



FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA

CARINE LEITE

ASSOCIAÇÃO ENTRE EOSINOFILIA DUODENAL E DISPEPSIA FUNCIONAL

Porto Alegre

2014

CARINE LEITE

ASSOCIAÇÃO ENTRE EOSINOFILIA DUODENAL E DISPEPSIA FUNCIONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção do título de Mestre em Gastroenterologia e Hepatologia.

Orientador Prof. Dr. Guilherme Becker Sander

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Edmundo Mazzoleni

Colaboradores Dr. Diego de Mendonça Uchoa

Felipe Mazzoleni

Juliana Araújo Castanho

Prof.^a Dra. Luise Meurer

Tobias Cancian Milbradt

Porto Alegre

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Leite, Carine
ASSOCIAÇÃO ENTRE EOSINOFILIA DUODENAL E DISPEPSIA
FUNCIONAL / Carine Leite. -- 2014.
60 f.

Orientador: Guilherme Becker Sander.
Coorientador: Luiz Edmundo Mazzoleni.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e
Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. dispepsia. 2. biópsia. 3. duodeno . 4.
eosinófilo. I. Sander, Guilherme Becker, orient. II.
Mazzoleni, Luiz Edmundo, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

à minha família, pelo apoio;

ao meu orientador, Sander, e coorientador, Mazzoleni, por me proporcionarem a oportunidade de realizar este trabalho e integrar seu grupo de pesquisa, pelo tratamento cordial, pela compreensão e ensinamentos;

à professora Luise, que oportunizou meu ingresso no mestrado;

aos patologistas Juliana e Diego e ao colega Felipe, pelo grande auxílio;

ao Tobias, sempre disponível para doar seu tempo e conhecimentos;

ao técnico Jorge, da patologia experimental, pela intensa colaboração;

à banca examinadora, pela disponibilidade e auxílio.

RESUMO

Introdução: Dispepsia funcional é uma doença de alta prevalência e grande impacto econômico e social. Sua etiologia ainda é pouco conhecida, e a literatura tem sugerido a associação do aumento do número de eosinófilos em mucosa duodenal com os sintomas dispépticos. No entanto, o tema ainda é controverso. **Objetivo:** Avaliar se existe associação entre contagem de eosinófilos duodenais e sintomas dispépticos. **Métodos:** Foram incluídos pacientes dispépticos funcionais pelos critérios de Roma III (casos) e indivíduos assintomáticos do trato gastrointestinal (controles). Os dois grupos foram pareados por idade, sexo e infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Eosinófilos da segunda porção duodenal foram quantificados em 5 campos de maior aumento (CMA), selecionados randomicamente em fragmentos de biópsias endoscópicas, e o valor comparado entre os grupos. **Resultados:** Foram incluídos 42 dispépticos funcionais e 21 controles (idade média 39,6 e 38,7 anos respectivamente); 71,4% mulheres e 61,9% *H. pylori* positivos em cada grupo. Casos e controles apresentaram semelhante contagem de eosinófilos/CMA na biópsia duodenal, mediana 11,9 e 12,6 respectivamente ($P=0,194$). No grupo de casos a contagem de eosinófilos foi maior entre os portadores de *H. pylori* do que nos indivíduos não infectados (mediana 13,6 versus 6,1 $P<0,001$); no entanto foi semelhante no grupo de controles (mediana 12,6 versus 15,7 $P=0,8$). **Conclusões:** Não foi demonstrada diferença de contagem de eosinófilos duodenais entre dispépticos funcionais e controles. Entretanto, parece haver interação com infiltrado eosinofílico e sintomas no subgrupo de casos infectados pelo *H. pylori*.

Palavras-chave: dispepsia; biópsia; duodeno; eosinófilo.

ABSTRACT

Introduction: Functional dyspepsia is a highly prevalent disease with major economic and social impact. Its etiology is still poorly understood, and it has been suggested the association of increased numbers of eosinophils in duodenal mucosa with dyspeptic symptoms. However, this issue is still controversial. **Objective:** To determine if there is association between duodenal eosinophilia and dyspeptic symptoms. **Methods:** Functional dyspeptic patients according to the Rome III criteria (cases) and individuals without gastrointestinal symptoms (controls) were included. Groups were matched by age, sex and infection with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Eosinophils in the second duodenal portion were counted in five high-power fields (HPF), randomly selected in endoscopic biopsies and the value was compared between groups. **Results:** 42 functional dyspeptic patients and 21 controls (mean age 39.6 and 38.7 years old, respectively) were included; 71.4% were women and 61.9% were positive for *H. pylori* in each group. Cases and controls had similar eosinophil counts/HPF in the duodenal biopsy: median 11.9 and 12.6 respectively ($P = 0.194$). In the case group the eosinophil count was higher in *H. pylori* carriers than in noncarriers (median 13,6 versus 6,1 $P < 0,001$); however this count was similar in the control group (median 12,6 versus 15,7 $P = 0,8$). **Conclusions:** No difference was found in duodenal eosinophil count between functional dyspeptic patients and controls. However, there seems to be an interaction between eosinophilic infiltrate and symptoms in the subgroup of *H. pylori*-infected cases.

Keywords: dyspepsia; biopsy; duodenum; eosinophil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Prevalência mundial de sintomas dispépticos	14
Figura 2 - Recrutamento de eosinófilos, fatores envolvidos e consequências fisiopatológicas	22
Figura 3. Eosinófilo em mucosa duodenal - microscopia óptica (H&E), 40X	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Eosinofilia duodenal e dispepsia funcional, estudos prévios	25
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

B7.1	molécula de ligação (<i>Binding</i>)
B7.2	molécula de ligação (<i>Binding</i>)
Bcl-x _L	proteína transmembrana (<i>B-Cell Lymphoma-eXtra Large protein</i>)
CD	Grupo de Diferenciação (<i>Cluster of Differentiation</i>)
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DF	Dispepsia Funcional
DP	Desvio Padrão
ECP	Proteína Catiônica Eosinofílica (<i>Eosinophilic Cationic Protein</i>)
ED	Eosinofilia Duodenal
EDN	Neurotoxina Derivada de Eosinófilo (<i>Eosinophil Derived Neurotoxin</i>)
EPD	Peroxidase Eosinofílica (<i>Eosinophilic PeroxiDase</i>)
GE	Gastroenterite Eosinofílica
GPPG	Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação
H&E	Hematoxilina e Eosina
H2	Receptor Histamínico tipo 2
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
IBP	Inibidor de Bomba de Prótons
IC	Intervalo de Confiança
IL	Interleucina
M2	Receptor Muscarínico tipo2
MPB	Proteína Básica Principal (<i>Major Basic Protein</i>)
NNT	Número Necessário Tratar
PADYQ	Porto Alegre <i>Dyspeptic Symptoms Questionnaire</i>
SIDE	Síndrome da Dor Epigástrica
SIDEPP	SÍndrome do DEsconforto Pós-Prandial

TCLE Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Th *T-helper* (linfócito)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 Dispepsia funcional e definição	12
2.2 Epidemiologia	14
2.3 Etiologia da dispepsia funcional	15
2.4 Diagnóstico e avaliação inicial	16
2.5 Tratamento	17
2.6 Infiltração eosinofílica em mucosa duodenal	18
2.6.1 Fisiologia	18
2.6.2 Relação entre eosinófilos duodenais e sintomas dispépticos	20
2.6.3 Etiologia da eosinofilia duodenal	20
2.6.4 Diagnóstico de eosinofilia duodenal	22
2.6.5 Eosinofilia duodenal e associação com dispepsia funcional	23
3 JUSTIFICATIVA	26
4 QUESTÃO DE PESQUISA	27
5 HIPÓTESE	28
6 OBJETIVOS	29
6.1 OBJETIVOS GERAIS	29
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
REFERÊNCIAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	30
ARTIGO EM INGLÊS	34
ARTIGO EM PORTUGUÊS	44
CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	54
ANEXO A	55
ANEXO B	60

1 INTRODUÇÃO

A dispepsia funcional é uma doença de elevada prevalência, com consequente impacto social e econômico. Nos últimos anos diversos estudos têm objetivado encontrar a etiologia dos sintomas dispépticos, ainda indefinida.

Recentemente gerou-se grande expectativa quando alguns autores evidenciaram maior número de eosinófilos em mucosa duodenal de dispépticos funcionais do que de controles assintomáticos, suspeitando-se de uma ligação entre o infiltrado eosinofílico duodenal e a fisiopatogênese de sintomas.

No entanto, seguiram-se estudos que contestaram a associação de eosinofilia em duodeno e dispepsia funcional. Contudo, são estudos em pequeno número de pacientes, e realizados em países de baixa prevalência de infecção pelo *Helicobacter pylori*. Desta forma, realizamos o presente estudo em amostras de biópsia coletadas durante o estudo *Heroes*, que inclui pacientes selecionados pelos critérios de Roma III para dispepsia funcional.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Dispepsia funcional e definição

Dispepsia é um termo derivado do idioma grego e significa “digestão difícil” (*dys* = “difícil”; *peptein* = “digestão”). Atualmente esse termo é utilizado para definir sintomas digestivos do abdômen superior, não obrigatoriamente restritos ao período pós-prandial. O desconforto pode ser referido como plenitude epigástrica, distensão, saciedade pós-prandial precoce, náuseas, vômitos, dentre outros.

No consenso de Roma III para desordens funcionais gastrointestinais, define-se dispepsia funcional (DF) como a presença de sintomas que se presumem originados da região gastroduodenal na ausência de doença orgânica, sistêmica ou metabólica que justifique (1). Em contrapartida, a dispepsia é denominada orgânica quando se identifica patologia basal que a justifique.

Segue a classificação das desordens funcionais conforme o consenso, com a subcategorização da DF (B1).

- A: Desordens funcionais esofágicas
- B: Desordens funcionais gastroduodenais

B1. Dispepsia funcional

B1a. Síndrome do desconforto pós-prandial – SIDEPP em português

B1b. Síndrome da dor epigástrica – SIDE em português

B2. Distúrbios da eructação

B3. Distúrbios da náusea e do vômito

B4. Síndrome da ruminação em adultos;

- C: desordens funcionais intestinais

- D: síndrome da dor abdominal funcional
- E: desordens funcionais da vesícula biliar e esfíncter de *Oddi*
- F: desordens funcionais anorretais.

Para o paciente ser considerado dispéptico funcional, é necessário preencher critérios especificados, devendo apresentar um ou mais dos sintomas: plenitude pós-prandial, saciedade precoce ou queimação epigástrica; além disso, não pode haver evidência de doença estrutural, incluindo endoscopia digestiva alta. Os sintomas devem estar presentes nos últimos três meses com início de sintomas no mínimo seis meses antes do diagnóstico.

B1a. Síndrome do desconforto pós-prandial (SIDEPP)

Os critérios diagnósticos devem incluir um ou ambos dos itens a seguir:

- Sensação incômoda de plenitude pós-prandial que ocorre após refeições habituais, pelo menos várias vezes na semana;
- Saciedade precoce que impede finalizar uma refeição comum, pelo menos várias vezes na semana.

Critérios de apoio

- Plenitude/estufamento abdominal superior ou náusea pós-prandial ou eructação excessiva podem estar presentes;
- Síndrome da dor epigástrica pode coexistir.

B1b. Síndrome da dor epigástrica (SIDE)

Os critérios diagnósticos devem incluir todos os itens a seguir:

- Dor ou queimação localizada no epigastro com intensidade moderada, pelo menos uma vez por semana;
- A dor é intermitente;
- Não é generalizada ou localizada para outras regiões do abdômen ou do tórax;
- Não é aliviada com a evacuação ou por flatulência;
- Não preenche os critérios para os distúrbios da vesícula e do esfíncter de Oddi.

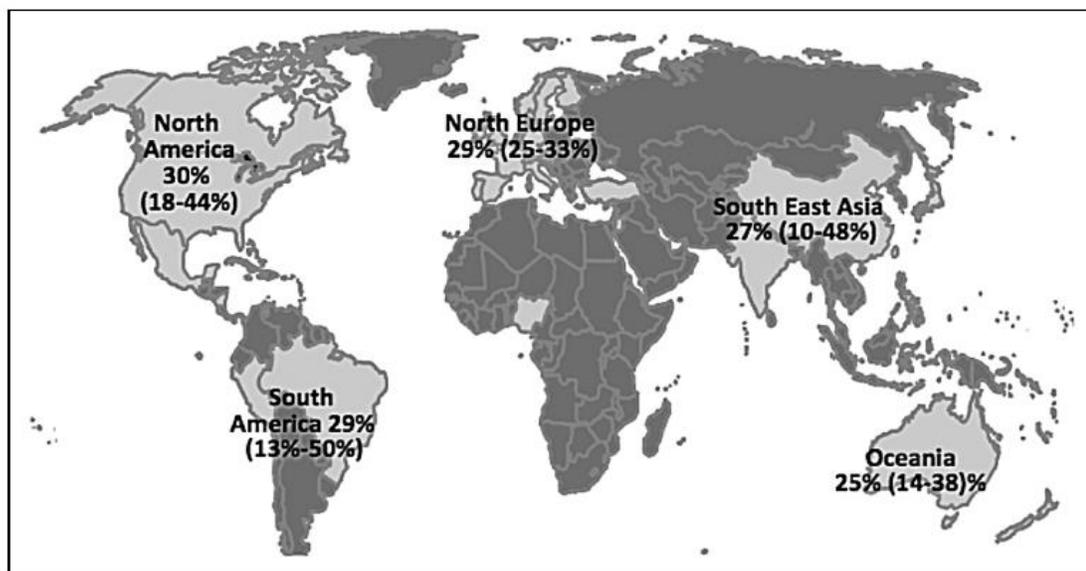
Critérios de apoio

- A dor pode ser em queimação, mas sem um componente retroesternal;
- A dor é comumente induzida ou aliviada pelas refeições, mas pode ocorrer também durante o jejum;
- A síndrome do desconforto pós-prandial pode coexistir.

2.2 Epidemiologia

A prevalência populacional de sintomas dispépticos não investigados varia muito devido a diferentes critérios utilizados nos estudos epidemiológicos, na maioria dos países se situa entre 7% e 34,2%, podendo chegar a 50% (2). Em estudo brasileiro de base populacional, a taxa foi ainda mais elevada: 40,9% (3). A maioria dos trabalhos de base populacional realiza levantamento apenas da taxa de dispepsia não investigada, porém hoje sabemos que se aproxima da taxa real de funcionais, pois estes representam a maioria dos indivíduos com sintomas gastrointestinais altos. No estudo HEROES (4) 23,7% indivíduos apresentavam diagnóstico endoscópico que justificasse os sintomas, sendo esta proporção de 35,5% no estudo de Shaib nos Estados Unidos (5).

Figura 1. Prevalência mundial de sintomas dispépticos



Percebe-se a alta prevalência deste distúrbio. Assim, podemos concluir o elevado impacto social desta doença. Meta-análise recente evidenciou haver queda significativa na avaliação global pelo “*Health Related Quality of Life*” dos dispépticos em relação aos controles (6). Há evidência de que a DF acarreta queda na produtividade laboral, com influência negativa no trabalho em intensidade semelhante à dispepsia orgânica (7).

2.3 Etiologia da dispepsia funcional

A etiologia da dispepsia funcional ainda é mal compreendida, existem diversos possíveis fatores causais já estudados, originando diversas hipóteses.

Pacientes dispépticos, especialmente portadores de DF tipo B1a, apresentam maior prevalência de alterações da motilidade gástrica, principalmente reduzida capacidade de “acomodação” ao volume alimentar e hipomotilidade antral, com conseqüente lentificação no esvaziamento de seu conteúdo (8). Aproximadamente 40% dos dispépticos têm evidência de esvaziamento gástrico reduzido (9). Têm sido também observados distúrbios de motilidade duodenal em dispépticos, com alterações manométricas como contrações peristálticas não propagadas, na maioria dos indivíduos (10).

A hipersensibilidade à distensão gástrica também já foi evidenciada em dispépticos. O estudo clássico que originou esta teoria foi realizado posicionando-se um balão de látex inflado no estômago proximal, em dispépticos e controles, sendo que os primeiros toleraram em média menor volume (11).

Observou-se também que dispépticos apresentam menor *clearance* ácido duodenal, e possivelmente hipersensibilidade ácida. Entretanto, solução ácida instilada no bulbo duodenal foi relacionada apenas com sintoma náusea, mas não com dor ou plenitude (12).

Tem-se discutido também o papel da infecção gástrica crônica pela bactéria *Helicobacter pylori*. O estudo Heroes foi um ensaio clínico randomizado desenvolvido e realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre com objetivo de verificar se haveria melhora de sintomas com uso de

antibióticos contra a infecção. Evidenciou-se redução significativa de sintomas dispépticos em 49% dos pacientes que erradicaram o micro-organismo contra 36.5% dos controles (4). O mecanismo pelo qual o *H. pylori* pode contribuir para gerar sintomas ainda é controverso (13).

Enantema identificado endoscopicamente, tanto gastrite segundo a classificação endoscópica de Sydney (14), ou duodenite conforme Konorev (15) não se correlaciona com sintomas ou anormalidades histológicas (16). Por tal razão, gastrites e duodenites endoscópicas ou histológicas não têm nenhuma relevância no diagnóstico e manejo da dispepsia.

O uso de anti-inflamatórios não esteroidais e um episódio de gastroenterite podem desencadear os sintomas, mas respondem por uma minoria dos casos, já revelados na anamnese (17, 18). Também já é bem conhecida a relação de questões psicossociais e dispepsia (19). Em relação aos pacientes com dispepsia orgânica, os funcionais apresentam maior escore de ansiedade e depressão (20).

2.4 Diagnóstico e avaliação inicial

O diagnóstico de dispepsia funcional é realizado quando há história clínica compatível, na ausência de causas orgânicas. A etiologia orgânica pode ser metabólica, como diabetes ou insuficiência renal, ou estrutural, como úlceras, obstruções e neoplasias. Existem sinais de alarme, que são aqueles que levam à alta suspeita de etiologia orgânica. Incluem perda de peso não explicada, vômitos persistentes, disfagia, sangramento documentado ou obscuro (anemia).

Não há qualquer marcador de dispepsia funcional, em exames laboratoriais, de imagem ou endoscopia. Nem todo paciente com sintomas dispépticos necessita de investigação. O consenso Roma III sugere:

- Certificar-se de que os sintomas são provenientes do trato gastrointestinal superior.
- Excluir os sinais de alarme, casos em que devem ser realizados exames de laboratório, imagem e endoscopia.

- Excluir uso de anti-inflamatório não esteroide.
- Tratamento preferencial da doença de refluxo quando sintomas coexistem.
- Teste não invasivo para *H. pylori*, erradicação em portadores.
- Endoscopia inicial é recomendada para indivíduos com mais de 45 anos. Em nosso meio tem sido também inicialmente recomendada em jovens, pela dificuldade de acesso a testes não invasivos para pesquisa de *H. pylori*.

2.5 Tratamento

Inicialmente recomenda-se tranquilizar o paciente da benignidade de seus sintomas. Por vezes não é tarefa simples, em especial por pouco sabermos sobre a etiologia do problema.

Medidas dietéticas e comportamentais como interromper tabagismo, anti-inflamatórios, consumo de café e álcool não têm evidência bem documentada (21). Recomenda-se como medida inicial erradicar a infecção por *Helicobacter pylori* nos pacientes portadores, sendo o esquema tríptico de amoxicilina, claritromicina e inibidor de bomba de prótons o mais recomendado no Brasil. No entanto, muitos ainda se mantêm sintomáticos após a erradicação (22). Para estes pacientes e para os não portadores indica-se a supressão ácida (com inibidor de bomba de prótons) como tratamento de primeira linha, em especial no subgrupo B1a (23). No entanto, é possível que muitos destes pacientes provavelmente respondam por terem componente de doença do refluxo gastroesofágico não documentada previamente.

Agentes pró-cinéticos (exemplo domperidona, bromoprida) têm sido recomendados, em especial no subgrupo de dispepsia B1b. Ainda são necessários mais estudos para avaliar melhor sua eficácia (24). Antidepressivos principalmente os tricíclicos podem trazer benefício, em pequena parcela de indivíduos, mas os especialistas em dispepsia têm questionado a evidência do uso(25).

Apesar de pesquisa extensiva, percebe-se que existem vários fármacos disponíveis, porém com baixa eficácia. Não existe um fator etiológico comum que explique o surgimento de sintomas para todos pacientes dispépticos, e mesmo ao conduzir-se um tratamento direcionado para os fatores, os estudos trazem valores de NNT elevados, muitos indivíduos mantêm-se sintomáticos, evidenciando uma lacuna no atual conhecimento da área. Estima-se que cerca de 24% dos dispépticos não apresentam melhora dos sintomas em um ano de acompanhamento, e até 22% pioram dos sintomas (26).

Além de terapêuticas atuais pouco eficazes, a ausência de uma causa para seus sintomas é extremamente ansiogênica para os pacientes, talvez explicando porque transtornos psiquiátricos são mais frequentes nesta população.

Recentemente, no entanto, estudos têm trazido um novo conceito à fisiopatogenia da dispepsia funcional. Há evidências de que seu possa estar relacionada ao aumento expressivo do número habitual de eosinófilos no duodeno, teoria que se for confirmada pode significativamente impactar no diagnóstico e manejo desses pacientes.

2.6 Infiltração eosinofílica em mucosa duodenal

2.6.1 Fisiologia

Os leucócitos podem ser de duas classes granulócitos e agranulócitos, recebendo esta denominação devido à presença de grânulos citoplasmáticos no primeiro grupo. Os agranulócitos são os linfócitos e monócitos, e os granulócitos eosinófilos, neutrófilos e basófilos.

Os leucócitos são produzidos na medula óssea a partir de células pluripotenciais. Durante processos inflamatórios ocorre liberação de fator de crescimento de colônia (produzido pelos linfócitos T, fagócitos mononucleares, células endoteliais vasculares e fibroblastos) e interleucinas 3 e 5 (produzidas pelos linfócitos), os quais são os principais responsáveis por estimular a gênese e liberação eosinofílica (27).

Os eosinófilos representam 1-3% dos leucócitos, apresentam ciclo vital de 13 dias. A metade deste período permanecem nos tecidos, em especial timo, glândulas mamárias e lâmina própria do trato gastrointestinal, exceto o esôfago (28). Deslocam-se a estes locais em processos inflamatórios, mas já estão alojados nos tecidos em pequeno número desde o período pré-natal,

independente de estímulo antigênico (29). Após este período uma citocina presente nas células epiteliais intestinais, denominada eotaxina é o principal regulador da carga eosinofílica local(30).

Após a exposição do intestino a algum alérgeno ou parasita, o antígeno é fagocitado, processado e exposto pelas células apresentadoras de antígeno aos linfócitos Th2. Tais células produzem IL-5, que estimula a diferenciação e em especial a liberação de eosinófilos pela medula óssea. Estes polimorfonucleares são atraídos ao foco pelas eotaxinas, principalmente do tipo 1 e 3 (31). Na ausência de eotaxina ou de seu receptor, CCR3 nos eosinófilos, os mesmos não migram para o trato gastrointestinal (32).

Ao alojarem-se no tubo digestivo os eosinófilos geram aumento da permeabilidade intercelular intestinal por redução da expressão de uma proteína - ocludina, com aumento do influxo antigênico, perpetuando o processo descrito (33).

Os eosinófilos apresentam função imunomoduladora, participam da ligação entre imunidade inata e adquirida, sendo importantes na resposta inflamatória da reação de hipersensibilidade do tipo 2 (34). Ligam-se aos imunocomplexos e auxiliam no controle de infecções e alergias ao liberarem grânulos compostos por:

- proteína básica principal (MBP) - principal componente dos grânulos eosinofílicos; aumenta a contratilidade da musculatura lisa por causar disfunção dos receptores muscarínicos M2 (35). Apresenta função de gerar poros nas células dos parasitas e conseqüente morte celular. Além disso induz a degranulação dos basófilos e mastócitos (36).
- proteína catiônica eosinofílica (ECP) – ribonuclease que possui ação antiviral (37);
- neurotoxina derivada do eosinófilo (EDN) – também possui ação antiviral. Além disso, ocasiona poros nas células alvo, o que provavelmente tem função de possibilitar entrada de moléculas citotóxicas (38);
- peroxidase eosinofílica (EOP) – gera uma cascata de formação de radicais livres, os quais levam à apoptose celular (39).

Os eosinófilos expressam moléculas de histocompatibilidade do tipo 2 e outras moléculas co-estimulatórias (CD40, CD28, B7.1 e B7.2). Secretam uma série de citocinas que levam à estimulação de proliferação e ativação de linfócitos, aumentando a cascata inflamatória. Estimulam a fibrose e remodelamento tecidual. Além disso, geram grande quantidade de leucotrienos que aumentam a permeabilidade vascular e que também estimulam a contração muscular lisa (40).

2.6.2 Relação entre eosinófilos duodenais e sintomas dispépticos

Os eosinófilos apresentam atuação na motilidade e sensibilidade do aparelho digestivo. O MPB gera disfunção em receptores muscarínicos do tipo M2, levando à hiper-reatividade da musculatura lisa. Também estimula a síntese de leucotrienos (via do ácido araquidônico), os quais geram contração muscular visceral, vasoconstrição, edema e recrutamento de mais eosinófilos (41). Tais células também foram relacionadas à necrose axonal, que gera distúrbio motor (42). A contração de musculatura lisa, isoladamente gera cólica por dor visceral. No caso de contrações lentificadas ou desordenadas temos a dismotilidade, que conforme descrito anteriormente é relacionada aos sintomas dispépticos.

Um dado que reforça o papel destas células no desencadeamento de sintomas da DF foi um ensaio clínico randomizado em que foi testado em crianças o uso de inibidores de leucotrieno, Montelukast, que interrompe a cascata inflamatória. Observou-se resposta clínica satisfatória em dispépticos funcionais com eosinofilia duodenal: 62,1% no grupo intervenção e 32,4% no grupo controle, $p < 0,02$ (43).

2.6.3 Etiologia da eosinofilia duodenal

A eosinofilia duodenal (ED) ocorre em três situações:

- **Primária.** Como alteração constitucional do indivíduo por fatores genéticos. Pacientes que apresentam translocação em genes inibidores da apoptose de eosinófilos, especialmente que codificam a proteína Bcl- χ_L , têm uma maior duração da célula nos tecidos (44). Foram observados entre portadores de esofagite eosinofílica polimorfismos no gene humano que codifica a eotaxina-3, com aumento da expressão da mesma (31), atraindo intensamente eosinófilos ao epitélio intestinal.
- **Secundária.** Como consequência de algum desequilíbrio na cascata de recrutamento descrita anteriormente. Sabemos que o achado é mais comum em pacientes com história de gastroenterite recente (45) e com história alérgica (asma, atopia, eczema/urticária ou alergia alimentar), porém controverso (46, 47). Também é mais comumente observada em pacientes com síndromes hiper-eosinofílicas, enteropatia perdedora de proteínas, doença inflamatória intestinal, doença celíaca,

infecções (*H. pylori*, tuberculose, parasitas), linfangiectasia duodenal, linfoma e carcinoma, esclerodermia, vasculites (poliarterite nodosa e Churg-Strauss), doença enxerto-hospedeiro, mastocitose sistêmica, drogas (em especial anti-inflamatórios, sais de ouro, azatioprina, genfibrozila, enalapril, carbamazepina, clofazimina e cotrimoxazol). Quando é identificada eosinofilia duodenal, tais fatores devem ser pesquisados e manejados conjuntamente (48).

- Duodenite eosinofílica. Trata-se de uma doença crônica imuno-mediada, em que a ingestão de um antígeno alergênico provoca uma intensa reação de recrutamento de linfócitos T *helper* tipo 2 e eosinófilos. É parte dos distúrbios eosinofílicos do trato gastrointestinal: esofagite, gastrite, gastroenterite (estômago e duodeno), enterite (duodenite, jejunita e ileíte) e colite eosinofílica. Comumente observa-se eosinofilia gástrica além da duodenal (gastroenterite) (40). É extremamente rara, acomete 22 indivíduos a cada 100000 habitantes (49).

Na duodenite eosinofílica temos sintomas especialmente quando há envolvimento gástrico, cuja manifestação varia conforme a porção da parede que é envolvida:

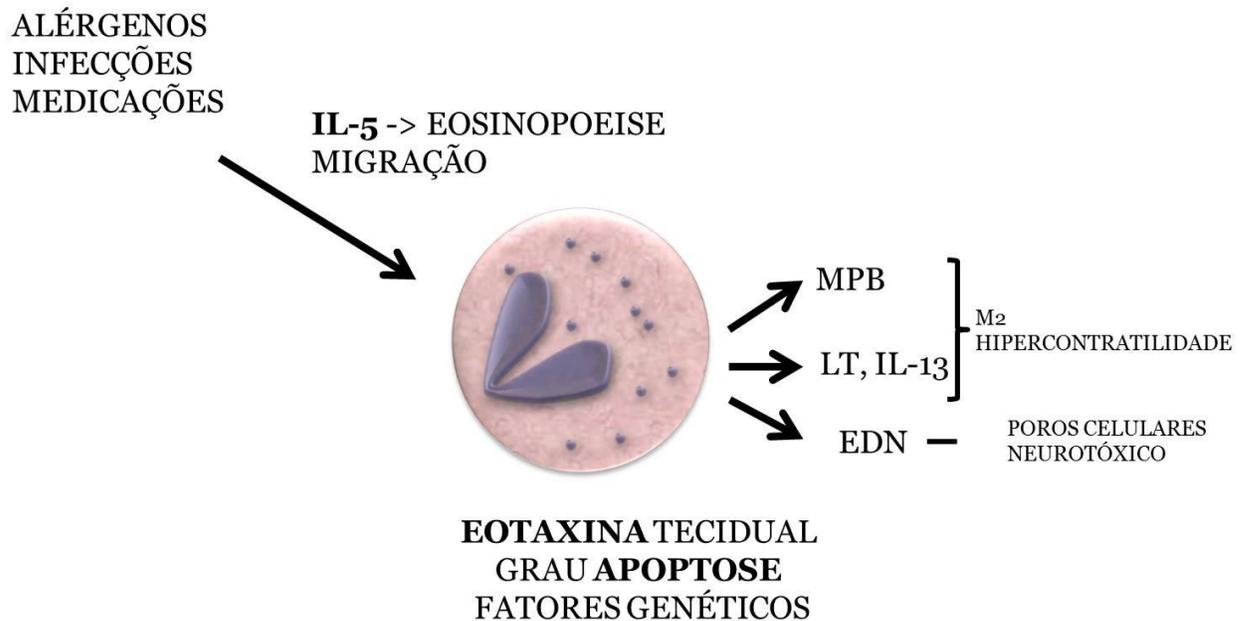
- mucosa: dor abdominal, vômitos, diarreia, anemia, perda de peso;
- muscular: sintomas obstrutivos;
- serosa: ascite e marcada eosinofilia periférica (50).

É uma entidade com critérios diagnósticos histológicos específicos, apresentados mais adiante, e que excluem a possibilidade de dispepsia funcional como causa da sintomatologia. Como tratamento recomenda-se avaliar a possibilidade de dieta restritiva, eliminando-se leite, trigo, ovo, soja, castanhas e frutos do mar (40). Os pacientes respondem à corticoterapia, em especial quando apresentam eosinofilia periférica (51).

Analisando-se apenas pacientes em que não são observadas as situações de eosinofilia secundária, ainda o achado é mais prevalente em dispépticos funcionais do que em controles (45). Percebe-se que a célula isoladamente relaciona-se aos sintomas, e não os fatores relacionados à sua superpopulação duodenal.

Independente da etiologia de migração eosinofílica para o duodeno, primária ou secundária, o resultado como vimos parece ser o desencadeamento de sintomas dispépticos. Esta provável associação é relevante para hipótese etiológica e possíveis implicações terapêuticas.

Figura 2. Recrutamento de eosinófilos, fatores envolvidos e consequências fisiopatológicas



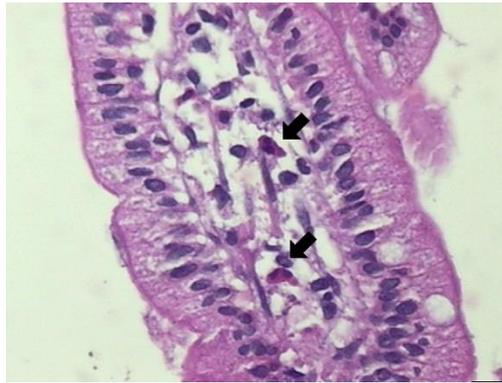
Fonte: própria autoria conforme revisão bibliográfica

2.6.4 Diagnóstico de eosinofilia duodenal

Considera-se eosinofilia duodenal quando o infiltrado celular encontra-se acima do esperado para uma população, pois não existe um ponto de corte considerado normal para quantificação. A dispepsia funcional tem sido relacionada a um aumento sutil do número de eosinófilos nos pacientes em relação aos controles, e alguns autores sugerem que acima de 22 seja mais frequente o surgimento de sintomas (52).

Os eosinófilos apresentam diâmetro de 12-15 μm , discretamente maiores que os neutrófilos. O núcleo é bilobado com uma ponte cromatínica, embora possa apresentar três ou mais lobos. São melhor visualizados na coloração Hematoxilina-eosina (H&E), e em microscopia óptica visualizam-se seus grânulos, altamente refráteis. São acidófilos, com alta afinidade pela eosina, o que lhe trouxe a denominação utilizada. Com isto os visualizamos na cor rósea, e seus grânulos, por serem intensamente acidófilos, em rosa *pink* ou até próximo da cor púrpura (53).

Figura 3. Eosinófilo em mucosa duodenal - microscopia óptica (H&E), 40X



Patologista Dra Juliana Araújo Castanho

Existe uma padronização já bem definida na literatura para contagem de eosinófilos em mucosa gastrointestinal. Em cada espécime de biópsia, selecionam-se randomicamente 5 campos de maior aumento (40X). Realiza-se a contagem de células dentro da mucosa em cada um destes campos, após somam-se os valores e dividem-se por 5 (54).

A infiltração maciça de eosinófilos em mucosa duodenal ocorre na gastroenterite eosinofílica, cujas características são (55):

- mais de 52 eosinófilos por campo;
- presença de criptite e abscessos crípticos eosinofílicos;
- alterações epiteliais como mucina diminuída, aumento da razão núcleo/citoplasma, aumento da atividade mitótica;
- mais de 4 eosinófilos por campo intraepitélio e mais de 6 em criptas, além da infiltração em lâmina própria nas áreas mais superficiais que o usual;
- infiltrado eosinofílico em muscular da mucosa;
- células de inflamação aguda ausentes.

2.6.5 Eosinofilia duodenal e associação com dispepsia funcional

Esta possível associação foi documentada inicialmente por Toukan (56), que analisou endoscopias e biópsias gastroduodenais em dispépticos e controles. Foi encontrada maior média de contagem de eosinófilos em duodeno no primeiro grupo, mesmo com aparência endoscópica semelhante. Posteriormente Talley (47) realizou um estudo com 51 pacientes dispépticos e 48

controles, que foram submetidos à endoscopia digestiva alta com biópsias esofágicas, gástricas e duodenais. Selecionou, randomicamente em cada amostra de biópsia da segunda porção duodenal, 5 campos de maior aumento (40X), com contagem do número de eosinófilos intramucosos visualizados em cada campo. Observou uma média de 33,1 (DP 16,9) eosinófilos por campo em anatomopatológico de mucosa duodenal dentre os dispépticos. Já entre os controles a média foi de 18,6 (DP 10,5), $P < 0,001$. Ajustando-se para idade, sexo e presença de *H. pylori*, ainda se obteve um *odds* de 7,3 (IC 95% 2,9-18,1) para dispepsia em pacientes com eosinofilia duodenal. Não houve diferença em biópsias gástricas.

Posteriormente este autor participou do trabalho de Walker (46). Foram avaliados, retrospectivamente, pacientes dispépticos funcionais e indivíduos assintomáticos de Londres em relação a achados histológicos duodenais. Também foi realizada média da contagem de eosinófilos intramucosos a cada 5 campos de maior aumento. Baseando-se nos resultados do trabalho anterior, utilizou-se como ponto de corte 22 eosinófilos por campo como o limite superior da normalidade. Dentre indivíduos portadores de dispepsia tipo *Postprandial distress syndrome* (B1a) pelo Roma III, 47,4% apresentavam eosinofilia duodenal, porém apenas 22,5% dos controles exibiam tal achado ($P=0,04$). No entanto, no subgrupo de pacientes com dispepsia do tipo *Epigastric pain* (B1b) não houve esta associação. Os autores não relataram a análise de ambos os grupos de dispépticos juntos em comparação com controles. O uso de anti-inflamatórios ou inibidor de bomba de prótons não se relacionou com ED. Estudo de Bafutto com 36 dispépticos e 9 controles no Brasil apresentou resultado semelhante, embora realizadas biópsias de bulbo. Não foram relatados os resultados da análise de dispépticos em relação a controles, apenas por subgrupo. Houve associação positiva para indivíduos dispepsia B1a, mas não B1b (45).

Recentemente Walker e Talley publicaram estudo sobre o assunto, porém em outra população (Austrália), e desta vez analisando a média conjunta de ambos os grupos de 33 dispépticos em relação a 21 controles. Houve associação positiva apenas nos indivíduos com plenitude pós-prandial. Não houve associação de dispepsia funcional com eosinofilia (tanto em primeira como segunda porção duodenal) (57).

No estudo de Veerappan (58) em hospital militar de Washington foram incluídos pacientes com dispepsia funcional conforme os critérios de Roma III. Os casos e controles apresentaram média de contagem eosinofílica duodenal de 20,8 e 19,8 respectivamente, grupos estatisticamente semelhantes. Foi encontrada eosinofilia duodenal apenas em pacientes portadores de *H. pylori*, em

divergência com o resultado de Talley. Outro estudo com resultado negativo foi em população iraniana, com mediana de contagem eosinofílica de 16 (2-24) em dispépticos e 13 (2-45) em controles, $P=0,147$ (59).

Em população chinesa, Song avaliou 48 dispépticos funcionais e 21 controles, encontrando média de eosinófilos de 23,23 (DP 5.06) e 19,48 (DP 5.18), respectivamente ($P=0,008$). Entretanto não avaliou o status de infecção por *H. pylori* (60).

A seguir, resumo sobre os principais estudos, observando-se heterogeneidade metodológica e de resultados.

Tabela 1. Eosinofilia duodenal e dispepsia funcional, estudos anteriores.

Autor	População, N casos x N controles	Biópsia, porção duodenal	Rigor na seleção de controles	Crítérios de seleção, Roma	Associação eosinofilia duodenal e DF
Toukan, 1985	Jordânia, 31x32	Não cita	Sem sintomas gastrointestinais	Anterior ao consenso	Positiva
Talley, 2007	Suécia, 51x48	Segunda	Sem sintomas gastrointestinais	Roma I	Positiva
Walker, 2010	Londres, 19x89	Não cita	Poderiam ter sintomas exceto DF	Roma III	Não cita; positiva B1a
Binesh, 2012	Irã, 25x27	Bulbo	Poderiam ter sintomas exceto DF	Não cita	Negativa
Bafutto, 2012	Brasil, 36x9	Bulbo	Sem sintomas gastrointestinais	Roma III	Não cita; positiva B1a
Veerappan, 2012	Washington, Total 374	Não cita	Poderiam ter sintomas exceto DF	Roma III	Negativa
Walker, 2014	Austrália, 33x22	Segunda	Poderiam ter sintomas exceto DF	Roma II	Negativa; positiva B1a
Song, 2014	China, 48x21	Segunda	Sem sintomas gastrointestinais	Roma III	Positiva

3 JUSTIFICATIVA

Vimos que a DF tem alta prevalência e impacto social, sendo imperativo avanço em estudos sobre sua etiopatogênese. Compreender os mecanismos da DF e instituir uma terapêutica eficaz gera relevante impacto social e econômico à sociedade.

Não existe homogeneidade de resultados entre os estudos sobre a relação de eosinofilia duodenal e dispepsia. São estudos em pequeno número de pacientes, e realizados em países de baixa prevalência de infecção pelo *Helicobacter pylori*. Portanto, é uma associação duvidosa que necessita ser esclarecida, em especial no nosso meio.

4 QUESTÃO DE PESQUISA

Existe relação entre infiltrado eosinofílico duodenal e sintomas dispépticos?

5 HIPÓTESE

A média de eosinófilos intramucosos em duodeno é maior em dispépticos do que em controles.

6 OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a contagem de eosinófilos intramucosos duodenais de dispépticos funcionais com a contagem de indivíduos assintomáticos.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Descrever dados epidemiológicos de indivíduos dispépticos e controles de nosso meio.

Comparar a média de eosinófilos intramucosos duodenais entre portadores de dispepsia do tipo SIDE ou SIDEPP com controles.

Comparar outros achados histológicos duodenais de dispépticos com controles.

REFERÊNCIAS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Tack J, Talley N, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada J, et al. Functional Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology*. 2006;130(5):1466-79.
2. Mahadeva S, Goh K. Epidemiology of functional dyspepsia: A global perspective. *World J Gastroenterol*. 2006;12(7):2661-6.
3. Sander GB, Francisconi CFdM, Mazzoleni LE, Lopes MHI, Berwanger O, Madi J. An unexpected high prevalence of non-investigated dyspepsia in Brasil : a population-based study. *Revista HCPA*. 2007;27(1):121.
4. Mazzoleni L, Sander ,GB, Francesconi, CF, Mazzoleni, F, Uchoa, DM, De Bona, LR, Milbradt T, Von Reisswitz, PS, Berwanger, O, Bressel, M, Edelweiss, MI, Marini, SS, Molina, CG, Folador, L, Lunkes, RP, Heck, R, Birkhan, OA, Spindler, BM, Colombo, Bda S, Guerrieri, PP, Renck L, Grando, E, Hocevar de Moura, B, Prolla, JC. Helicobacter pylori eradication in functional dyspepsia: HEROES trial. *Arch Intern Med*. 2011;171(21):1929-36.
5. Shaib Y, El-Serag H. The prevalence and risk factors of functional dyspepsia in a multiethnic population in the United States. *Am J Gastroenterol*. 2004;99(11):2210-216.
6. El-Serag H, Talley N. Systematic review: health-related quality of life in functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;18:387-93.
7. Sander G, Mazzoleni L, Francesconi C, Balbinotto G, Mazzoleni F, Wortmann A, et al. Influence of organic and functional dyspepsia on work productivity: the HEROES-DIP study. *Value Health*. 2011;5(1):126-9.
8. Stanghellini V, Ghidini C, Maccarini MR, Paparo GF, Corinaldesi R, Barbara L. Fasting and postprandial gastrointestinal motility in ulcer and non-ulcer dyspepsia. *Gut*. 1992;33(2):184-90.
9. Quatero AO, de Wit NJ, Lodder AC, Numans ME, Smout AJ, Hoes AW. Disturbed solid-phase gastric emptying in functional dyspepsia: a meta-analysis. *Dig Dis Sci*. 1998;43(9):2028-33.
10. Sha W, Pasricha PJ, Chen JD. Correlations among electrogastrogram, gastric dysmotility, and duodenal dysmotility in patients with functional dyspepsia. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43(8):716-22.
11. Lémann M, Dederding JP, Flourié B, Franchisseur C, Rambaud JC, Jian R. Abnormal perception of visceral pain in response to gastric distension in chronic idiopathic dyspepsia. The irritable stomach syndrome. *Dig Dis Sci*. 1991;36(9):1249-54.
12. Samsom M, Verhagen M, vanBerge Henegouwen G, Smout A. Abnormal clearance of exogenous acid and increased acid sensitivity of the proximal duodenum in dyspeptic patients. *Gastroenterology*. 1999;116(3):515-20.
13. Thumshirn M. Pathophysiology of Functional Dyspepsia. *Gut*. 2002;51:63-6.
14. Tytgat G. The Sydney System: endoscopic division. *J Gastroenterol Hepatol*. 1991;6(3):223-34.
15. Konorev MR, Litviakov AM, Kozlov LM, Ianchenko TIa. [Duodenitis: etiology, pathogenesis, classification, manifestations and diagnosis]. *Klin Med (Mosk)*. 1998;76(4):12-6.

16. Jönsson KA, Gotthard R, Bodemar G, Brodin U. The clinical relevance of endoscopic and histologic inflammation of gastroduodenal mucosa in dyspepsia of unknown origin. *Scand J Gastroenterol.* 1989;24(4):385-95.
17. Holtmann G, Gschossmann J, Buenger L, Gerken G, Talley N. Do changes in visceral sensory function determine the development of dyspepsia during treatment with aspirin? *Gastroenterology.* 2002;123(5):1451-8.
18. Ford A, Thabane M, Collins S, Moayyedi P, Garg A, Clark W, 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.
19. Talley N, Boyce P, Jones M. Dyspepsia and health care seeking in a community: How important are psychological factors? *Dig Dis Sci.* 1998;43(5):1016-22.
20. Filipović B, Randjelovic T, Ille T, Markovic O, Milovanović B, Kovacevic N, et al. Anxiety, personality traits and quality of life in functional dyspepsia-suffering patients. *Eur J Intern Med.* 2013;24(1):83-6.
21. Talley NJ, Weaver AL, Zinsmeister AR. Smoking, alcohol, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in outpatients with functional dyspepsia and among dyspepsia subgroups. *Am J Gastroenterol.* 1994;89(4):524-8.
22. Coelho LG, Maguinilk I, Zaterka S, Parente JM, Passos MdCF, Moraes-Filho JP. 3º Consenso Brasileiro para Estudo do *Helicobacter pylori*. *Arq Gastroenterol.* 2013;50(2):81-96.
23. Moayyedi P, Delaney BC, Vakil N, Forman D, Talley NJ. The efficacy of proton pump inhibitors in nonulcer dyspepsia: a systematic review and economic analysis. *Gastroenterology.* 2004;127(5):1329-37.
24. Veldhuyzen van Zanten SJ, Jones MJ, Verlinden M, Talley NJ. Efficacy of cisapride and domperidone in functional (nonulcer) dyspepsia: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(3):689-96.
25. Moayyedi P. Dyspepsia. *Curr Opin Gastroenterol.* 2012;28(6):602-7.
26. Quatero AO, Numans ME, Post MW, de Melker RA, de Wit NJ. One-year prognosis of primary care dyspepsia: predictive value of symptom pattern, *Helicobacter pylori* and GP management. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2002;14(1):55-60.
27. Abbas A, Lichtman A, Pober J. *Cellular and Molecular Immunology.* 3, editor. Philadelphia 1998.
28. Rios J, Carvalho L. *Alergia Clínica – Diagnóstico e Tratamento.* 1, editor. Rio de Janeiro 1995.
29. Mishra A HS, Lee JJ. Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract. *J Clin Invest.* 1999;103(17):19-27.
30. Dent LA SM, Mellor AL, Sanderson CJ. Eosinophilia in transgenic mice expressing interleukin 5. *J Exp Med.* 1990;172(5):1425-31.
31. Blanchard C WN, Stringer KF, Mishra A, Fulkerson PC, Abonia JP, Jameson SC, Kirby C, Konikoff MR, Collins MH, Cohen MB, Akers R, Hogan SP, Assa'ad AH, Putnam PE, Aronow BJ, Rothenberg ME. Eotaxin-3 and a uniquely conserved gene-expression profile in eosinophilic esophagitis. *J Clin Invest.* 2006;116(2):536-47.
32. Matthews AN, Friend DS, Zimmermann N, Sarafi MN, Luster AD, Pearlman E, et al. Eotaxin is required for the baseline level of tissue eosinophils. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(11):6273-8.
33. Vanheel H VM, Vanuytsel T, Van Oudenhove L, Martinez C, Keita AV, Pardon N, Santos J, Söderholm JD, Tack J, Farré R. Impaired duodenal mucosal integrity and low-grade inflammation in functional dyspepsia. *Gut* 8 Mar 2013 Ahead of print.

34. 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.
35. Jacoby DB GG, Fryer AD. Human eosinophil major basic protein is an endogenous allosteric antagonist at the inhibitory muscarinic M2 receptor. *J Clin Invest.* 1993;91(4):1314-18.
36. Zheutlin LM AS, Gleich GJ, Thomas LL. Stimulation of basophil and rat mast cell histamine release by eosinophil granule-derived cationic proteins. *J Immunol.* 1984;133(4):2180-5.
37. Gleich GJ, Loegering DA, Bell MP, Checkel JL, Ackerman SJ, McKean DJ. Biochemical and functional similarities between human eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein: homology with ribonuclease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(10):3146-50.
38. Venge P BJ, Carlson M, Håkansson L, Karawaczyk M, Peterson C, Sevéus L, Trulsson A. Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clin Exp Allergy.* 1999;29(9):1172-86.
39. Agosti JM, Altman LC, Ayars GH, Loegering DA, Gleich GJ, Klebanoff SJ. The injurious effect of eosinophil peroxidase, hydrogen peroxide, and halides on pneumocytes in vitro. *J Allergy Clin Immunol.* 1987;79(3):496-504.
40. Prussin C. Eosinophilic gastroenteritis and related eosinophilic disorders. *Gastroenterol Clin North Am.* 2014;43(2):317-27.
41. Underwood DC OR, Newsholme SJ, Torphy TJ, Hay DW. Persistent airway eosinophilia after leukotriene (LT) D4 administration in the guinea pig: modulation by the LTD4 receptor antagonist, pranlukast, or an interleukin-5 monoclonal antibody. *Am J Respir Crit Med.* 1996;154(4):850-7.
42. Hogan SP MA, Brandt EB, Royalty MP, Pope SM, Zimmermann N, Foster PS, Rothenberg ME. . A pathological function for eotaxin and eosinophils in eosinophilic gastrointestinal inflammation. *Nat Immunol.* 2001;2(4):353-60.
43. Friesen CA KG, 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.
44. Dibbert B, Daigle I, Braun D, Schranz C, Weber M, Blaser K, et al. Role for Bcl-xL in delayed eosinophil apoptosis mediated by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-5. *Blood.* 1998;92(3):778-83.
45. Bafutto M OE, Bafutto AA, Bafutto EHF, Bomfim IC, Rezende Filho J. 977 Duodenal Eosinophilia: A Link Between Functional Dyspepsia and Post-Infective Functional Dyspepsia? *Gastroenterology.* 2012;142(5(1)):171.
46. Walker MM SS, Murray CE, Rajendran A, Hoare JM, Negus R, Powell N, Talley NJ. Implications of eosinophilia in the normal duodenal biopsy - an association with allergy and functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2010;31(11):1229-36.
47. Talley NJ WM, Aro P, Ronkainen J, Storskrubb T, Hindley LA, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Agréus L. Non-ulcer dyspepsia and duodenal eosinophilia: an adult endoscopic population-based case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007;5(10):1175-83.
48. Yan BM SE. Primary eosinophilic disorders of the gastrointestinal tract. *Gut.* 2009;58(5):721-32.
49. Spergel JM, Book WM, Mays E, Song L, Shah SS, Talley NJ, et al. Variation in prevalence, diagnostic criteria, and initial management options for eosinophilic gastrointestinal diseases in the United States. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2011;52(3):300-6.

50. Talley NJ, Shorter RG, Phillips SF, Zinsmeister AR. Eosinophilic gastroenteritis: a clinicopathological study of patients with disease of the mucosa, muscle layer, and subserosal tissues. *Gut*. 1990;31(1):54-8.
51. Tan AC, Kruiemel JW, Naber TH. Eosinophilic gastroenteritis treated with non-enteric-coated budesonide tablets. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2001;13(4):425-7.
52. 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.
53. Ovalle W, Nahirney P, editors. *Netter's Essential Histology* 2013.
54. Yan BM, Shaffer EA. Primary eosinophilic disorders of the gastrointestinal tract. *Gut*. 2009;58(5):721-32.
55. Collins MH. Histopathologic features of eosinophilic esophagitis and eosinophilic gastrointestinal diseases. *Gastroenterol Clin North Am*. 2014;43(2):257-68.
56. Toukan AU KM, Amr SS, Arnaout MA, Abu-Romiyeh AS. Gastroduodenal inflammation in patients with non-ulcer dyspepsia. A controlled endoscopic and morphometric study. *Dig Dis Sci*. 1985;30(4):313-20.
57. 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.
58. Veerappan G, Moawad F, Duncan TJ, Maydonovitch C, Baker TP, Perry JL, et al. 362 Non-Ulcer Dyspepsia Not Associated with Gastric or Duodenal Eosinophilia. *Gastroenterology*. Volume 136, Issue 5, Supplement 1, Pages A-58-A-59, May 2009;5:58-9.
59. Binesh F, Akhondei M, Pourmirafzali H, Rajabzadeh Y. Determination of relative frequency of eosinophils and mast cells in gastric and duodenal mucosal biopsies in adults with non-ulcer dyspepsia. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2013;23(5):326-9.
60. Song S, Song Y, Zhang H, Li G, Li X, Wang X, et al. Increased counts and degranulation of duodenal mast cells and eosinophils in functional dyspepsia- a clinical study. *Med Glas (Zenica)*. 2014;11(2):276-82.

ARTIGO EM INGLÊS**CONFORME AS NORMAS DO PERIÓDICO *DIGESTIVE DISEASE AND SCIENCES*****DUODENAL EOSINOPHILIA AND FUNCTIONAL DYSPEPSIA: A CASE - CONTROL STUDY**

Carine Leite¹, Guilherme Becker Sander^{1,2}, Luiz Edmundo Mazzoleni³, Diego de Mendonça Uchoa², Juliana Araújo Castanho¹, Tobias Cancian Milbradt², Felipe Mazzoleni², Luise Meurer^{1,2}

1. Gastroenterology and Hepatology Postgraduation Program, UFRGS 2. Hospital de Clínicas of Porto Alegre 3. School of Medicine, UFRGS.

ABSTRACT

Introduction: Functional dyspepsia is a highly prevalent disease with major economic and social impact. Its etiology is still poorly understood, and it has been suggested the association of increased numbers of eosinophils on the duodenal mucosa with dyspeptic symptoms. However, this issue is still controversial.

Objective: To determine if there is association between duodenal eosinophilia and dyspeptic symptoms.

Methods: Functional dyspeptic patients according to the Rome III criteria (cases) and individuals without gastrointestinal symptoms (controls) were included. Groups were matched by age, sex and infection with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Eosinophils in the second duodenal portion were counted in five high-power fields (HPF), randomly selected in endoscopic biopsies and the value was compared between groups.

Results: 42 functional dyspeptic patients and 21 controls (mean age 39.6 and 38.7 years old, respectively) were included; 71.4% were women and 61.9% were positive for *H. pylori* in each group. Cases and controls had similar eosinophil counts/HPF in the duodenal biopsy: median = 11.9 and 12.6 respectively ($P = 0.194$). In the case group the eosinophil count was higher in *H. pylori* carriers than in noncarriers (median 13,6 versus 6,1 $P < 0,001$); however this count was similar in the control group (median 12,6 versus 15,7 $P = 0,8$).

Conclusions: No difference was found in the duodenal eosinophil count between functional dyspeptic patients and controls. However, there seems to be an interaction between eosinophilic infiltrate and symptoms in the subgroup of *H. pylori*-infected cases.

Keywords: dyspepsia; biopsy; duodenum; eosinophil.

INTRODUCTION

Dyspeptic symptoms affect probably about a third [1] of the world population. Most of these individuals suffer from functional dyspepsia (FD), defined by symptoms arising from the gastroduodenal region in the absence of any explanatory organic disease [2].

The physiopathogenesis of FD is still poorly understood, with hypotheses including gastroduodenal motility disorders [3], gastric hypersensitivity to distention and acids [4,5], microbiological triggering factors such as gastroenteritis, *Helicobacter pylori* infection [6,7], and psychosocial issues [8,9]. However, these factors do not explain symptoms in all patients and targeted treatments have proven ineffective.

Studies have been conducted to evaluate the association of duodenal histopathological alterations with FD. Some authors found a larger number of eosinophils in the duodenal mucosa of dyspeptic patients than in asymptomatic controls [10-13]. Eosinophils participate in the interaction between innate and acquired immunity and are important in the inflammatory response of type 2 hypersensitivity reactions. They cause symptoms due to the release of cytokines, which lead to neural excitation, muscle spasms and pain [14].

However, the finding of duodenal eosinophilia is not unanimous among different studies, with conflicting results [15,16]. This study aims to evaluate the association of duodenal eosinophilia with symptoms in functional dyspeptic patients.

METHODS

The functional dyspeptic patients (cases) in this investigation participated in the randomized double-blind study Heroes [6] (*Helicobacter* Eradication Relief Of Dyspeptic Symptoms) – ClinicalTrials.gov number NCT00404534. In this paper, we evaluated the effect of *H. pylori* eradication on the symptoms of functional dyspepsia. The study was conducted in our institution, a university hospital. Individuals aged 18 or older who fulfilled the Rome III criteria for functional dyspepsia were included. We excluded patients with predominant symptoms of heartburn or irritable bowel syndrome; alarm symptoms; history of peptic ulcer, upper gastrointestinal tract surgery, or biliary colic; previous treatment for eradication of *H. pylori*; known allergies to study medication; serious comorbidities; or alcohol or drug abuse. Use of antibiotics or bismuth during the 4 weeks before enrollment, proton pump inhibitors during the 2 weeks before enrollment, or treatment with histamine-2 receptor blockers in the week before enrollment were not permitted. We also excluded childbearing women; patients unable to answer the study questionnaires; unwilling or unable to provide consent.

The control group consisted of individuals without symptoms in gastrointestinal tract, selected among donors for the blood bank at the same hospital. They were subjected to the same exclusion criteria as the cases.

Both studies were approved by the HCPA Ethics Committee, and informed consent was obtained from all cases and controls before inclusion.

Study Procedures

Cases and controls were submitted to an interview, demographic data collection and physical examination, including anthropometric measurements. Symptoms were assessed using the PADYQ (Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire). This instrument shows high internal consistency, reproducibility, responsiveness, discriminant validity and content validity [17]. It comprises 11 questions about the frequency, duration and intensity of dyspeptic symptoms over the last 30 days, with scores ranging from 0 (no symptom) to 44 (severe symptoms). Among controls, only those with a score 8 or lower were included.

Functional dyspeptic patients were classified into two subgroups according to the predominant symptom established by the Rome III criteria: epigastric pain syndrome (EPS) and postprandial distress syndrome (PDS). Cases and controls included were submitted to blood collection (blood count) and esophagogastroduodenoscopy with gastric and duodenal mucosa biopsies. The examinations were performed by two trained endoscopists. In the event of disagreement between findings, a third endoscopist was consulted. For those individuals whose findings were not only gastritis, duodenitis or hiatal hernia were excluded.

Histopathology

Fragments from gastric endoscopic biopsies of the antrum and body were histologically analyzed for *H. pylori* (H&E and Giemsa staining) and the rapid urease test. They were considered positive for *H. pylori* when confirmed by both methods. In the event of disagreement a third pathologist was consulted.

Biopsies of the second duodenal portion were stained with H&E and evaluated by a pathologist (DMU) blind to the patient's group (case or control). Five high-power fields (40X) were randomly selected on each fragment, eosinophils were counted in each field, then sum and mean was

obtained. The samples were previously analyzed for villus architecture, intraepithelial lymphocyte count, chronic inflammation signs, metaplasia, presence of pathogens and erosions.

Sample Size

A sample size of 21 controls and 42 dyspeptic patients was calculated to identify differences in mean eosinophil counts between cases and controls with power of 95% [10].

Statistical Analysis

SPSS software version 21.0 was used, applying chi-square tests with and without Yates correction for categorical variables and Student's T test for quantitative variables with normal distribution. The distribution curve of the mean eosinophil count/HPF of individuals was found to be asymmetrical, and the median and interquartile ranges were obtained.

Mann-Whitney test was used to assess the primary outcome, namely the association between the duodenal intramucosal eosinophil count and dyspepsia. The level of significance was set at 5%.

RESULTS

A total of 42 cases and 21 controls were included, randomly selected from groups classified by sex and *H. pylori* infection status so that the baseline characteristics of the two samples were similar. The sample consisted primarily of females (70.4%). Cases and controls had a similar mean age: 39.6 years old (SD 10.9) and 38.7 years old (SD 10.5), respectively ($P = 0.74$). Of the total sample in both groups, 61.9% were infected with *H. pylori*.

Most controls scored 0 in the PADIQ and the average score for cases was 20.4 ($P < 0.001$). Next table describes background characteristics.

Table 1 – Sample Characterization

Variables	Dyspepsia Group	Control Group	P Value
Age (years) – mean \pm SD	39.6 \pm 10.9	38.7 \pm 10.5	0.74
Sex – n (%)			
Male	12(28.6)	6 (28.6)	1
Female	30(71.4)	15(71.4)	
<i>H. pylori</i> – n (%)			
Positive	26(61.9)	13(61.9)	1
Negative	16(38.1)	8(38.1)	
Race – n	38(90.5)	17(81)	0.41
White	2(4.8)	3(14.3)	
Black	2(4.8)	1(4.8)	
Mixed			
BMI(kg/m ²) – mean \pm SD	24.78 \pm 4.6	26.36 \pm 4.33	0.95
PADYQ – mean \pm SD	20,4 \pm 8,06	0	<0,001

Groups had similar duodenal endoscopic findings, with 81% exhibiting normal duodenum in both groups. Among functional dyspeptic patients, the duodenum was histologically normal in 31 (73.8%) cases and normal in 18 (85.7%) among controls, $P=0.6$. Regarding the alterations found among cases, eight had duodenitis, one had duodenal lymphangiectasia, and two showed gastric metaplasia, whereas 3 controls exhibited duodenitis. No patient had eosinophilic duodenitis.

The median eosinophil count per high-power field was similar between cases and controls, as well as in the analysis of the FD subgroups containing 26 EPS patients and 16 PDS patients. There was no relationship between the serum eosinophil value and duodenal count ($P = 0.08$).

Table 2. Eosinophil count/HPF- dyspeptic patients x controls.

Group	Eosinophil count/HPF, median (interquartile range)	<i>P</i> value vs controls*
Cases	11.9 (6.7-14.7)	0.194
EPS	11.5 (6.7-14.6)	0.181
PDS	12.2 (6.5-16.8)	0.421
Controls	12.6 (8.8-22.6)	-

* Mann-Whitney test

The influence of *H. pylori* was observed on the eosinophil counts, which were higher in infected individuals. However, when cases and controls were separately analyzed, there was significance only in the first group, with a median of 13.6 among carriers versus 6.1 in noncarriers ($P < 0.001$).

Table 3. Eosinophil count/HPF according to HP status.

	HP positive	HP negative	<i>P</i> value*
	Median (interquartile range)	Median (interquartile range)	
Whole sample	13.2(10.2-18.4)	8.1(5.7-14)	0.005
Cases	13.6(11.7-17.2)	6.1(4.6-8.8)	<0.001
Controls	12.6(8-21.6)	15.7(10.2-23.79)	0.8

* Mann-Whitney test

DISCUSSION

Several studies have demonstrated the relationship between duodenal eosinophilia and functional dyspepsia, which could explain the etiology of symptoms in some individuals. However, there were doubts as to the existence of this association due to controversial findings in the literature. Our study indicated the absence of this relationship.

The hypothesis of a relationship between eosinophilic infiltrate and dyspepsia was initially investigated by Toukan [18], who analyzed gastroduodenal endoscopies and biopsies in dyspeptic patients and controls. The author recorded a higher mean eosinophil count in the duodenum for the first group, even with a similar endoscopic appearance. Later, Talley and Walker [10] confirmed this finding in the Swedish population. The same group conducted another case-control study of EPS and PDS in London's population, but found an association only in individuals in the second subgroup [11]. They also conducted a study in Australia, where they observed no association between functional dyspepsia and eosinophilic infiltrate, except for cases of postprandial fullness. A study by Bafutto with 36 dyspeptic patients and nine controls in Brazil showed a similar result [12].

Other studies also yielded negative results, such as the investigation carried out by Veerapan (Washington) [15] and research conducted by Binesh among Iranians [19]. A recently published study by Song found a positive association, but the status of the *H. pylori* infection was not evaluated, which, as we noted, can influence the results [13].

We believe that our negative findings are extremely reliable and scientifically relevant. The patients included were carefully selected for participation in a randomized clinical trial. The Heroes trial modified clinical management regarding the criteria for eradication of *H. pylori* in dyspeptic patients, indicating its treatment for all carriers [20]. Our controls were asymptomatic as regards their digestive tract. None of the individuals showed any gastroduodenal alteration in the endoscopy other than gastritis or duodenitis. In addition, we were careful to ensure that the baseline characteristics of cases and controls were similar for sex, age and *H. pylori* infection status. We identified a possible association between the eosinophilic infiltrate and the generation of symptoms in the population infected by the bacteria, a finding not previously reported in the literature.

Limitations of our study include the failure to investigate the presence of parasitic infection or allergic factors in the individuals included. However, we believe this was no longer relevant when negative results were found.

The lack of an association between eosinophils and dyspeptic symptoms in some studies is not in disagreement with previous positive findings. Populations are different, with local genetic and microbiological influences and allergen exposure, factors known to influence the recruitment and accommodation of eosinophils on the mucosa of the gastrointestinal tract [21].

We suggest that results from previous studies have no validity for our population. However, functional dyspepsia is a multifactorial disease whose etiology should be tailored to each individual. We believe that the association between duodenal eosinophilia and symptoms in *H. pylori* infected patients should prompt new studies.

Acknowledgement: this study was funded by FIPE, Fundação de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Conflict of interest: none.

REFERENCES

- 1 Mahadeva S, Goh K: Epidemiology of functional dyspepsia: A global perspective. *World J Gastroenterol* 2006;12:2661-2666.
- 2 Tack J, Talley N, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada J, Stanghellini V: Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006;130:1466-1479.
- 3 Stanghellini V GC, Maccarini MR, Paparo GF, Corinaldesi R, Barbara L.: Fasting and postprandial gastrointestinal motility in ulcer and non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1992;33:184-190.
- 4 Lémann M, Dederding JP, Flourié B, Franchisseur C, Rambaud JC, Jian R: Abnormal perception of visceral pain in response to gastric distension in chronic idiopathic dyspepsia. The irritable stomach syndrome. *Dig Dis Sci* 1991;36:1249-1254.
- 5 Samsom M, Verhagen M, vanBerge Henegouwen G, Smout A: Abnormal clearance of exogenous acid and increased acid sensitivity of the proximal duodenum in dyspeptic patients. *Gastroenterology* 1999;116:515-520.
- 6 Mazzoleni L, Sander ,GB, Francesconi, CF, Mazzoleni, F, Uchoa, DM, De Bona, LR, Milbradt T, Von Reisswitz, PS, Berwanger, O, Bressel, M, Edelweiss, MI, Marini, SS, Molina, CG, Folador, L, Lunkes, RP, Heck, R, Birkhan, OA, Spindler, BM, Colombo, Bda S, Guerrieri, PP, Renck L, Grando, E, Hocevar de Moura, B, Prolla, JC: Helicobacter pylori eradication in functional dyspepsia: Heroes trial. *Arch Intern Med* 2011;171:1929-1936.
- 7 Thumshirn M: Pathophysiology of functional dyspepsia. *Gut* 2002;51:63-66.
- 8 Talley N, Boyce P, Jones M: Dyspepsia and health care seeking in a community: How important are psychological factors? *Dig Dis Sci* 1998;43:1016-1022.
- 9 Filipović B, Randjelovic T, Ille T, Markovic O, Milovanović B, Kovacevic N, Filipović B: Anxiety, personality traits and quality of life in functional dyspepsia-suffering patients. *Eur J Intern Med* 2013;24:83-86.
- 10 Talley NJ WM, Aro P, Ronkainen J, Storskrubb T, Hindley LA, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Agréus L: Non-ulcer dyspepsia and duodenal eosinophilia: An adult endoscopic population-based case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1175-1183.

- 11 Walker MM, Salehian SS, Murray CE, Rajendran A, Hoare JM, Negus R, Powell N, Talley NJ: Implications of eosinophilia in the normal duodenal biopsy - an association with allergy and functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:1229-1236.
- 12 Bafutto M OE, Bafutto AA, Bafutto EHF, Bomfim IC, Rezende Filho J: 977 duodenal eosinophilia: A link between functional dyspepsia and post-infective functional dyspepsia? *Gastroenterology* 2012;142:171.
- 13 Song S, Song Y, Zhang H, Li G, Li X, Wang X, Liu Z: Increased counts and degranulation of duodenal mast cells and eosinophils in functional dyspepsia- a clinical study. *Med Glas (Zenica)* 2014;11:276-282.
- 14 Walker MM, Warwick A, Ung C, Talley NJ: The role of eosinophils and mast cells in intestinal functional disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2011;13:323-330.
- 15 Veerappan G, Moawad F, Duncan TJ, Maydonovitch C, Baker TP, Perry JL, Osgard EM, Wong RK: 362 non-ulcer dyspepsia not associated with gastric or duodenal eosinophilia. *Gastroenterology* Volume 136, Issue 5, Supplement 1 , Pages A-58-A-59, May 2009;5:58-59.
- 16 Walker MM, Aggarwal KR, Shim LS, Bassan M, Kalantar JS, Weltman MD, Jones M, Powell N, Talley NJ: Duodenal eosinophilia and early satiety in functional dyspepsia: Confirmation of a positive association in an Australian cohort. *J Gastroenterol Hepatol* 2014;29:474-479.
- 17 Sander GB, Mazzoleni LE, Francesconi CF, Wortmann AC, Ott EA, Theil A, Da Cruz PV, Da Silva AC, Oliveira L, Beheregaray S, Matioti S, Somm G, Goldim JR: Development and validation of a cross-cultural questionnaire to evaluate nonulcer dyspepsia: The porto alegre dyspeptic symptoms questionnaire (padyq). *Dig Dis Sci* 2004;49:1822-1829.
- 18 Toukan AU KM, Amr SS, Arnaout MA, Abu-Romiyeh AS: Gastroduodenal inflammation in patients with non-ulcer dyspepsia. A controlled endoscopic and morphometric study. *Dig Dis Sci* 1985;30:313-320.
- 19 Binesh F, Akhondei M, Pourmirafzali H, Rajabzadeh Y: Determination of relative frequency of eosinophils and mast cells in gastric and duodenal mucosal biopsies in adults with non-ulcer dyspepsia. *J Coll Physicians Surg Pak* 2013;23:326-329.
- 20 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ, Group EHS: Management of helicobacter pylori infection--the maastricht iv/ florence consensus report. *Gut* 2012;61:646-664.
- 21 Prussin C: Eosinophilic gastroenteritis and related eosinophilic disorders. *Gastroenterol Clin North Am* 2014;43:317-327.

ARTIGO EM PORTUGUÊS

EOSINOFILIA EM DUODENO E DISPEPSIA FUNCIONAL: UM ESTUDO DE CASOS E CONTROLES.

Carine Leite¹, Guilherme Becker Sander^{1,2}, Luiz Edmundo Mazzoleni³, Diego de Mendonça Uchoa², Juliana Araújo Castanho¹, Tobias Cancian Milbradt², Felipe Mazzoleni², Luise Meurer^{1,2}

1. Programa de pós-graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, UFRGS 2. Hospital de Clínicas de Porto Alegre 3. Faculdade de Medicina, UFRGS

RESUMO

Introdução: Dispepsia funcional é uma doença de alta prevalência e grande impacto econômico e social. Sua etiologia ainda é mal esclarecida, e a literatura tem sugerido a associação do aumento do número de eosinófilos em mucosa duodenal com os sintomas dispépticos. No entanto, o tema ainda é controverso.

Objetivo: Avaliar se existe associação entre eosinofilia duodenal e sintomas dispépticos.

Métodos: Foram incluídos pacientes dispépticos funcionais pelos critérios de Roma III (casos) e indivíduos assintomáticos do trato gastrointestinal (controles). Os grupos foram pareados por idade, sexo e infecção por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Eosinófilos em segunda porção duodenal foram quantificados em 5 campos de maior aumento (CMA), selecionados randomicamente em biópsias endoscópicas. Realizada soma e média dos valores obtidos em cada espécime.

Resultados: Foram incluídos 42 dispépticos funcionais e 21 controles (idade média 39,6 e 38,7 anos respectivamente); 71,4% mulheres e 61,9% *H. pylori* positivos em cada grupo. Os casos e controles apresentaram semelhante contagem de eosinófilos/CMA na biópsia duodenal: mediana=11,9 e 12,6 respectivamente ($P=0,194$). No grupo de casos a contagem de eosinófilos foi maior entre os portadores de *H. pylori* do que nos indivíduos não infectados (mediana 13,6 *versus* 6,1 $P<0,001$); no entanto foi semelhante no grupo de controles (mediana 12,6 *versus* 15,7 $P=0,8$).

Conclusões: Não foi demonstrada diferença de contagem de eosinófilos duodenais entre dispépticos funcionais e controles. Entretanto, parece haver interação com infiltrado eosinofílico e sintomas no subgrupo de casos infectados pelo *H. pylori*.

Palavras-chave: dispepsia; biópsia; duodeno; eosinófilo.

INTRODUÇÃO

Sintomas dispépticos atingem provavelmente um terço [1] da população mundial. A maioria desses indivíduos são portadores de dispepsia funcional (DF), definida por sintomas originados da região gastroduodenal na ausência de doença orgânica que justifique [2].

A fisiopatogenia da DF ainda é mal definida, havendo como hipóteses distúrbios de motilidade gastroduodenais [3], hipersensibilidade gástrica à distensão e ácido [4,5], gatilhos microbiológicos como gastroenterites e infecção por *Helicobacter pylori* [6,7], além de questões psicossociais [8,9]. No entanto, tais fatores não explicam os sintomas em todos os pacientes, e tratamentos direcionados aos mesmos têm se mostrado pouco eficazes.

Tem sido avaliada a associação de alterações histopatológicas duodenais com DF. Alguns autores encontraram maior número de eosinófilos em mucosa duodenal de dispépticos do que de controles assintomáticos [10-13]. Os eosinófilos participam da interação entre imunidade inata e adquirida, são importantes na resposta inflamatória da reação de hipersensibilidade do tipo 2. Geram sintomas devido à liberação de citocinas, que levam à excitação neural, espasmo muscular e dor [14].

No entanto, o achado de eosinofilia duodenal não é unânime entre os diferentes estudos, havendo resultados conflitantes [15,16]. Este estudo tem o objetivo de avaliar a associação de eosinofilia duodenal com os sintomas em pacientes dispépticos funcionais.

MÉTODOS

Os dispépticos funcionais (casos) deste estudo foram os participantes do ensaio clínico randomizado duplo-cego Heroes[6] (*Helicobacter Eradication Relief Of dyspeptic Symptoms*) - ClinicalTrials.gov número NCT00404534. Neste trabalho avaliou-se o efeito da erradicação do *H. pylori* nos sintomas de dispepsia funcional. Foi conduzido em hospital universitário, o Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Foram incluídos indivíduos com 18 anos ou mais e que preenchiam os critérios de Roma III para dispepsia funcional. Excluídos pacientes com sintomas predominantes de refluxo ou intestino irritável; sinais de alarme; história de úlcera péptica, cirurgia do aparelho digestivo alto ou cólica biliar; erradicação de *H. pylori* prévia; alergia às medicações do estudo; comorbidades graves; abuso de álcool ou drogas; uso de antibiótico ou sais de bismuto nas últimas 4 semanas, bem como de inibidor de bomba de prótons nas últimas duas semanas e de bloqueador de receptor histamínico tipo 2 na última semana. Excluídos gestantes e indivíduos incapazes de responder a questionários e consentimento informado.

O grupo controle constou de indivíduos assintomáticos do trato gastrointestinal, selecionados entre doadores do banco de sangue do mesmo hospital. Foram submetidos aos mesmos critérios de exclusão que os casos. Ambos os estudos foram aprovados pelo comitê de ética do HCPA, e obteve-se termo de consentimento informado de todos os casos e controles antes da inclusão.

Procedimentos do Estudo

Os casos e controles foram submetidos à anamnese, coleta de dados demográficos e exame físico, incluindo avaliação antropométrica. A avaliação de sintomas foi efetuada através do questionário

de sintomas PADYQ. Este instrumento possui evidência de elevada consistência interna, reprodutibilidade, responsividade, validade discriminante e validade de conteúdo[17]. Composto por 11 questões sobre frequência, duração e intensidade dos sintomas dispépticos nos últimos 30 dias. Varia de 0 (ausência de sintomas) a 44 (sintomas severos). Entre os controles, incluídos apenas os que pontuaram 8 pontos ou menos.

Os dispépticos funcionais foram classificados em dois subgrupos conforme o sintoma predominante segundo o Roma III: síndrome da dor epigástrica (SIDE) e síndrome do desconforto pós-prandial (SIDEPP). Os casos e controles incluídos foram submetidos à coleta de sangue (hemograma) e à esofagogastroduodenoscopia com biópsias de mucosa gástrica e duodenal. Os exames foram executados por dois endoscopistas treinados, e no caso de desacordo nos achados um terceiro era consultado. Excluídos indivíduos com achados que não fossem apenas gastrite, duodenite ou hérnia hiatal.

Histopatologia

Analisados fragmentos de biópsias endoscópicas gástricas de antro e corpo para pesquisa de *Helicobacter pylori*, utilizando-se avaliação histológica (H&E e Giemsa como coloração) e teste rápido da urease. Foram considerados *H. pylori* positivos se confirmação pelos dois métodos.

As biópsias de segunda porção duodenal foram coradas com H&E e avaliadas por patologista (DMU) cego quanto ao grupo do indivíduo (caso ou controle). Em cada lâmina selecionaram-se randomicamente 5 campos de maior aumento (40X), com contagem de eosinófilos em cada um deles, obtendo-se a média dos mesmos. Previamente estas amostras haviam sido analisadas em relação à arquitetura de vilos, contagem linfocitária intra-epitelial, sinais de inflamação crônica, metaplasia, presença de patógenos e erosões.

Tamanho amostral

Foi calculado um valor amostral de 21 controles e 42 dispépticos para encontrar diferença entre as médias de eosinófilos entre casos e controles com poder de 95% [10].

Análise Estatística

Utilizou-se o programa SPSS versão 21.0, com aplicação dos testes de chi-quadrado com e sem correção de *Yates* para as variáveis categóricas e teste T de *student* para as quantitativas de distribuição normal. A curva de distribuição da média de eosinófilos/CMA dos indivíduos apresentou-se de forma assimétrica, sendo obtida mediana e intervalo interquartil. Utilizou-se o teste de Mann-Whitney para avaliação do desfecho primário associação da contagem de eosinófilos intramucosos duodenais com dispepsia. Adotado nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Foram incluídos 42 casos e 21 controles, selecionados de forma randômica dentre grupos classificados por sexo e status de infecção por *H. pylori*, de forma que as características basais das duas amostras fossem semelhantes.

Incluimos amostra composta por maioria de indivíduos do sexo feminino (70,4%). Os casos e controles apresentaram média de idade semelhante: 39,6 anos (DP 10,9) e 38,7 anos (DP 10,5) respectivamente ($P=0,74$). Amostra foi composta por 61,9% de portadores de *H. pylori* em ambos os grupos.

A maioria dos controles pontuaram 0 no PADIQ e a média de pontuação dos casos foi 20,4 ($P<0,001$). A tabela a seguir descreve as características basais dos indivíduos.

Tabela 1 – Caracterização da amostra

Variáveis	Grupo Dispepsia	Grupo Controle	Valor <i>P</i>
Idade (anos) – média ± DP	39,6 ± 10,9	38,7 ± 10,5	0,74
Sexo – n(%)			
Masculino	12(28,6)	6 (28,6)	1
Feminino	30(71,4)	15(71,4)	
<i>H. pylori</i> – n(%)			
Positivo	26(61,9)	13(61,9)	1
Negativo	16(38,1)	8(38,1)	
Raça – n			
Branca	38(90,5)	17(81)	0,41
Preto	2(4,8)	3(14,3)	
Pardo	2(4,8)	1(4,8)	
IMC(kg/m ²) – média ± DP	24,78 ± 4,6	26,36 ± 4,33	0,95
PADYQ – média ± DP	20,4 ± 8,06	0	<0,001

Os grupos foram semelhantes em relação aos achados endoscópicos duodenais, com 81% de duodenos normais em ambos os grupos. Dentre os dispépticos funcionais, o duodeno foi histologicamente normal em 31 (73,8%) dos casos e dentre os controles, em 18 (85,7%), *P*=0,6. Alterações encontradas foram 8 casos de duodenite, uma linfangiectasia duodenal e duas metaplasias gástricas entre os casos, e 3 duodenites entre os controles. Nenhum caso compatível com duodenite eosinofílica.

A mediana da quantificação de eosinófilos por campo de maior aumento foi semelhante entre casos e controles, sendo também semelhante na análise de subgrupo de 26 portadores de DF do tipo SIDE e 16 do tipo SIDEPP. Não houve relação entre o valor sérico de eosinófilos com a quantificação duodenal (*P*=0,08).

Tabela 2. Quantificação de eosinófilos/CMA dispépticos x controles.

Grupo	Quantificação eosinófilos/CMA, mediana (percentil 25-75)	Valor <i>P</i> vs controles*
Casos	11,9 (6,7-14,7)	0,194
SIDE	11,5 (6,7-14,6)	0,181
SIDEPP	12,2 (6,5-16,8)	0,421
Controles	12,6 (8,8-22,6)	-

* Teste de Mann-Whitney

Observou-se influência do *H. pylori* na quantificação de eosinófilos, maior em indivíduos infectados. Porém, ao analisar-se separadamente casos e controles, houve significância apenas no primeiro grupo, em que a mediana foi de 13,6 em portadores versus 6,1 em não portadores ($P < 0,001$).

Tabela 3. Quantificação de eosinófilos/CMA conforme status HP.

	HP positivo	HP negativo	Valor <i>P</i> *
	mediana (percentil 25-75)	mediana (percentil 25-75)	
Toda amostra	13,2(10,2-18,4)	8,1(5,7-14)	0,005
Casos	13,6(11,7-17,2)	6,1(4,6-8,8)	<0,001
Controles	12,6(8-21,6)	15,7(10,2-23,79)	0,8

* Teste de Mann-Whitney

DISCUSSÃO

A relação de eosinofilia em duodeno com dispepsia funcional vinha sendo demonstrada em alguns estudos, o que poderia explicar a etiologia dos sintomas em alguns indivíduos. No entanto, havia dúvidas quanto à existência da associação devido a achados controversos na literatura. E nosso estudo evidenciou a inexistência desta relação.

A hipótese da relação entre infiltrado eosinofílico e dispepsia foi verificada inicialmente por Toukan [18], que analisou endoscopias e biópsias gastroduodenais em dispépticos e controles. Este

autor encontrou maior média de contagem de eosinófilos em duodeno no primeiro grupo, mesmo com aparência endoscópica semelhante. Posteriormente Talley e Walker [10] confirmaram este achado em população da Suécia. O mesmo grupo realizou outro estudo de casos SIDE, SIDEPP e controles em população londrina, mas encontrou associação apenas em indivíduos do segundo subgrupo [11]. Também realizaram pesquisa em população australiana, em que não encontraram associação de dispepsia funcional com infiltrado eosinofílico, apenas nos casos de plenitude pós-prandial. Estudo de Bafutto com 36 dispépticos e 9 controles no Brasil apresentou resultado semelhante [12].

Outros trabalhos também obtiveram resultados negativos, como o que foi realizado por Veerapan (Washington) [15] e o estudo de Binesh, entre iranianos [19]. Estudo de Song publicado recentemente encontrou associação positiva, porém sem avaliação do status de infecção por *H. pylori*, que como vimos pode influenciar nos resultados [13].

Consideramos que nossos achados negativos são de extrema relevância científica e confiabilidade. Os pacientes incluídos passaram por seleção criteriosa ao serem alocados em um ensaio clínico randomizado. O estudo Heroes modificou a conduta em relação aos critérios de erradicação de *H. pylori* em dispépticos, indicando-se realizá-la em todos que a possuem [20]. Nossos controles são assintomáticos do ponto de vista do aparelho digestivo. Nenhum dos indivíduos apresentava qualquer alteração gastroduodenal a não ser gastrite ou duodenite em endoscopia. E, ainda, tivemos o cuidado que as características basais dos casos e controles fossem semelhantes para sexo, idade e status de infecção por *H. pylori*. Encontramos a possível associação de infiltrado eosinofílico e geração de sintomas em população de infectados pela bactéria, dado que ainda não havia sido demonstrado na literatura.

Nosso estudo apresenta aspectos negativos. Não verificamos se havia infecção parasitária nem fatores alérgicos nos indivíduos incluídos, mas não consideramos mais relevante ao verificar resultado negativo.

A ausência de associação entre eosinófilos e sintomas dispépticos em alguns estudos não se contrapõem a achados prévios positivos. As populações são diferentes, com influência genética, microbiológica e exposição a alérgenos de caráter local, fatores que sabidamente influenciam o recrutamento e alojamento de eosinófilos na mucosa do trato gastrointestinal [21].

Acreditamos que os achados de estudos anteriores não apresentam validade para nossa população. No entanto a dispepsia funcional é uma doença multifatorial cuja etiologia deve ser individualizada

em cada indivíduo. Um achado que acreditamos merecer estudos adicionais é a associação de eosinofilia duodenal e sintomas entre dispepticos infectados por *H. pylori*.

Financiamento: este estudo foi financiado pelo FIPE, Fundação de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Conflito de interesses: não há.

REFERÊNCIAS

- 1 Mahadeva S, Goh K: Epidemiology of functional dyspepsia: A global perspective. *World J Gastroenterol* 2006;12:2661-2666.
- 2 Tack J, Talley N, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada J, Stanghellini V: Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006;130:1466-1479.
- 3 Stanghellini V GC, Maccarini MR, Paparo GF, Corinaldesi R, Barbara L.: Fasting and postprandial gastrointestinal motility in ulcer and non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1992;33:184-190.
- 4 Lémann M, Dederding JP, Flourié B, Franchisseur C, Rambaud JC, Jian R: Abnormal perception of visceral pain in response to gastric distension in chronic idiopathic dyspepsia. The irritable stomach syndrome. *Dig Dis Sci* 1991;36:1249-1254.
- 5 Samsom M, Verhagen M, vanBerge Henegouwen G, Smout A: Abnormal clearance of exogenous acid and increased acid sensitivity of the proximal duodenum in dyspeptic patients. *Gastroenterology* 1999;116:515-520.
- 6 Mazzoleni L, Sander ,GB, Francesconi, CF, Mazzoleni, F, Uchoa, DM, De Bona, LR, Milbradt T, Von Reisswitz, PS, Berwanger, O, Bressel, M, Edelweiss, MI, Marini, SS, Molina, CG, Folador, L, Lunkes, RP, Heck, R, Birkhan, OA, Spindler, BM, Colombo, Bda S, Guerrieri, PP, Renck L, Grando, E, Hocevar de Moura, B, Prolla, JC: Helicobacter pylori eradication in functional dyspepsia: Heroes trial. *Arch Intern Med* 2011;171:1929-1936.
- 7 Thumshirn M: Pathophysiology of functional dyspepsia. *Gut* 2002;51:63-66.
- 8 Talley N, Boyce P, Jones M: Dyspepsia and health care seeking in a community: How important are psychological factors? *Dig Dis Sci* 1998;43:1016-1022.
- 9 Filipović B, Randjelovic T, Ille T, Markovic O, Milovanović B, Kovacevic N, Filipović B: Anxiety, personality traits and quality of life in functional dyspepsia-suffering patients. *Eur J Intern Med* 2013;24:83-86.
- 10 Talley NJ WM, Aro P, Ronkainen J, Storskrubb T, Hindley LA, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Agréus L: Non-ulcer dyspepsia and duodenal eosinophilia: An adult endoscopic population-based case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1175-1183.
- 11 Walker MM, Salehian SS, Murray CE, Rajendran A, Hoare JM, Negus R, Powell N, Talley NJ: Implications of eosinophilia in the normal duodenal biopsy - an association with allergy and functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:1229-1236.

- 12 Bafutto M OE, Bafutto AA, Bafutto EHF, Bomfim IC, Rezende Filho J: 977 duodenal eosinophilia: A link between functional dyspepsia and post-infective functional dyspepsia? *Gastroenterology* 2012;142:171.
- 13 Song S, Song Y, Zhang H, Li G, Li X, Wang X, Liu Z: Increased counts and degranulation of duodenal mast cells and eosinophils in functional dyspepsia- a clinical study. *Med Glas (Zenica)* 2014;11:276-282.
- 14 Walker MM, Warwick A, Ung C, Talley NJ: The role of eosinophils and mast cells in intestinal functional disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2011;13:323-330.
- 15 Veerappan G, Moawad F, Duncan TJ, Maydonovitch C, Baker TP, Perry JL, Osgard EM, Wong RK: 362 non-ulcer dyspepsia not associated with gastric or duodenal eosinophilia. *Gastroenterology* Volume 136, Issue 5, Supplement 1 , Pages A-58-A-59, May 2009;5:58-59.
- 16 Walker MM, Aggarwal KR, Shim LS, Bassan M, Kalantar JS, Weltman MD, Jones M, Powell N, Talley NJ: Duodenal eosinophilia and early satiety in functional dyspepsia: Confirmation of a positive association in an australian cohort. *J Gastroenterol Hepatol* 2014;29:474-479.
- 17 Sander GB, Mazzoleni LE, Francesconi CF, Wortmann AC, Ott EA, Theil A, Da Cruz PV, Da Silva AC, Oliveira L, Beheregaray S, Matioti S, Somm G, Goldim JR: Development and validation of a cross-cultural questionnaire to evaluate nonulcer dyspepsia: The porto alegre dyspeptic symptoms questionnaire (padyq). *Dig Dis Sci* 2004;49:1822-1829.
- 18 Toukan AU KM, Amr SS, Arnaout MA, Abu-Romiyeh AS: Gastroduodenal inflammation in patients with non-ulcer dyspepsia. A controlled endoscopic and morphometric study. *Dig Dis Sci* 1985;30:313-320.
- 19 Binesh F, Akhondei M, Pourmirafzali H, Rajabzadeh Y: Determination of relative frequency of eosinophils and mast cells in gastric and duodenal mucosal biopsies in adults with non-ulcer dyspepsia. *J Coll Physicians Surg Pak* 2013;23:326-329.
- 20 Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, Gensini GF, Gisbert JP, Graham DY, Rokkas T, El-Omar EM, Kuipers EJ, Group EHS: Management of helicobacter pylori infection--the maastricht iv/ florence consensus report. *Gut* 2012;61:646-664.
- 21 Prussin C: Eosinophilic gastroenteritis and related eosinophilic disorders. *Gastroenterol Clin North Am* 2014;43:317-327.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas para elucidar a etiologia da dispepsia funcional. A possível associação de eosinofilia duodenal com sintomas dispépticos não é achado unânime entre diferentes estudos, e alguns pesquisadores encontraram a relação apenas em subgrupo de indivíduos com plenitude pós-prandial.

Em nossa população não houve relação de infiltrado eosinofílico duodenal com sintomas. Realizamos estudo com metodologia criteriosa. Um achado que acreditamos merecer estudos adicionais é a associação de eosinofilia duodenal e sintomas entre dispépticos infectados por *H. pylori*.

ANEXO A**PADYQ – Porto Alegre Dyspeptic Symptoms Questionnaire**

Com relação aos últimos 30 dias

DOR

Qual a intensidade da dor abdominal (superior) na maioria dos dias neste período? ()

0. Ausente
1. Muito leve
2. Leve
3. Moderada
4. Forte
5. Muito forte

Qual a duração da dor na maioria dos dias neste período? ()

0. Não se aplica
1. Alguns minutos (menos que 30 minutos)
2. Menor que 2 horas
3. Maior que 2 horas

Com que frequência os Sr./Sra. apresentou dor abdominal nos últimos 30 dias? ()

0. Não se aplica

1. Raramente
2. 1 a 2 dias/semana
3. Quase diariamente
4. Diariamente

ESCORE TOTAL DOR _____ (máximo 12 pontos)

NÁUSEAS/VÔMITOS

Qual a intensidade das náuseas na maioria dos dias deste período? ()

0. Ausente
1. Muito leve
2. Leve
3. Moderada
4. Forte
5. Muito forte

Qual a duração aproximada da maioria dos episódios de náuseas? ()

0. Não se aplica
1. Alguns minutos (menos que 30 minutos)
2. Menor que 2 horas
3. Maior que 2 horas

Com que frequência o Sr./Sra. apresentou náuseas nos últimos 30 dias? ()

- 0. Não se aplica
- 1. Raramente
- 2. 1 a 2 dias/semana
- 3. Quase diariamente
- 4. Diariamente

Com que frequência o Sr./Sra. apresentou vômitos nos últimos 30 dias? ()

- 0. Não se aplica
- 1. Raramente
- 2. 1 a 2 dias/semana
- 3. Quase diariamente
- 4. Diariamente

ESCORE TOTAL NÁUSEAS/VÔMITOS: _____ (máximo 16 pontos)

DISTENSÃO/SACIEDADE

Qual a intensidade da sensação de distensão (“estufamento”/inchaço) nos últimos 30 dias? ()

- 0. Ausente
- 1. Muito leve
- 2. Leve
- 3. Moderada

4. Forte

5. Muito forte

Qual a duração destes episódios nestes períodos? ()

0. Não se aplica

1. Alguns minutos (menos que 30 minutos)

2. Menor que 2 horas

3. Maior que 2 horas

Com que frequência os Sr./Sra. apresentou esses episódios de distensão/inchaço no abdômen superior nos últimos 30 dias? ()

0. Não se aplica

1. Raramente

2. 1 a 2 dias/semana

3. Quase diariamente

4. Diariamente

Com que frequência o Sr./Sra. apresentou sensação de estar com o estômago cheio logo após começar a comer, nos últimos 30 dias? ()

0. Sem saciedade precoce

1. Raramente

2. 1 a 2 dias/semana

3. Quase diariamente

4. Diariamente

ESCORE TOTAL DISTENSÃO/SACIEDADE _____ (máximo 16 pontos)

PONTUAÇÃO TOTAL DOS SINTOMAS DISPÉPTICOS: _____ (máximo 44 pontos)

ANEXO B

APROVAÇÃO DO GPPG DO HCPA PARA EXECUÇÃO DESTE TRABALHO



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO CIENTÍFICA

A Comissão Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre analisou o projeto:

Projeto: 140214

Data da Versão do Projeto:

Pesquisadores:

DIEGO DE MENDONÇA UCHOA

LUISE MEURER

LUIZ EDMUNDO MAZZOLENI

GUILHERME BECKER SANDER

TOBIAS CANCIAN MILBRADT

CARINE LEITE

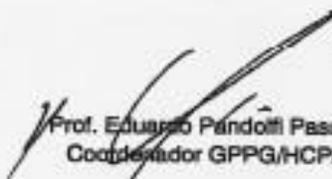
JULIANA ARAUJO CASTANHO

Título: Eosinofilia em Duodeno na Etiologia da Dispepsia Funcional

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.
Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG)

Porto Alegre, 14 de abril de 2014.


Prof. Eduardo Pandolfi Passos
Coordenador GPPG/HCPA