 RDW	1	-0.2	-0.2	0.0	-0.1	-0.3	-0.2	-0.4*	-0.4	-0.3	1.0									
11 Platelets	1	0.0	0.0	0.0	-0.2	-0.3*	-0.3*	-0.1	-0.1	-0.2	-0.3	1.0								
12 Leucocyte	1	0.0	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	-0.1	0.0	0.3*	1.0							
13 Vitamin B ₉	0	0.2	-0.1	-0.3*	-0.2	-0.1	-0.1	0.0	0.0	-0.1	0.0	0.0	-0.1	1.0						
14 Vitamin B ₁₂	0	0.0	-0.1	0.0	0.0	-0.1	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.2	0.2	0.3*	0.3*	1.0					
15 t-C	1	0.1	0.1	-0.1	-0.1	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.0	-0.4*	0.2*	-0.1	0.2	-0.1	1.0				
16 TGC	0	0.1	0.1	-0.1	-0.2	0.0	0.0	0.2	0.3*	0.1	-0.4	0.2	0.0	-0.1	-0.3 [§]	0.2	1.0			
17 HDL-C	0	-0.1	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2	-0.2	-0.2*	-0.2	-0.1	0.2	-0.1	-0.1	0.2*	0.1	0.1	-0.2	1.0		
18 LDL-C	1	0.1	0.1	-0.2	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	-0.5*	0.2	-0.1	0.2	0.0	0.9 [§]	0.1	0.0	1.0	
19 VLDL-C	0	0.1	0.1	-0.1	-0.2	0.0	0.0	0.2	0.3*	0.2	-0.3	0.2	0.0	-0.1	-0.3 [§]	0.2	0.9 [§]	-0.5 [§]	0.1	1.0

* p < 0.05; § p < 0.01.

Abbreviations: RBC: Red Blood Cells; MCV: Mean Corpuscular Volume; MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin; RDW: Red Cell Distribution Width; t-C: total Cholesterol; TGC: triglycerides; HDL-C: High Density Lipoprotein Cholesterol; LDL-C: Low Density Lipoprotein Cholesterol; VLDL-C: Very Low Density Lipoprotein Cholesterol.

Valores apresentados na coluna Distribution: 0 se refere à valores p de Spearman, 1 se refere à valores r de Pearson.