



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E  
BIOLOGIA CELULAR

FERNANDA FARIAS DE ALCÂNTARA

**HOMOCISTEÍNA VITAMINA B12 E ÁCIDO FÓLICO COMO  
BIOMACADORES DE TRIAGEM NO DIAGNÓSTICO  
PRECOCE E MONITORAMENTO DO CÂNCER GÁSTRICO**

**HOMOCYSTEIN VITAMIN B12 AND FOLIC ACID AS  
BIOCARDANTS OF TRIAL IN EARLY DIAGNOSIS AND  
MONITORING OF GASTRIC CANCER**

BELEM  
2018

**HOMOCISTEÍNA VITAMINA B12 E ÁCIDO FÓLICO COMO  
BIOMACADORES DE TRIAGEM NO DIAGNÓSTICO  
PRECOCE E MONITORAMENTO DO CÂNCER GÁSTRICO**

**Defesa** de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação acerca de Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de mestre.

**Área de concentração:** Biologia celular

**Linha de Pesquisa:** Câncer gástrico

**Orientador:** Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano

BELÉM  
2018

FERNANDA FARIAS DE ALCÂNTARA

**HOMOCISTEÍNA VITAMINA B12 E ÁCIDO FÓLICO COMO  
BIOMACARDORES DE TRIAGEM NO DIAGNÓSTICO  
PRECOCE E MONITORAMENTO DO CÂNCER GÁSTRICO**

**Defesa** de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de mestre.

Belém (PA), 11 de outubro de 2018.

**Banca examinadora:**

---

**Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano (Orientador)**

---

**Profa. Dr. Luiz Raimundo Campos da Silva Júnior (Universidade da Amazônia)**

---

**Profa. Dra. Bárbara do Nascimento Borges (ICB/UFPA)**

---

**Prof. Dra. Leticia Martins Lamarão (Fundação HEMOPA)**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

F224h Farias DE ALCANTARA, FERNANDA  
HOMOCISTEÍNA VITAMINA B12 E ÁCIDO FÓLICO COMO BIOMARCADORES DE TRIAGEM  
NO DIAGNÓSTICO PRECOCE E MONITORAMENTO DO CÂNCER GÁSTRICO / FERNANDA  
Farias DE ALCANTARA, Rommel Mario Rodríguez Burbano. — 2018  
49 f. : il. color

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia celular  
(PPGNBC), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. ROMMEL MARIO RODRÍGUEZ BURBANO

1. Câncer gástrico, homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, diagnóstico do câncer. I. Mario  
Rodríguez Burbano, Rommel. II. MARIO RODRÍGUEZ BURBANO, ROMMEL, *orient.* III. Título

CDD 571.6

---

## **AGRADECIMENTOS**

À Jesus Cristo, meu Senhor e Deus, melhor amigo, que me abençoou com a graça de trabalhar com algo que sou plenamente apaixonada, e me deu saúde e forças pra alcançar mais essa vitória.

À minha família, que sonhou comigo este dia, aos meus pais Janete Farias e Luís Fernando, irmã Patrícia Farias, minha sobrinha amada Sophia.

A amiga Gisele Aguiar, que mesmo de longe sempre se fez presente em minha vida; A Brenda Moraes e Marcus Lima os bonitos, vocês são demais.

Ao meu orientador o professor Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano, que apesar de tantas atribuições que lhe são conferidas, sempre me ajudou em tudo que precisei

Agradeço também ao apoio do Hospital Ophir Loyola e ao laboratório de Análises Clínicas da UFPA (LAC-ICB).

**"Um pouco de ciência nos  
afasta de Deus. Muito,  
nos aproxima."**

Louis Pasteur

## RESUMO

O câncer gástrico nas últimas décadas vem apresentando uma queda em número de casos, o que muito se deve ao progresso no que tange a saúde sanitária, e ao maior acesso da população a políticas educacionais. No entanto, continua sendo a terceira causa de morte a nível mundial entre homens e mulheres. Tais mortes, geralmente estão vinculadas ao diagnóstico tardio. O presente estudo pretende pelas dosagens de homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico, montar um perfil de biomarcadores de triagem, os quais possam ser inseridos na rotina comum de exames, visando o diagnóstico célere da doença. Foram analisadas 207 amostras de caso controle e 207 de pacientes com câncer gástrico, em ambos foram realizadas as dosagens bioquímicas de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12, pareadas em relação a idade, localização do tumor, sub-tipo, classificação tumoral, infecção por EBV (Epstein-Barr Vírus), e *Helicobacter pilory*. Para dosagem da tríade, foram utilizadas técnicas quimioluminescência, e as demais variáveis foram obtidas pelas informações hospitalares. Como resultados, foram encontradas diferenças significativas entre as médias da tríade dos pacientes com câncer em relação ao controle, em todas as variáveis pareadas. Em conclusão, nosso estudo mostrou que a análise da tríade (homocisteína, vitamina b12 e ácido fólico) tem seu valor no diagnóstico do câncer gástrico, podendo futuramente ser um eficaz marcador de triagem para este tipo de câncer.

Palavra-chave: Câncer gástrico; homocisteína; vitamina B12; ácido fólico; diagnóstico do câncer; triagem do câncer.

## **ABSTRACT**

Gastric cancer in the last decades has shown a decrease in the number of cases, which is much due to the progress in sanitary health, and the greater access of the population to educational policies. However, it remains the third leading cause of death worldwide between men and women. Such deaths are usually linked to late diagnosis. The present study intends to establish a profile of screening biomarkers by the homocysteine, vitamin B12 and folic acid dosages, which can be inserted in the routine routine of examinations, aiming the rapid diagnosis of the disease. A total of 207 control and 207 cases of gastric cancer patients were analyzed, both of which were biochemical measurements of homocysteine, folic acid and vitamin B12, matched in relation to age, tumor location, subtype, tumor classification, EBV (Epstein-Barr Virus), and Helicobacter pylori. For the triad dosage, chemiluminescence techniques were used, and the other variables were obtained by hospital information. As results, significant differences were found between the means of the triad of cancer patients in relation to the control, in all paired variables. In conclusion, our study showed that the triad analysis (homocysteine, vitamin b12 and folic acid) has its value in the diagnosis of gastric cancer, and may in the future be an effective marker of screening for this type of cancer.

**Keywords:** Gastric cancer; homocysteine; b12 vitamin; folic acid; diagnosis of cancer; screening for cancer.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AJCC	AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER
ARID1A	AT-RICH INTERACTIVE DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 1A
ATP	TRIFOSFATO DE ADENOSINA
CGP	CARCINOMATOSE PERITONEAL GÁSTRICA
CG	CÂNCER GÁSTRICO
CBL	COBALAMINA
DSE	DISSECÇÃO SUBMUCOSA ENDOSCÓPICA
DCF	DOCETAXEL/CISPLATINA/5-FLUOROURACILO
EBV	EPSTEIN-BARR
ECF	EPIRUBICINA/CISPLATINA/5-FLUOROURACILO
HCL	ÁCIDO CLORÍDRICO
HE	HOMOCISTEÍNA
HCAF	HOMOCISTEÍNA, COBALAMINA E ÁCIDO FÓLICO
IL	INTERLEUCINAS
KHCC	KING HUSSEIN CANCER CENTER
MALT	MUSOCA-ASSOCIATED LYMPHOID TISSUE
MSI	MICROSSATÉLITE
MCM	METILMALONIL COA MUTASE
MS	METIONINA SINTASE
NADPH	NICOTINAMIDA ADENINA DINUCLEÓTIDO FOSFATO
RHOA	FAMÍLIA DO GENE DE RAS HOMOLOGO, MEMBRO A
RT	RADIOTERAPIA ÓPTIMA
SAM	S-ADENOSILMETIONINA
SAH	S-ADENOSIL-HOMOCISTEÍNA
THF	TETRAIDROFOLATO
TNM	TUMOR LINFONODO METÁSTASE
5-MTHF	5-METILTETRAIDROFOLATO

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1. SISTEMA DE ESTADIAMENTO TNM (TUMOR, LINFONODO, METÁSTASE)	5
1.2. EPIDEMIOLOGIA	8
1.3. HOMOCISTEÍNA, COBALAMINA E ÁCIDO FÓLICO (HCAF)	12
1.3.1. HOMOCISTEÍNA	12
1.3.2. VITAMINA B12	15
1.3.3. ÁCIDO FÓLICO	16
1.3.4. HCAF E O CÂNCER	18
1.4. JUSTIFICATIVA	19
<b>2. OBJETIVO</b>	<b>21</b>
2.1. OBJETIVO GERAL	21
2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	21
<b>3. METODOLOGIA</b>	<b>22</b>
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>24</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>38</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>41</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b>	<b>42</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>49</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer de estômago, ou câncer gástrico (CG), se caracteriza por tumores no estômago, e pode ocorrer em qualquer local de sua extensão (regiões anatômicas: cárdia, fundo, corpo e piloro (antro)). Maioria desses tumores ocorrem na camada mucosa, surgindo como pequenas lesões irregulares com ulcerações, as quais rompem o tecido, característica própria dos tumores malignos (Hospital do Câncer de Barretos, 2016).

O CG pode disseminar-se de diferentes maneiras. Podendo crescer pela parede do órgão e invadir a vizinhança, vasos linfáticos e linfonodos próximos. O estômago tem uma rede muito rica de vasos linfáticos e gânglios. A medida que o carcinoma gástrico se torna mais avançado, pode se disseminar pela corrente sanguínea, e atingir outros órgãos como por exemplo, o fígado, pulmões e ossos (processo de metástase) (Hu, B. *et al.*, 2012; American Cancer Society, 2016).

Podemos dividir o CG em três formas histológicas: O adenocarcinoma, responsável por 95% dos tumores, é um tipo de câncer que se origina em tecidos glandulares. É o terceiro tumor maligno mais frequente no mundo. Depois temos o linfoma, que tem origem nos linfonodos com cerca de 2-4% dos casos, este se divide em 2 tipos, linfoma gástrico MALT (*Mucosa-associated lymphoid tissue*), é um linfoma associado a mucosa, constituído de células pequenas e com baixo grau de malignidade (INCA, 2016).

O segundo tipo de linfoma é de células grandes e com alto grau de malignidade, de incidência rara. E finalmente temos a terceira forma o leiomiossarcoma (1% dos casos), é um dos tumores benignos da musculatura lisa do estômago (INCA, 2016).

O câncer gástrico possui uma etiologia multifatorial, ou seja, sua incidência é mediada por vários fatores de risco, alguns destes já bem descritos outros ainda permanecem obscuros no desenvolvimento da doença. Dentre esses já elucidados podemos dividi-los em fatores endógenos de risco, como tipo de sangue A, anemia perniciosa, histórico familiar de câncer, modificações genéticas, câncer de colón, câncer colo-retal hereditário não polipose; e fatores

exógenos, dietas com alto consumo de cloreto de sódio, de água e de alimentos com quantidades elevadas de compostos nitrosos, o consumo pobre de vitaminas C, E e de beta-caroteno, tabagismo, alcoolismo e infecção crônica por *Helicobacter pilory*, Epstein-Barr, assim como, status socioeconômico baixo são especialmente importantes em áreas de alta incidência, como a América Latina e Ásia. Outros fatores permanecem desconhecidos (VANNELLA, L. *et al.*, 2013; EDGREN, G. *et al.*, 2010; VERDECCHIA, A. *et al.*, 2003; ZILBERSTEIN B *et al.*, 2012).

Sobre os fatores exógenos, é preciso salientar sobre a questão das infecções e suas induções ao CG. O vírus Epstein-Barr, pode estabelecer latência ou sofrer replicação lítica nas células do hospedeiro, a própria inflamação do estômago recruta linfócitos B infectados com EBV na vizinhança de epitélios gástricos. Este processo é passível de causar mutações nas células do estômago (ILZASA, H. *et al.* 2012).

Estudos recentes têm demonstrado que o vírus pode afetar múltiplas proteínas do hospedeiro, dentre elas a BAD (proteína do promotor de morte associada a Bcl-2) pró-apoptótica; a P53 supressora tumoral, proteína crítica em resposta a vários estresses celulares, funcionando como um mediador essencial de parada do ciclo celular e apoptose; Além da CASPASE 3, proteína executora central da apoptose, são exemplos de alvos de alguns microRNAs de EBV (KIM, H. *et al.* 2016; HAROLD, C. *et al.* 2016; WANG, Q. *et al.* 2017).

Diferenças na resposta inflamatória individual, por efeito genético e/ou ambiental, diante de uma infecção por EBV, também pode definir ou não, uma progressão oncogênica. Em 2017 um estudo apontou um exemplo genético, que pode levar a esta progressão, a perda predisponente de ARID1A, foi significativamente associada a infecções por EBV, pode favorecer a oncogênese gástrica bem como contribuir para a agressividade do tumor, uma vez que esse gene codifica uma proteína nuclear da família Switch/Sacarose, a qual desempenha um papel regulador crítico nos processos celulares, incluindo o desenvolvimento, diferenciação, proliferação, e o próprio reparo do DNA (KIM *et al.*, 2017).

A infecção por *H. pilory*, como já citado também possui uma relação com o câncer, todavia, as questões que envolvem essa relação, dependem de muitos fatores, no entanto, a essência do processo, seria o início de uma gastrite, a qual começaria a progredir de uma gastrite superficial à gastrite atrófica com a metaplasia intestinal e hipocloridria. Esta alteração da mucosa gástrica pode evoluir para displasia e câncer (LEME, P. L. S. 2003).

Quando nos referimos a CG, a *H. pylori* é um ponto-chave, na carcinogênese estomacal, e principalmente o que tange o processo de inflamação crônica, causado por esta bactéria, fato que pode gerar muitos efeitos deletérios. Pode-se destacar alguns aspectos dessa infecção por parte do hospedeiro, ações específicas de IL-4 e IL-6, e polimorfismos destas interleucinas, estão associados a maior risco de CG, quer o tipo difuso de Lauren e/ou o tipo intestinal (MARCOS-PINTO, R. 2015).

A maioria dos pacientes com *H. pylori* são assintomáticos e não desenvolvem complicações. Este fato se deve a diferença na virulência entre as cepas. As cepas mais virulentas são capazes de provocar alterações morfológicas, vacuolização e degenerações sucessivas em cultura de células (BARBOSA, J. A. *et al.* 2011).

Essa capacidade foi relacionada à presença de uma proteína com aproximadamente 140 kDa de massa, nomeada "*cag pathogenicity island.*" (*cag PAI*), codificada pelo gene *cagA* (gene associado a citotoxina), altamente imunogênica. Cepas que possuem a *cag PAI* são chamadas de linhagens *cagA*-positivas e induzem alta titulação de anticorpos anti-proteína *CagA*. Pacientes detentores desta cepa desencadeiam uma maior resposta inflamatória, com maior risco de desenvolver um quadro sintomático, úlcera, gastrite atrófica ou câncer gástrico (BARBOSA, J. A. *et al.* 2011).

Enquanto que, o método de diagnóstico mais empregado para EBV, é o sorológico, onde busca-se os anticorpos anti-EBV, seja por imunofluorescência ou por ensaios imunoenzimáticos como o *Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*, para *H. pilory*, temos um expressivo espectro de testes, que dependem do custo e da disponibilidade. Existem métodos invasivos, como a biópsia gástrica, teste rápido de uréase, cultura, *Hibridização in-situ por*

*Fluorescência (FISH) e Estratégia molecular: reação em cadeia da polimerase (PCR)*. Também existem métodos não invasivos, como: Teste de antígeno fecal, teste sorológico da ponta do dedo, sorologia de sangue total, Teste respiratório com ureia marcada com C13, teste respiratório com ureia marcada com C14 (OLIVEIRA, J.L. *et al.* 2012; HUNT, R.H. *et al.* 2010).

Em relação ao item socioeconômico, vários estudos, observaram uma mortalidade até 63 vezes maior em pacientes de baixo nível educacional em comparação aos de alto nível. Por outro lado, o câncer gástrico apresenta uma diminuição da mortalidade para ambos os sexos. Atribuída devido as melhorias nas condições de vida população e do maior acesso a serviços de saúde, tanto no que tange a medicina preventiva, quanto a curativa (HERRERA, R. *et al.* 2015)

O CG possui um prognóstico desfavorável, uma vez que, frequentemente quando ocorre o diagnóstico, o paciente encontra-se em um estágio avançado, e os tratamentos os quais levariam a chances maiores de cura, acabam deixando de ser uma opção viável. A própria cirurgia de ressecção gástrica, é uma saída mais incisiva, potencialmente curativa, todavia, após esta, apenas uma minoria dos pacientes sobrevivem mais de cinco anos (KARACA, C. *et al.* 2016).

A cirurgia é o principal tratamento para pacientes com GC avançado, contudo, o prognóstico do paciente pós cirúrgico continua desfavorável, como já mencionado. A cirurgia é sempre uma possibilidade, para o tratamento paliativo da doença, deve ser analisada em relação ao risco/benefício, entendendo-se como benefício a qualidade e quantidade da sobrevida destes pacientes. É fundamental tomar qualquer decisão cirúrgica, tendo como ponto de partida o comprometimento provocado pela doença (estadiamento) (SOUZA, FO. *et al.* 2011).

Dessa maneira, esforços tem sido realizados em prol de abordagens multidisciplinares para minimizar o alto risco de recorrência loco-regional e distante de GC. Vários estudos foram realizados para encontrar o regime de quimioterapia e radioterapia ótima (RT), a fim de reduzir as taxas de toxicidade e para aumentar a eficácia (AGOLLI, L. *et al.* 2016).

Em relação a quimioterapia, as instruções da prática clínica são estabelecidas para cada tipo de câncer, por equipes multidisciplinares, de acordo com evidências, diretrizes internacionais, custo-efetividade, e experiência. Estas indicações são seguidas estritamente por todos os oncologistas praticantes e atualizadas anualmente. Entre janeiro de 2004 e Dezembro de 2007, a ECF (epirrubicina/cisplatina/5-fluorouracilo), foi o tratamento de primeira linha para GC de acordo com as diretrizes da “*King Hussein Cancer Center*” (KHCC), e aos pacientes candidatos à terapia foram oferecidos este regime. Em janeiro 2008, isto mudou ao regime de DCF (docetaxel/cisplatina/5-fluorouracilo) (ABBASI, S. Y., *et al.* 2011).

### 1.1. SISTEMA DE ESTADIAMENTO TNM (TUMOR, LINFONODO, METÁSTASE)

É importante tentar determinar o estágio da doença, usando a classificação TNM da “*AMERICAN JOINT COMMITTEE ON CANCER*”, que permite o planejamento do tratamento, uniformiza a nomenclatura entre os diversos serviços e facilita a conduta terapêutica empregada. Através de exames como endoscopia (indica o tamanho do tumor, localização, características macroscópicas e tipo histológico); tomografia computadorizada (ajuda na investigação da ressecabilidade da lesão, invasão de órgãos adjacentes e detecção de metástases); Tomografia Helicoidal aumenta a acurácia da avaliação da invasão da parede gástrica; A ultra-sonografia endoscópica avalia a profundidade da lesão, ressecabilidade e comprometimento linfonodal; A laparoscopia avalia o estágio do câncer gástrico também, principalmente os mais avançados (KASSAB P, *et al.*, 2004; WASHINGTON K, 2010).

A TNM utiliza três critérios para avaliar o estágio do câncer: O próprio tumor, os linfonodos regionais em torno, e se o tumor encontra-se em metástase.

- ❖ T – Indica o tamanho do tumor primário e se disseminou para outras áreas.

- ❖ N – Descreve se existe disseminação da doença para os linfonodos regionais ou se há evidência de metástases em trânsito.
- ❖ M – Indica se existe presença de metástase em outras partes do corpo.

**TUMOR** - Pelo sistema TNM, o “T” acompanhado de um número (0 a 4) é usado para descrever o tumor primário, particularmente o seu tamanho. Pode também ser atribuída uma letra minúscula "a" ou "b" com base na ulceração e taxa mitótica.

**LINFONODO** - O “N” no sistema TNM representa os linfonodos regionais, e também é atribuído a ele um número (0 a 3), que indica se a doença disseminou para os gânglios linfáticos. Pode também ser atribuída uma letra minúscula "a", "b", ou "c", conforme descrito abaixo.

**METÁSTASE** - O “M” no sistema TNM indica se a doença se espalhou para outras partes do corpo.

**TABELA 1\_ DEFINIÇÃO DA CATEGORIA (T)**

<b>TX0</b>	Tumor primário não pode ser avaliado
<b>T0</b>	Nenhuma evidência de tumor primário
<b>TIS</b>	Carcinoma in situ: tumor intraepitelial sem invasão da lâmina própria
<b>T1</b>	O tumor invade a lâmina própria, a musculosa mucosa ou submucosa
<b>T1A</b>	Tumor invade a lâmina própria ou mucosa muscular
<b>T1B</b>	Tumor invade submucosa
<b>T2</b>	Tumor invade a muscular própria
<b>T3</b>	Tumor penetra no tecido conjuntivo subseroso sem invasão do peritônio visceral ou estruturas adjacentes. Tumores T3 também incluem aqueles que se estendem para o ligamento gastrocólico ou gastrohepático, ou no omento maior ou menor, sem perfuração do peritônio visceral que cobre estas estruturas
<b>T4</b>	Tumor invade a serosa (peritônio visceral) ou estruturas adjacentes

<b>T4A</b>	Tumor invade a serosa (peritônio visceral)
<b>T4B</b>	O tumor invade estruturas adjacentes, tais como baço, cólon, fígado, diafragma, pâncreas, parede abdominal, glândula, rim, intestino delgado e retroperitônio.

WASHINGTON K, 2010

## ❖ LINFONODOS REGIONAIS (N)

**TABELA 2\_ DEFINIÇÃO DA CATEGORIA (N)**

<b>NX</b>	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados
<b>N0</b>	Não há metástase linfonodal regional
<b>N1</b>	Metástase em 1 a 2 linfonodos regionais
<b>N2</b>	Metástase em 3 a 6 gânglios linfáticos regionais
<b>N3</b>	Metástase em 7 ou mais linfonodos regionais
<b>N3A</b>	O câncer se disseminou para 7 a 15 linfonodos
<b>N3B</b>	O câncer se disseminou para mais de 16 linfonodos

WASHINGTON K, 2010; INS. ONCOGUIA 2014

## ❖ METÁSTASE À DISTÂNCIA (M)

**TABELA 3\_ DEFINIÇÃO CATEGORIA (M)**

<b>M0</b>	Ausência de metástases à distância.
<b>M1</b>	Metástases à distância

INS. ONCOGUIA 2014

**1.1. ESTÁGIOS DO CÂNCER****Estágio 0** - Tis, N0, M0.**Estágio IA** - T1, N0, M0.**Estágio IB** - T1, N1, M0.

**Estágio IIA** - T1, N2, M0; T2, N1, M0; T3, N0, M0.

**Estágio IIB** - T1, N3, M0; T2, N2, M0; T3, N1, M0; T4a, N0, M0.

**Estágio IIIA** - T2, N3, M0; T3, N2, M0; T4a, N1, M0.

**Estágio IIIB** - T3, N3, M0; T4a, N2, M0; T4b, N0 ou N1, M0.

**Estágio IIIC** - T4a, N3, M0; T4b, N2 ou N3, M0.

**Estágio IV** - O câncer se disseminou para órgãos distantes, como fígado, pulmões, cérebro ou ossos.

BASS ET AL. em 2014, também propuseram uma classificação, porém com base molecular, para ajudar na melhor caracterização dos tumores. O sistema foi desenvolvido, tendo como objetivo favorecer ainda mais a especificidade dos ensaios clínicos, os quais desenvolvem as terapias nos grupos definidos de paciente, servindo assim de um valioso adjunto à histopatologia e ajudando a esquematizar um tratamento mais eficaz, refletindo deste modo, em taxas superiores de sobrevida dos pacientes com adenocarcinoma gástrico. Para tanto, o sistema molecular, foi constituído, numa divisão de quatro subtipos principais genômicos de CG:

#### **TABELA 4\_ CLASSIFICAÇÃO MOLECULAR**

Tumores infectados com Epstein-Barr (EBV)	Exibem mutações no gene <i>PIK3CA</i> , hipermetilação extrema de DNA e amplificação de <i>JAK2</i> ( <i>gene Janus quinase 2</i> ), <i>CD274</i> também conhecido como <i>PD-L1</i> ( <i>Programmed death-ligand 1 gene</i> ) e <i>PDCD1LG2</i> ( <i>Programmed Cell Death 1 Ligand 2 gene</i> ) também conhecido como DP-L2
Tumores com Instabilidade de Microssatélite (MSI)	Mostram taxas de mutação elevadas, incluindo mutações em genes que codificam proteínas sinalizadoras como: <i>hMLH1</i> ( <i>Gene Human mut-L Homologue 1</i> ), <i>hMSH2</i> ( <i>Gene Human mut-S Homologue 2</i> ), <i>hMSH6</i> ( <i>Gene Human mut-S Homologue 6</i> )

Tumores genômica-mente estáveis	São aqueles com mutações do tipo <i>RHOA</i> ou fusões envolvendo as proteínas de ativação de GTPase da família <i>RHO</i>
Tumores cromossomicamente instáveis	Tumores com instabilidade cromossômica, os quais apresentam aneuploidia marcada e amplificação focal do receptor tirosina cinases.

## 1.2. EPIDEMIOLOGIA

Mais da metade de todas as mortes por ano, são de câncer de pulmão, estômago, fígado, colo-retal além da mama. No ano de 2008 foram apurados a nível mundial aproximadamente um milhão de novos casos e 780 mil óbitos. O câncer gástrico (CG) é o quinto câncer mais comum no mundo e a terceira principal causa de morte em ambos os sexos. É preciso frisar que a incidência do CG, se caracteriza por variar amplamente em todo o mundo, o que torna sua compreensão etiológica de certa forma complicada (BOYLE, P. *et al.* 2008; WHO 2014; WHO 2015; SESHADRI, RA *et al.*, 2016).

Essa variação é tão significativa, que estudos fatoriais começam a estabelecer uma biologia diferencial do câncer gástrico pra cada região geográfica, pois a doença é indubitavelmente influenciada por cada país. No continente asiático, apesar de estarem exibindo uma diminuição, as taxas de câncer de estômago, apresentam-se sempre maiores do que os demais continentes (WHO 2008; WHO 2014).

Estudos em epidemiologia do câncer tem mostrado, que existem diferenças nas respostas ao tratamento. Por exemplo, pacientes asiáticos possuem uma menor taxa de linfonodos positivos, e conseqüentemente isso lhes confere menos chances de metástases, os cânceres também ocorrem geralmente mais precoce, e na região distal, já os cânceres ocidentais ocorrem mais na região proximal. Além destas características, tem demonstrado sempre melhores prognósticos após tratamento quando comparados aos Estados Unidos e Europa (WANG, J. *et al.* 2015).

Ademais podemos dizer que, ainda persiste uma grande desigualdade de mortalidade expressiva para cada região. E quando falamos dessa discrepância entre países do oriente (como: Japão, Coréia e China) e os ocidentais essa diferença é consubstancial. Mesmo entre países desenvolvidos, com modelo de tratamento muito semelhante, como Estados Unidos, Itália e Alemanha, existem diferenças significativas, seja entre eles bem como, neles próprios (LIN GOMEZ, S. *et al.* 2013).

Ao falarmos de América Latina e contabilizarmos somente o ano de 2012, o câncer geral têm aumentado de uma forma alarmante. Houveram cerca de 533.000 novos casos e 313. 800 mortes por câncer. E as estimativas apontam para uma vantajada possibilidade de aumento da mortalidade específica, no período entre 2012 e 2030. Estimativas indicam um aumento de 72% na incidência e 78% na mortalidade, cerca de 917.300 novos casos e 557.800 mortes até 2030 para homens. Entretanto nas mulheres, o aumento de incidência estimada é mais baixa próximo a 914.000 casos novos com 503.700 mortes até 2030 (CURADO, MP. *et al.* 2014).

Quando falamos de países latinos, devido a heterogeneidade da população e desigualdade econômica com países de baixa e média renda, as configurações mudam ainda mais de cenário, uma vez que o câncer passa a apresentar um aumento, com progressões de um crescimento acentuado com o passar dos anos (ALLEMANI *et al.* 2015).

Na América Latina e Caribe, o CG possui um caráter bem expressivo, e ainda mais preocupante, tendo em vista, que nestas localidades, o câncer apresenta-se no segundo lugar, quando falamos em causas de morte gerais, ficando atrás apenas das doenças de origem cardiovasculares (NAÇÕES UNIDAS STATISTICS, 2003).

O aumento na incidência de câncer, acompanhado por taxas de mortalidade desproporcionalmente altas em comparação com outras regiões do mundo, revela a magnitude do desafio enfrentado pelo controle do câncer na América Latina. Embora as neoplasias estejam entre as principais causas de morte, as estratégias de controle como a organização e desenvolvimento dos serviços de saúde, mecanismos de formulação de políticas públicas, e até

mesmo a mobilização da sociedade ainda são muito carentes. Existe muito a ser feito na América Latina e Caribe para o efetivo controle do câncer. O diagnóstico precoce e as iniciativas de prevenção são medidas as quais necessitam serem melhoradas. Além de um monitoramento mais eficaz no que tange a epidemiologia, incidência populacional, mortalidade e sobrevivência (CURADO, MP. *et al.* 2014).

E ao falarmos de Brasil, onde reside a heterogeneidade de todas as variáveis, onde estão presentes espalhados pelo território nacional, o conjunto de todos os fatores etiológicos, bem como, a visível diversidade geográfica e sócio-culturas, esta discrepância torna-se muito maior (ZILBERSTEIN, B. *et al.* 2012).

O Brasil assenhorea-se de uma incidência de câncer gástrico que gira em torno de 18,29 casos para cada 100.000 homens e 8,14 casos para cada 100.000 mulheres, segundo as estatísticas realizadas pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA). Ao que indica os recenseamentos, o país apresenta taxas de mortalidade diminuídas, quando comparados os dados que equivalem ao final dos anos 70 e ao final dos anos 80, contudo, a mortalidade global para o ano de 2013 foi de 14.182 óbitos por CG (KASSAB P, *et al.*, 2003).

As estimativas para 2016/2017, em relação ao número de casos novos de câncer de estômago no país, foi de 12.920 entre os homens e de 7.600 nas mulheres. As estimativas para 2018 são de 21.290 novos casos entre homens e mulheres. Sem considerar os tumores de pele não melanoma, o câncer de estômago em homens é o segundo mais frequente nas regiões Norte e Nordeste (INCA, 2016; INCA, 2018).

Esse remodelamento da mortalidade, em muito se deve ao diagnóstico e tratamento precoce da infecção pela bactéria *H. pilory*, uma das condições já bem caracterizadas como causadoras de CG. No entanto, o perfil desses tumores, está sofrendo mudanças de localização com a diminuição das lesões distais e aumento dos proximais e cárdia. Atualmente, observa-se o mesmo evento se repetindo no Brasil, onde o número de tumores proximais aumentarão em mais de 300% quando comparamos o perfil dos tumores nos anos 80. (JACOB CE, *et al.*, 2007; UEMURA N, *et al.*, 2001).

E tendo como base, alguns pontos de partida, já bem estabelecidos, podemos inferir que o país, deve urgentemente homogeneizar e desenvolver melhores condições de saúde sanitária, bem como, as de medidas educacionais, para assim modificar os hábitos alimentares da população, conduzindo assim deste modo, uma menor incidência de câncer gástrico. É importante frisar, que no norte do Brasil, o GC é a segunda neoplasia mais frequente entre os homens e a terceira em mulheres. No estado do Pará, a taxa de sobrevivência a 5 anos é de cerca de 9-10% (ZILBERSTEIN, B. *et al.* 2012; FERREIRA, M.L. *et al.* 2012).

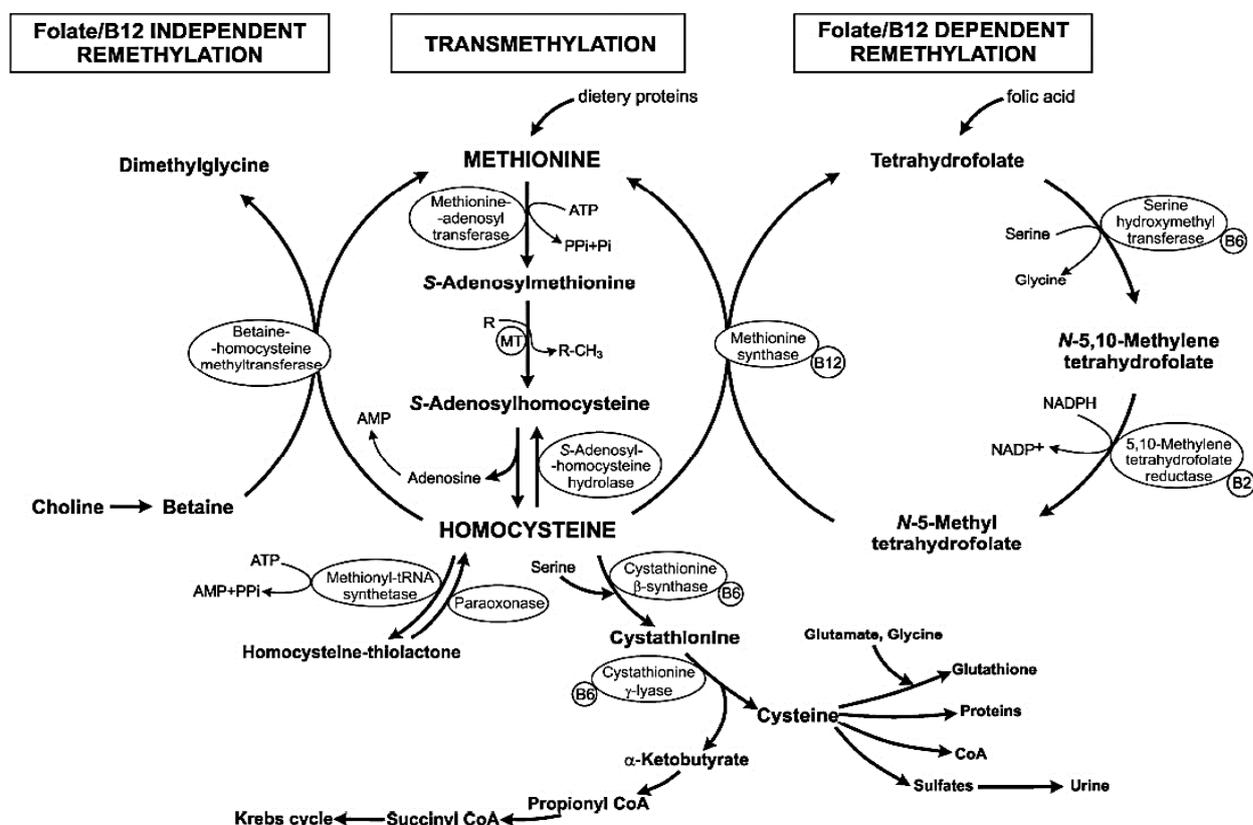
### 1.3. HOMOCISTEÍNA, COBALAMINA E ÁCIDO FÓLICO (HCAF)

#### 1.3.1. HOMOCISTEÍNA

A homocisteína (He) é um pequeno aminoácido sulfídrico, não-essencial, que possui uma função regulatória substancial no metabolismo da metionina. Também participa da biossíntese de cisteína. A He é formada a partir da metionina hepática, é metabolizada nas vias de desmetilação e de transulfuração, sendo seus valores plasmáticos e urinários reflexo da síntese celular. Pode ser alterada pelos défices de nutrientes/cofatores essenciais para o metabolismo tais como as vitaminas B2, B6, B12 e ácido fólico, de modo que basicamente, a concentração plasmática de He é inversamente associada às concentrações plasmáticas de folato e vitaminas B12 e B6 (PETROS Z, *et al.* 2005; NEVES LB, *et al.* 2004; ŠKOVIEROVÁ H, *et al.* 2016).

Existem inúmeras reações no organismo humano catalisadas por mais de 200 metiltransferases diferentes, e todas elas dependentes de S-adenosilmetionina (SAM) como dador de metil e geram S-adenosilhomocisteína (SAH) como subproduto. De modo que, a metilação desempenha um papel fundamental no metabolismo celular, e mais especificamente, a He, que entra nesse sistema realizando o processo de remetilação quando adquire um grupo metil a partir de N-5-metil-tetrahydrofolato (MTHF) ou de betaína para formar a metionina. E maioria da metionina é então ativada por ATP, catabolizada para formar SAM. Em seguida, por uma reação de desmetilação, forma-se a SAH com posterior hidrólise para liberar adenosina e He, completando o ciclo. A He têm seu metabolismo regulado através da SAM, folatos e estado de oxidorredução

(FINKELSTEIN JD, 1998; BYDLOWSKI SP, *et al.* 1998; STOLZENBERG-SOLOMON RZ, *et al.* 2003; VISRAM M, *et al.* 2018).



**Figura 1:** O panorama esquemático do metabolismo da homocisteína e sua relação com ácido fólico e vitaminas. (ŠKOVIEROVÁ, 2016)

Como já citado, o acúmulo de He causa níveis elevados SAH sua precursora, e num efeito consequente pode levar à atividades aberrantes das metiltransferases de DNA, uma vez que o processo de metilação tornar-se-á comprometido (Yuan-Yuan Qu *et al.* 2016).

A He também está presente na via da transsulfuração, condensada com a serina para formar cistationina de forma irreversível. A cistationina é hidrolisada por uma enzima para formar cisteína e alfa-cetobutirato. O excesso de cisteína é oxidado a taurina e sulfatos inorgânicos ou excretado na urina. Assim, para além da síntese de cisteína, esta via de transsulfuração cataboliza eficazmente a He em excesso que não é necessária para os processos de metilação e entrega sulfato para a síntese de heparina, sulfato de heparano, sulfato de dermatano e sulfato de condroitina. Também é importante reforçar, a He não é

um constituinte dietético normal, sendo sua única fonte a metionina (SELHUB J, 1992).

A SAM não apenas é um doador universal de metila, cuja a utilização se dá na biossíntese de vários compostos celulares diferentes tais como: creatina, epinefrina, carnitina, fosfolípidos, proteínas, ácidos nucleicos e poliaminas, mas também, é empregada em modulações epigenéticas, como as de regulação da metilação do DNA (nuclear e mitocondrial), remodelação da cromatina, edição do RNA, RNA não codificante, micro RNA e modificação pós-traducional de histonas (ŠKOVIEROVÁ H, *et al.* 2016).

Incontinentemente temos descrito desde muito tempo, o papel do desequilíbrio da He, em particular do seu aumento, em processos ateroscleróticos (CLARKE R, *et al.* 1991; MACHADO DJ de B *et al.* 2000). Mais recentemente, temos estudos como o LAZZERINI, em 2007, trazendo a He vinculada a indução de processos inflamatórios e até de doenças auto-imunes. YUAN-YUAN (2016) à relaciona com câncer de próstata. Ainda no mesmo ano DEHKORDI (2016), encontrou níveis baixos de He associados a resistência insulínica. E assim vão surgindo os mais variados estudos, ao longo dos últimos tempos que denotam o papel imprescindível na estabilidade desse aminoácido, para a qualidade dos variados processos biológicos e saúde geral.

Apesar dos muitos estudos, ainda não temos a total compreensão de todos os mecanismos que levam a tantos distúrbios. No entanto, podemos ressaltar especialmente sua característica biotóxica, por três vias principais já descritas: Quando a He modifica a estrutura proteica, processo de homocisteinilação; Ao induzir estresse oxidativo; E excitotoxicidade. É chamada de hiperhomocisteinemia a condição de aumento na produção de He, causada pela desordem no metabolismo da metionina, a qual pode levar a uma série de diferentes doenças dentre as mais encontradas na literatura temos a aterosclerose, resistência insulínica, osteoartrites, isquemias, insuficiência cardíaca e câncer. A expressão errada de He, pode induzir a disfunção mitocondrial e perturbar o metabolismo celular. Também é relatado que a hiperhomocisteinemia aumenta a produção de ROS intracelular e ativa estresse oxidativo como já foi mencionado (ŠKOVIEROVÁ H, *et al.* 2016; ZHANG XM, *et al.* 2017; CHING-HOU MA, *et al.* 2018; VISRAM M, *et al.* 2018).

### 1.3.2. VITAMINA B12

A vitamina B12 ou cobalamina (Cbl) é hidrossolúvel, não-sintetizada pelo organismo humano, presente em alimentos de origem animal. Atua como cofator em transferências de um carbono através da metilação e rearranjo molecular. Estas funções ocorrem em vias metabólicas de ácidos graxos, aminoácidos e ácidos nucleicos (RIZZO G, et al. 2016).

Sua deficiência é frequente entre idosos, visto que, com a senescência, as células epiteliais do estômago reduzem sua capacidade de biossintetizar as proteínas transportadoras de Cbl. Além disso, a capacidade de secreção gástrica é necessária para a dissociação de Cbl dos alimentos, bem como para a ligação aos transportadores); Os vegetarianos também são comumente sujeitos a carência de Cbl pela dieta restritiva de alimentos de fonte animal (maior fonte de Cbl) (PANIZ, C. *et al.* 2005).

Os pacientes com problemas gastrointestinais, como enterite, pós bariátricos, ou com CG, entram no mesmo rol de sujeitos a má absorção. A deficiência de vitamina B12 leva a transtornos hematológicos, neurológicos e cardiovasculares, principalmente por interferir no metabolismo da He (hiperhomocisteínemia) e nas reações de metilação do organismo (PANIZ, C. *et al.* 2005).

Depois que Cbl é acumulada por células vivas, é convertida em duas coenzimas, 5'-desoxiadenosilcobalamina e metilcobalamina, que funcionam como coenzimas para metilmalonil-CoA mutase (MCM) e metionina sintase (MS), respectivamente. O MCM catalisa a conversão de L-metilmalonil-CoA em succinil-CoA na via catabólica de certos aminoácidos, ácidos graxos, colesterol e timina. MS catalisa a síntese de metionina a partir de He com 5'-metiltetrahydrofolato (BITO T, *et al.* 2016).

Durante a deficiência de B12, a falha da biossíntese de metionina B12-dependente leva ao acúmulo de He, que tem atividade pró-oxidante e pode ativar nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) oxidase para gerar espécies reativas de oxigênio (ROS). Estas observações sugerem que a

deficiência de B12 interrompe a homeostase redox celular para induzir o estresse oxidativo, o que pode ocasionar várias doenças humanas (BITO T, *et al.* 2016).

### 1.3.3. ÁCIDO FÓLICO

A palavra folato vem do latim *folium*, que significa folha. O folato, também é conhecido como vitamina B9, e é derivado naturalmente dos alimentos, particularmente dos vegetais de folhas verdes escuras. Os humanos não são capazes de sintetizar folato, portanto, as necessidades diárias do mesmo precisam ser satisfeitas, com o consumo de alimentos ricos nesta vitamina. Outro sinônimo de folato é ácido fólico, mesma forma e peso molecular, ambos solúveis em água e transformam-se na forma ativa 5-metil-tetraidrofolato (5-MTHF) no organismo. A diferença essencial entre as duas formas consiste na origem, pois o ácido fólico é produzido sinteticamente e é encontrado, não nos vegetais mas em alimentos fortificados e suplementos. O folato ou ácido fólico, é usado para sintetizar, reparar e metilar o ácido desoxirribonucleico (DNA). Deste modo, é especialmente importante na gravidez e na infância para a divisão e crescimento celular contínuo. (WEINSTEIN, S. J. 2003).

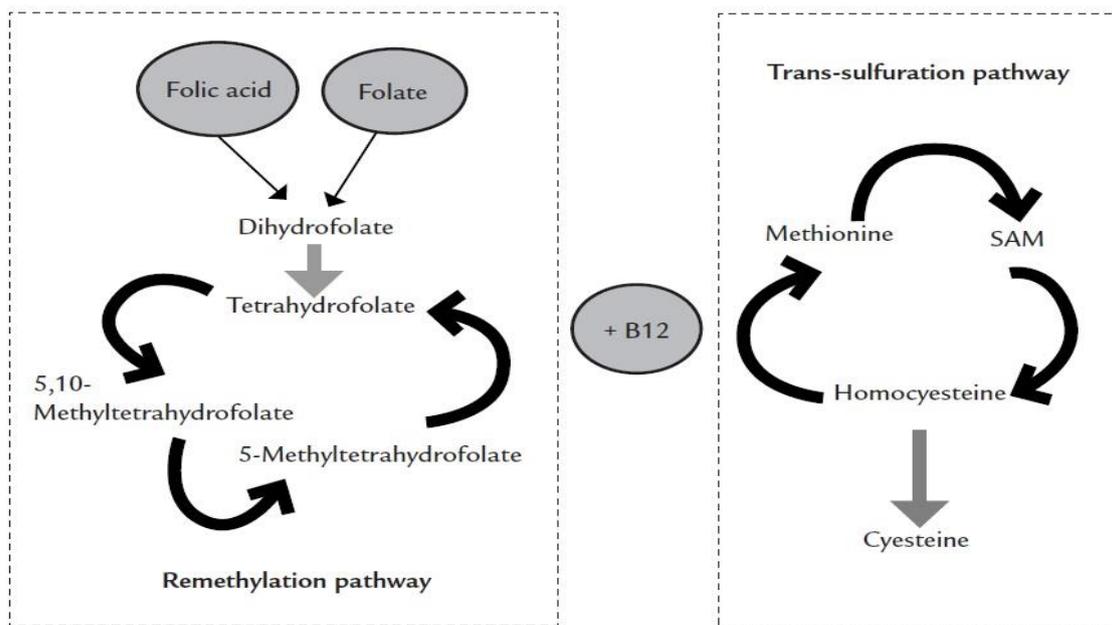
A deficiência de folato, maioria das vezes, só é identificada meses após o esgotamento do folato armazenado da ingestão dietética, podendo causar muitos problemas de saúde, dentre os mais comuns consistem em: anemia macrocítica; fraqueza e confusão; déficits de memória; falta de ar; neuropatia periférica; demência, cognição prejudicada, depressão, psicose, complicações da gravidez; obesidade; depressão; também contribui significativamente para a resistência insulínica, bem como, níveis séricos baixos de folato, podem desencadear uma instabilidade do DNA e a longo prazo propiciar doenças como alzheimer e câncer, inclusive o gástrico (WEINSTEIN, S. J. 2003; DUTHIE, S.J. 2004; PETERS, G.J. 2005; MATTSON, M.P. 2003 BOCCIA, S. *et al.* 2008; WENG, Y. R. *et al.* 2006; DEHKORDI EH, 2016).

É conhecido que na carência de folato, o 5-MTHF, doador de grupamentos metil, não pode ser convertido em tetraidrofolato (THF) eficientemente, ocasionando um sequestro de folatos na forma 5-MTHF, ocorrendo de maneira conseguinte, deficiências de outros metabólitos de folato, como o 5,10-

metilenotetraidrofolato, co-fator fundamental na síntese de DNA, crítico para a síntese de purinas e timidina (MAYNE, ST. *et al.* 2001; CALVERT, A.H. 2004).

Além dos prejuízos em relação ao processo de reparo e síntese de DNA, o 5-MTHF é responsável por outra reação metabólica importante, que consiste na conversão de He em metionina, e como já foi mencionado anteriormente, este quadro propiciaria a doença conhecida como hiperhomocisteínemia, que mais comumente é relatada como fator de risco independente para aterosclerose e doenças coronarianas. Os efeitos prejudiciais da He sérica são causados pelas natureza aterogênicas e trombogênicas deste aminoácido (STANGER, O. *et al.* 2004).

A depleção de folato pode ocasionar inúmeros problemas de saúde, a ponto de ser usado largamente como medicação preventiva de doenças durante o período de pré-concepção, para reduzir a incidência de defeitos do tubo neural, além de atualmente, estar sendo cada vez mais usado como um agente anti-câncer. A suplementação com folato foi relatada em um estudo, como responsável por aumentar significativamente a metilação global de DNA e reduzir a inflamação e a displasia da mucosa em um modelo de camundongo infectado pelo *H. pylori*, bem como, o câncer gástrico pode ser prevenido pela alta ingestão desta vitamina. De maneira irônica, a depleção de folato também afeta as células cancerígenas, a inibição do metabolismo de folato tem sido mostrada como um mecanismo de sucesso para eliminação destas células, algumas medicações análogas estruturais do ácido fólico, vem sendo empregadas como quimioterapia, por exemplo: trimetrexato, o pemetrexed e o raltitrexed (GONDA, T.A. 2012; LIEW, S-C. 2015).



**Figura 1:** Metabolismo do ácido fólico (Liew S-C, 2015)

#### 1.3.4. HCAF E O CÂNCER

Estudos como o de ZHANG D, em 2015, já comprovaram a relação envolvendo essa tríade (afinal era de se esperar, uma vez que, como demonstra a fig.1 elas trabalham em conjunto), onde a elevação do nível de He no soro e a deficiência de folato e cobalamina, estão associados a um aumento do risco global de câncer.

Já foi comprovado, por exemplo, que a baixa ingestão de vitamina B12 e ácido fólico estão ligados a uma menor taxa de sobrevivência no CG. Também é importante mencionar que, se a diminuição está ligada a uma menor sobrevivência, o aumento deles também pode trazer riscos. A He, por exemplo, mediante as infecções por *H. pylori*, apresenta-se gravemente com níveis mais elevados, principalmente dentro da população caucasiana, variando de 30 a 40% de incidência. E tendo em vista que, reconhecidamente a He é um fator de risco independente para doenças, a mesma tem se demonstrado tóxica para células endoteliais e lipoproteínas devido a geração de radicais de oxigênio e inflamação, ou seja, propiciando nesta ocasião, um ambiente favorável ao câncer (SACCO et al. 2004; GALVÁN-PORTILLO MV, et al. 2010; FALLAH S, et al. 2016).

#### 1.4. JUSTIFICATIVA

Já foi mencionado que dentre as implicações para o bom prognóstico da doença, se encontra o caráter socioeconômico. Neste âmbito, estudos realizados no Chile, encontraram uma mortalidade até 63 vezes maior em pacientes de baixo nível educacional em comparação aos de alto nível. Ainda falando do mesmo estudo, também é importante salientar que no Chile, assim como em boa parte do mundo, o câncer gástrico apresenta uma diminuição da mortalidade para ambos os sexos. Essa redução foi atribuída, as melhorias nas condições de vida da população e maior acesso aos serviços de saúde, tanto no que tange a medicina preventiva, quanto curativa (HERRERA, R. *et al.* 2015).

O câncer no estômago possui um prognóstico desfavorável, uma vez que, frequentemente é diagnosticado em um estágio avançado, e os tratamentos os quais levariam potencialmente a cura, acabam deixando de ser uma opção viável. A própria cirurgia de ressecção gástrica, é uma saída mais incisiva, todavia, potencialmente curativa.

No entanto, apenas uma minoria dos pacientes sobrevivem mais de cinco anos após esta intervenção, além das falhas loco-regionais as quais ocorrem comumente entre os pacientes submetidos à ressecção. Mesmo as ressecções de residualidade zero (R0), ou seja, com as margens cirúrgicas microscopicamente negativas assim como o leito tumoral, a taxa de recidiva chega a 52%, a maioria loco-regional, seja linfonodos ou peritônio envolvido (SOUZA, FO. *et al.* 2011; AJANI, J. A. *et al.* 2007).

Devido à má resposta ao tratamento de câncer gástrico avançado, alguns estudos apontam o diagnóstico precoce, ou seja, em estágio inicial, como um dos responsáveis pelas melhores taxas de sobrevivência a este tipo de câncer. Em contra partida, sabe-se que o diagnóstico de CG, em grande parte do mundo, é comprometido pelas características da gastroscopia e falta de biomarcadores de triagem, de modo que, o paciente acometido pela doença, constantemente procura o serviço de saúde, na fase sintomatológica, geralmente quando o tumor já encontra-se bastante avançado, por sua vez, com menores chances de cura e sobrevida (WANG, J. *et al.* 2015; EL ABIAD, R. *et al.* 2012; GONZÁLEZ, C.A. 2012).

Pensando nesse cenário; onde há carência de biomarcadores de triagem e na eminente característica da gastroscópica, o estudo pretende através de HCAF, detectar o câncer em sua fase inicial, com dosagens mais baratas que podem ser inseridas nos exames de rotina, viabilizando assim uma forma mais precoce de diagnóstico por rastreamento.

## 2. OBJETIVO

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Verificar a viabilidade da relação entre adenocarcinoma gástrico e alterações nas dosagens de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12, em pacientes afetados pela doença.

### 2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- a) Aferir o comportamento dos três biomarcadores frente ao câncer em todos seus estágios de classificação TNM, bem como, as variáveis de gênero, sub-tipo, idade, gênero, região do tumor e diante de infecções por EBV, *H. pylori*.
- b) Propor a partir da tríade: homocisteína, ácido fólico e vitamina B12, biomarcadores de triagem e acompanhamento, para o câncer gástrico que possam ser inseridos em exames de rotina.

### 3. METODOLOGIA

Foram analisadas amostras de plasma de pacientes do Hospital Ophir Loyola (Belém-PA). Agregou-se 414 pacientes, onde 207 eram controle (sem câncer gástrico), e um total de 207, pacientes diagnosticados com câncer gástrico, distribuídos segundo seus estágios de classificação TNM.

O plasma dos pacientes foi coletado antes de procedimento cirúrgico para retirada do tumor ou de quimio ou radioterapia. Os indivíduos do grupo controle foram selecionados a partir de pacientes que realizaram endoscopia gástrica com biópsia no hospital, e foram negativos para câncer, estes foram pareados por faixa etária, sexo, tabagismo e etilismo. Esses indivíduos não relataram histórico ou presença de qualquer neoplasia ou doença crônica na época da coleta. As análises do TNM e a presença de *H. pylori* e EBV foram realizadas em biópsias gástricas ou peças cirúrgicas extraídas dos pacientes participantes deste estudo.

As amostras foram coletadas obedecendo aos cálculos de amostragem usando *software GraphPad Prism* versão 5.0 (San Diego, Califórnia, US). Utilizou-se o teste Anova um critério para análise de variância e posteriormente o teste Dunnet com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ) para comparação das médias e erro padrão da média.

A coleta de dados foi realizada por meio de informações hospitalares. E os pacientes os quais se encaixavam nos quesitos do estudo já mencionados anteriormente, concordaram em participar assinando um termo de livre esclarecimento-TCLE (ANEXO 01), dessa maneira formalizando a participação da pessoa ao estudo.

Para as dosagens de vitamina B12, folato e homocisteína, foi colhida uma amostra de sangue periférico (5 mL), por punção venosa em sistema de coleta a vácuo, em tubos de bioquímica protegidos da luz (Devido a fotosensibilidade destas dosagens). As amostras coletadas no Hospital foram encaminhadas para o Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal do Pará, onde foram processadas por centrifugação a 3.000 RPMs, durante 10 minutos, para

obtenção do plasma. Os níveis séricos de homocisteína, folato e vitamina B12, foram avaliados pela metodologia de quimioluminescência (aparelho WIENER LAB CM 200).

A quimioluminescência é um processo de reação química, que ao se realizar gera energia luminosa. Durante esta reação química, os reagentes se transformam em estados intermediários eletronicamente excitados, e ao passarem para um estado menos excitado, liberam a energia absorvida na forma de luz, são chamados testes por métodos colorimétricos. Nesses métodos utilizam-se anticorpos ligados a um marcador luminescente (cromógeno) que pode ser o próprio luminol ou mais modernamente derivados de acridina, sistema avidina-biotina (SUN, WC. *et al.* 1997).

O projeto foi submetido e aprovado, pelo comitê de ética em pesquisa da do Hospital Universitário João de Barros Barreto e obedeceu às resoluções 196/1996 e 347/2005, ambas correspondentes ao Conselho Nacional de Saúde.

## 4. RESULTADOS

Foram analisadas 414 amostras de plasma (sendo 207 pacientes de casos e 207 de pacientes afetados por câncer organizados segundo seus estágios de classificação TNM). Na tabela 5, encontra-se a caracterização da população afetada segundo: Idade, localização do tumor, sub-tipo do mesmo, classificação do tumor, 'sorologia EBV, marcadores bioquímicos (Homocisteína, ácido fólico e vitamina B12).

Em relação a idade, a maior prevalência foi na faixa etária de 60 anos e mais (56,04%), seguida de 40-59 com (33,33%) e 28-39 (10,63%), respectivamente. No que se refere a localização tumoral temos a região CARDIA com mais destaque (34,30%), seguindo região do ANTRO (33,33%); CORPO (16,91%); FUNDO (14,98%); ANTRO/CORPO/FUNDO (0,48%). A respeito do sub-tipo segundo a histologia de Lauren, temos os canceres INTESTINAIS com (52,66%); e DIFUSO com (47,34%).

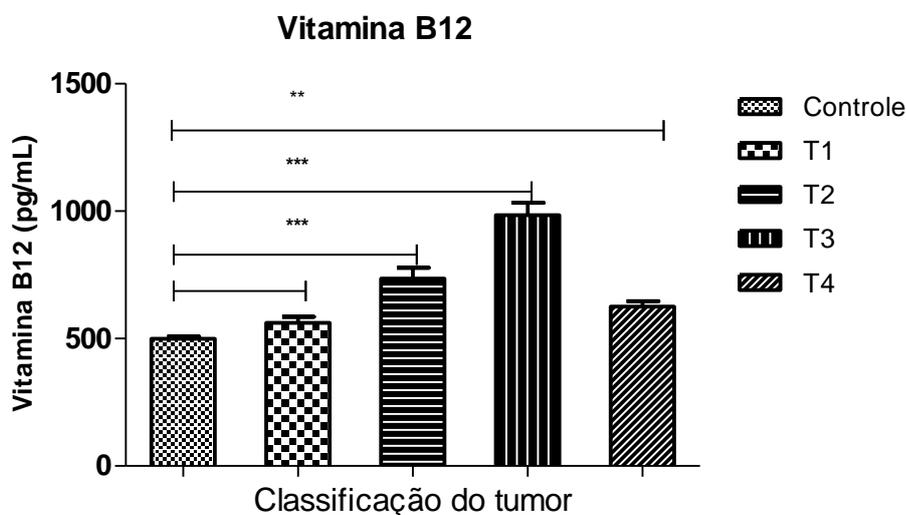
Sobre a classificação TNM temos a maior prevalência de T3N1M0 (8,7%). Na perspectiva da sorologia EBV, temos POSITIVOS com (15,94%), e NEGATIVOS (84,06%); POSITIVOS para CagA (64,73%) e NEGATIVOS (35,26%); No que concerne aos marcadores bioquímicos HOMOCISTEÍNA temos a média de (13,84 umol/L) FOLATO (12,51 ng/mL) E VITAMINA B12 (800,61 pg/ml).

**TABELA 5- CARACTERÍSTICA DA AMOSTRA DE PACIENTES AFETADOS POR CÂNCER GÁSTRICO DO HOSPITAL OPHIR LOYOLA (TOTAL= 207)**

CARACTERÍSTICAS	HOMEM		MULHER		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%
<b>FAIXA ETÁRIA</b>						
<b>28 - 39 ANOS</b>	12	9,23	10	12,99	22	10,63
<b>40 - 59 ANOS</b>	40	30,77	29	37,66	69	33,33
<b>&gt; 60 ANOS</b>	78	60,00	38	49,35	116	56,04
<b>LOCALIZAÇÃO</b>	N	%	N	%	N	%
<b>ANTRO</b>	46	35,38	23	29,87	69	33,33
<b>ANTRUM/CORPO/FUNDO</b>	1	0,77	0	0,00	1	0,48
<b>CORPO</b>	23	17,69	12	15,58	35	16,91
<b>CARDIA</b>	43	33,08	28	36,36	71	34,30

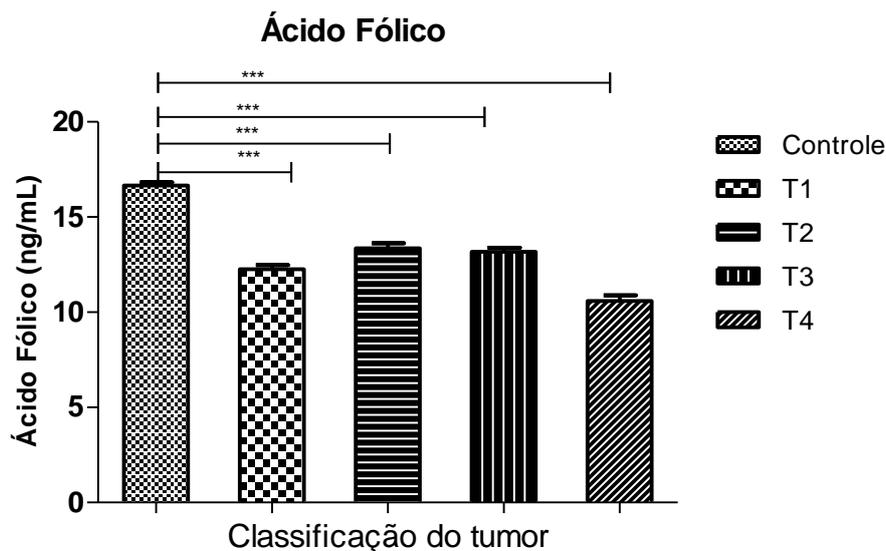
<b>FUNDO</b>	17	13,08	14	18,18	31	14,98
<b>SUB-TIPO</b>						
<b>DIFUSO</b>	66	50,77	32	41,56	98	47,34
<b>INTESTINAL</b>	64	49,23	45	58,44	109	52,66
<b>CLASSIFICAÇÃO TUMOR</b>						
<b>T1N0M0</b>	3	2,31	2	2,60	5	2,42
<b>T1N1M0</b>	6	4,62	2	2,60	8	3,86
<b>T1N1M1</b>	2	1,54	5	6,49	7	3,38
<b>T2N0M0</b>	4	3,08	4	5,19	8	3,86
<b>T2N1M0</b>	7	5,38	3	3,90	10	4,83
<b>T2N1M1</b>	6	4,62	2	2,60	8	3,86
<b>T2N2M0</b>	2	1,54	3	3,90	5	2,42
<b>T2N2M1</b>	4	3,08	4	5,19	8	3,86
<b>T2N3M0</b>	4	3,08	1	1,30	5	2,42
<b>T2N3M1</b>	2	1,54	1	1,30	3	1,45
<b>T3N0M0</b>	10	7,69	0	0,00	10	4,83
<b>T3N1M0</b>	9	6,92	9	11,69	18	8,70
<b>T3N1M1</b>	9	6,92	8	10,39	17	8,21
<b>T3N2M0</b>	6	4,62	3	3,90	9	4,35
<b>T3N2M1</b>	11	8,46	6	7,79	17	8,21
<b>T3N3M0</b>	6	4,62	1	1,30	7	3,38
<b>T3N3M1</b>	9	6,92	3	3,90	12	5,80
<b>T4N1M0</b>	3	2,31	3	3,90	6	2,90
<b>T4N1M1</b>	10	7,69	7	9,09	17	8,21
<b>T4N2M0</b>	8	6,15	2	2,60	10	4,83
<b>T4N2M1</b>	3	2,31	4	5,19	7	3,38
<b>T4N3M0</b>	2	1,54	3	3,90	5	2,42
<b>T4N3M1</b>	4	3,08	1	1,30	5	2,42
<b>SOROLOGIA EBV</b>						
<b>POSITIVO</b>	22	16,92	11	14,29	33	15,94
<b>NEGATIVO</b>	108	83,08	66	85,71	174	84,06
<b>CAGA</b>						
<b>POSITIVO</b>	90	69,23	44	57,14	134	64,73
<b>NEGATIVO</b>	40	30,76	33	42,85	73	35,26
<b>MARCADORES BIOQUÍMICOS</b>	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP
<b>B12</b>	794,94	378,29	810,20	396,49	800,61	384,27
<b>FOLATO</b>	12,55	2,29	12,44	2,04	12,51	2,20
<b>HOMOCISTEÍNA</b>	13,71	2,37	14,05	2,18	13,84	2,30

Na análise parcial dos dados, foram encontrados para as dosagens de homocisteína, vitamina B12 e folato, diferenças entre as médias de indivíduos afetados por câncer e os indivíduos controles. No primeiro gráfico, encontramos os valores médios de vitamina B12 nas várias fases do câncer, com o valor médio do controle de 499,2 ( $\pm$  9,43) pg/mL; o valor de T1 562,4 ( $\pm$  23,04) pg/mL; T2 com o valor 736,2 ( $\pm$  41,51) pg/mL; T3 com o valor 984,4 ( $\pm$  49,31) pg/mL e T4 com o valor 625,6 ( $\pm$  21,31) pg/mL.



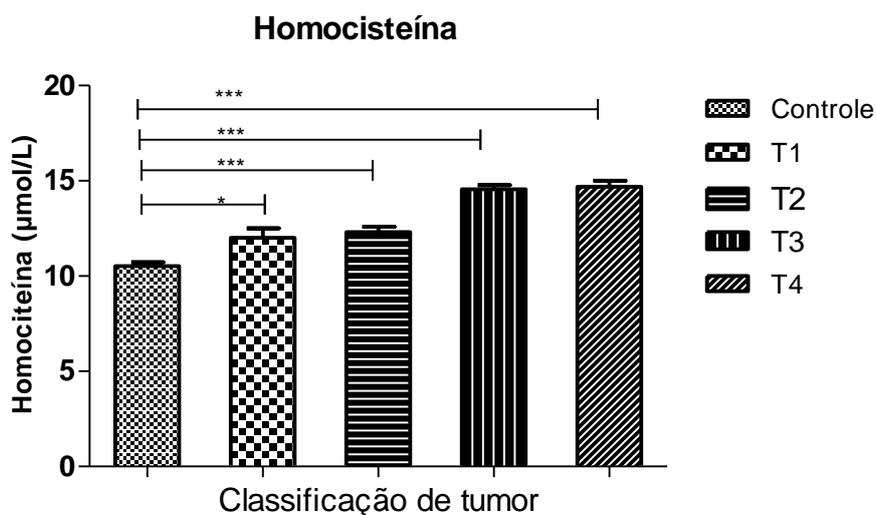
**Gráfico 1:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de vitamina B12 por pg/mL entre as classes de tumor através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta por pacientes com classificação T1; a terceira coluna composta por pacientes com classificação T2; quarta coluna composta por pacientes com classificação T3 e a quinta coluna composta por pacientes com classificação T4. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 2, temos os valores médios para ácido fólico, nas várias fases do câncer, com o valor médio do controle de 16,65 ( $\pm$  0,17) ng/mL; o valor de T1 12,25 ( $\pm$  0,21) ng/mL; T2 13,36 com o valor ( $\pm$  0,25) ng/mL; T3 com o valor 13,18 ( $\pm$  0,20) ng/mL e T4 com o valor 10,59 ( $\pm$  0,29) ng/mL.



**Gráfico 2:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de ácido fólico por ng/mL entre as classes de tumor através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta por pacientes com classificação T1; a terceira coluna composta por pacientes com classificação T2; quarta coluna composta por pacientes com classificação T3 e a quinta coluna composta por pacientes com classificação T4. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

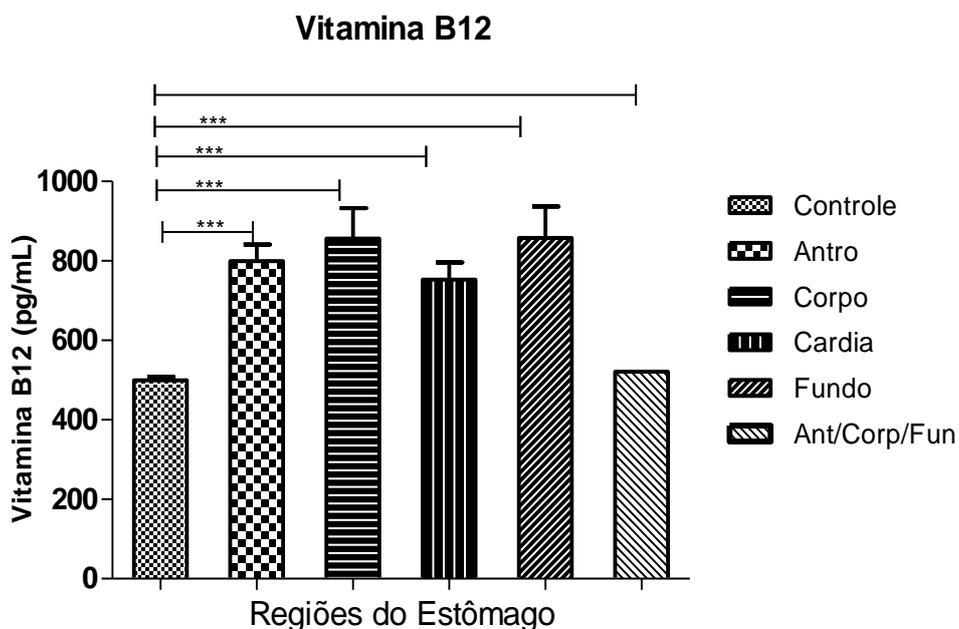
No gráfico 3, temos os valores médios para homocisteína nas várias fases do câncer, com o valor médio do controle de  $10,53 (\pm 0,20) \mu\text{mol/L}$ ; o valor de T1  $12,01 (\pm 0,49) \mu\text{mol/L}$ ; T2 com o valor  $12,31 (\pm 0,27) \mu\text{mol/L}$ ; T3 com o valor  $14,57 (\pm 0,20) \mu\text{mol/L}$  e T4 com o valor  $14,70 (\pm 0,30) \mu\text{mol/L}$ .



**Gráfico 3:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de homocisteína por  $\mu\text{mol/L}$  entre as classes de tumor através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de

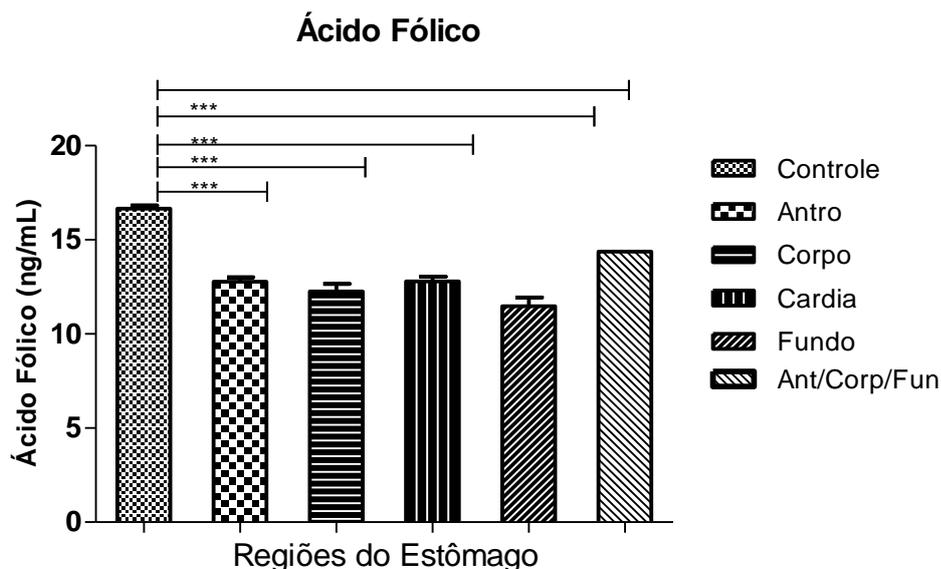
Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta por pacientes com classificação T1; a terceira coluna composta por pacientes com classificação T2; quarta coluna composta por pacientes com classificação T3 e a quinta coluna composta por pacientes com classificação T4. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 4, encontra-se a vitamina B12, com os valores médios em indivíduos afetados segundo a região do tumor com o valor médio dos pacientes controle de 499,2 ( $\pm 9,43$ ) pg/mL; o valor da região de Antro 799,5 ( $\pm 41,54$ ) pg/mL; a região de Corpo com o valor 856,3 ( $\pm 76,38$ ) pg/mL; a região de Cardia com o valor 753,3 ( $\pm 42,64$ ) pg/mL; a região de Fundo com o valor 857,6 ( $\pm 79,62$ ) pg/mL e a região de Antro/Corpo/Fundo com o valor 520,9 ( $\pm 0,00$ ) pg/mL.



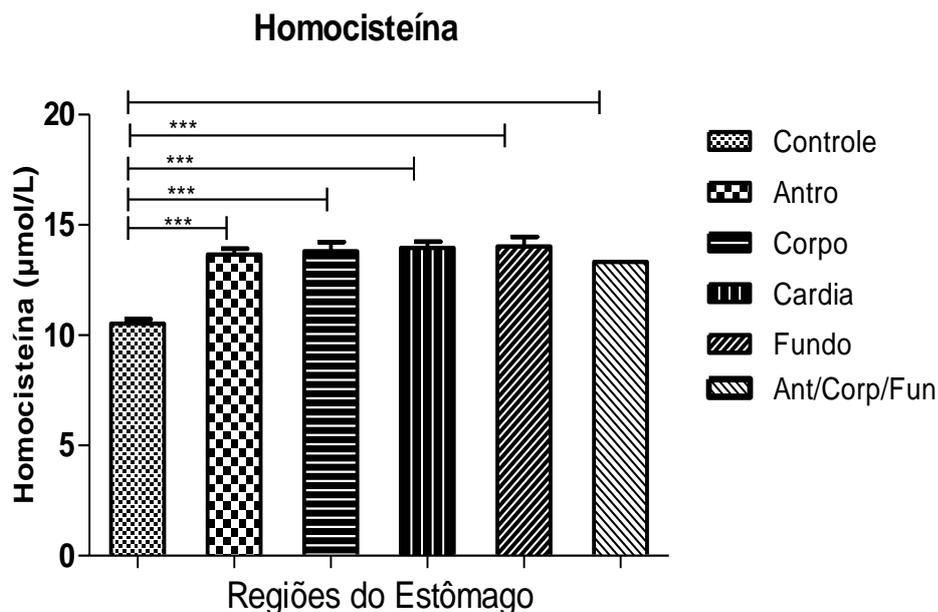
**Gráfico 4:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de homocisteína por  $\mu\text{mol/L}$  entre as regiões do estômago através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta pela região de Antro; a terceira coluna composta pela região de Corpo; quarta coluna composta pela região de Cardia; a quinta coluna composta pela região de Fundo e a sexta coluna composta pela região de Antro/Corpo/Fundo. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 5, encontra-se o ácido fólico, com os valores médios em indivíduos afetados segundo a região do tumor com o valor médio dos pacientes controle de  $16,65 (\pm 0,17)$  ng/mL; o valor da região de Antro  $12,78 (\pm 0,22)$  ng/mL; a região de Corpo com o valor  $12,26 (\pm 0,39)$  ng/mL; a região de Cardia com o valor  $12,80 (\pm 0,25)$  ng/mL; a região de Fundo com o valor  $11,47 (\pm 0,46)$  ng/mL e a região de Antro/Corpo/Fundo com o valor de  $14,38 (\pm 0,00)$  ng/mL.



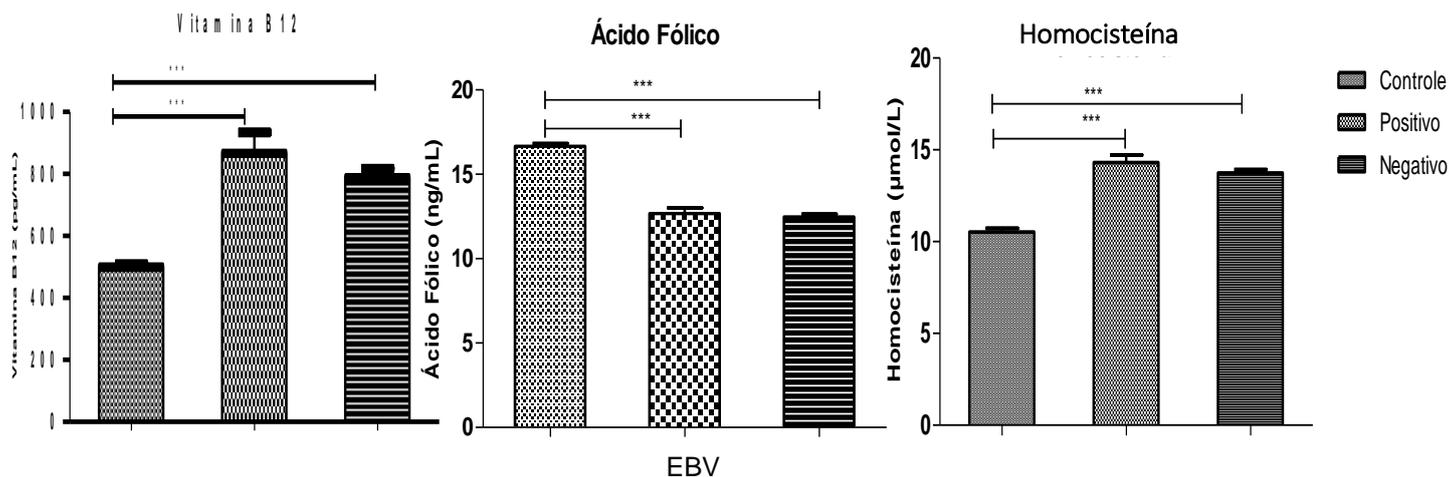
**Gráfico 5:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de ácido fólico por ng/mL entre as regiões do estômago através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta pela região de Antro; a terceira coluna composta pela região de Corpo; quarta coluna composta pela região de Cardia; a quinta coluna composta pela região de Fundo e a sexta coluna composta pela região de Antro/Corpo/Fundo. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 6 encontra-se a homocisteína, com os valores médios em indivíduos afetados segundo a região do tumor com o valor médio dos pacientes controle de  $10,53 (\pm 0,20)$   $\mu\text{mol/L}$ ; o valor da região de Antro  $13,66 (\pm 0,25)$   $\mu\text{mol/L}$ ; a região de Corpo com o valor  $13,80 (\pm 0,41)$   $\mu\text{mol/L}$ ; a região de Cardia com o valor  $13,95 (\pm 0,28)$   $\mu\text{mol/L}$ ; a região de Fundo com o valor  $14,02 (\pm 0,43)$   $\mu\text{mol/L}$  e a região de Antro/Corpo/Fundo com o valor de  $13,32 (\pm 0,00)$   $\mu\text{mol/L}$ .



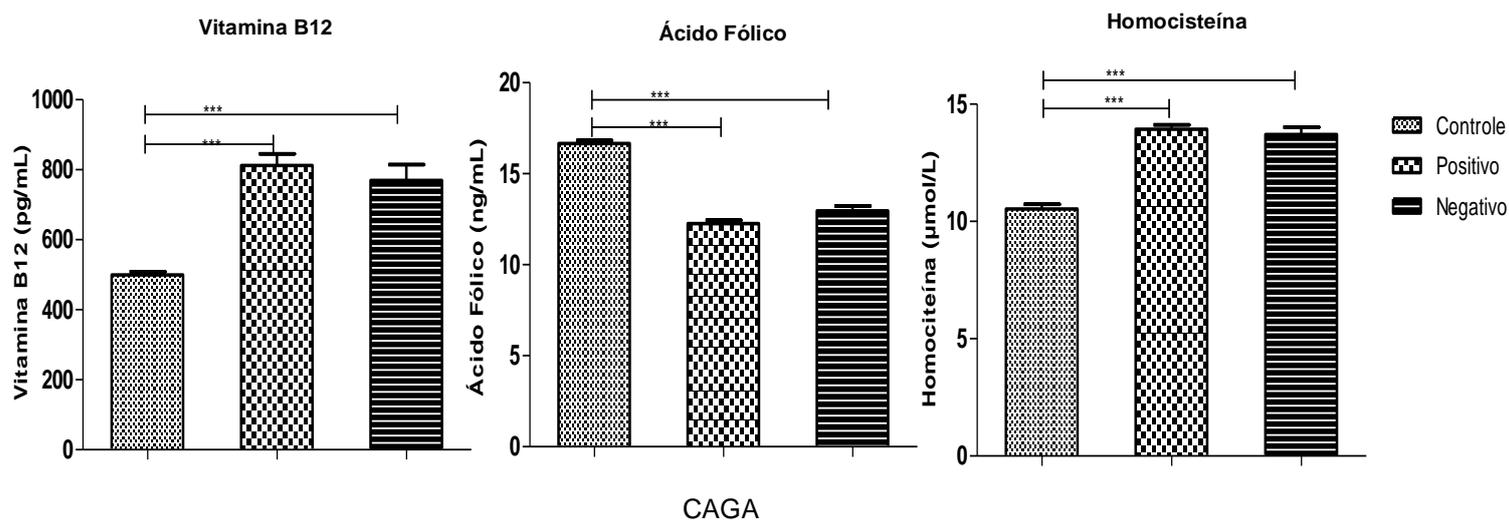
**Gráfico 6:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de homocisteína por  $\mu\text{mol/L}$  entre as regiões do estômago através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta pela região de Antro; a terceira coluna composta pela região de Corpo; quarta coluna composta pela região de Cardia; a quinta coluna composta pela região de Fundo e a sexta coluna composta pela região de Antro/Corpo/Fundo. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 7, encontra-se o valor de vitamina B12 com os valores da média do controle  $499,2 (\pm 9,43)$   $\text{pg/mL}$ ; o valor de indivíduos afetados e Positivos para o vírus EBV de  $866,0 (\pm 67,83)$   $\text{pg/mL}$  e o valor de indivíduos afetados e Negativos para o vírus EBV o valor de  $788,2 (\pm 29,04)$   $\text{pg/mL}$ . O valor de ácido fólico com os valores da média do controle  $16,65 (\pm 0,17)$   $\text{ng/mL}$ ; o valor de indivíduos afetados e Positivos para o vírus EBV de  $12,68 (\pm 0,32)$   $\text{ng/mL}$  e o valor de indivíduos afetados e Negativos para o vírus EBV o valor de  $12,47 (\pm 0,17)$   $\text{ng/mL}$ . E o valor de homocisteína com os valores da média do controle  $10,53 (\pm 0,20)$   $\mu\text{mol/L}$ ; o valor de indivíduos afetados e Positivos para o vírus EBV de  $14,32 (\pm 0,40)$   $\mu\text{mol/L}$  e o valor de indivíduos afetados e Negativos para o vírus EBV o valor de  $13,75 (\pm 0,17)$   $\mu\text{mol/L}$ .



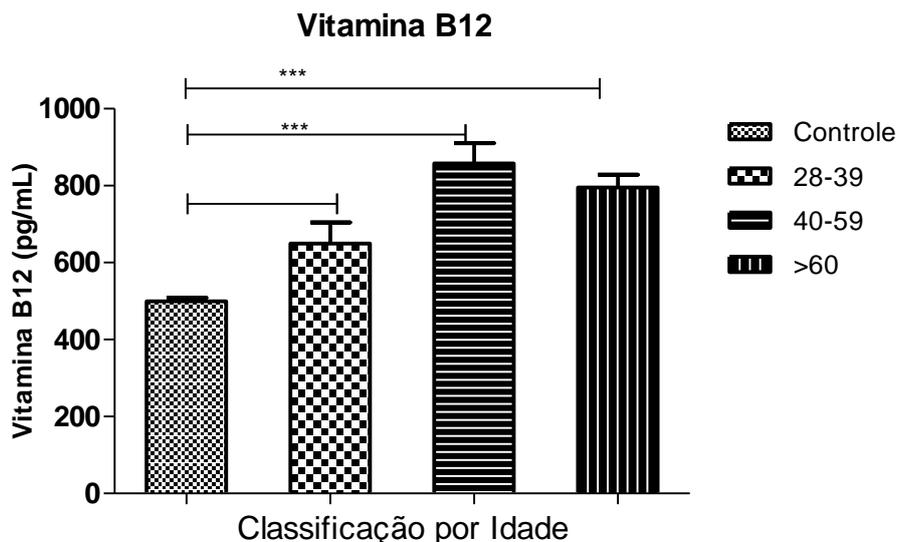
**Gráfico 7:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de vitamina B12 por pg/mL, ácido fólico por ng/mL e de homocisteína por µmol/L em indivíduos afetados e Positivos para o vírus EBV e indivíduos afetados e Negativos para o vírus EBV através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna de cada seguimento é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta indivíduos afetados e Positivos para o vírus EBV e terceira coluna de cada seguimento composta indivíduos afetados e Negativos para o vírus EBV. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 8, encontra-se o valor de vitamina B12 com os valores da média do controle 499,2 ( $\pm 9,43$ ) pg/mL; o valor de indivíduos afetados e Positivos para o CAGA de 812,0 ( $\pm 33,45$ ) pg/mL e o valor de indivíduos afetados e Negativos para o CAGA o valor de 769,2 ( $\pm 45,69$ ) pg/mL. O valor de ácido fólico com os valores da média do controle 16,65 ( $\pm 0,17$ ) ng/mL; o valor de indivíduos afetados e Positivos para o CAGA de 12,26 ( $\pm 0,18$ ) ng/mL e o valor de indivíduos afetados e Negativos para o CAGA o valor de 12,96 ( $\pm 0,27$ ) ng/mL. E o valor de homocisteína com os valores da média do controle 10,53 ( $\pm 0,20$ ) µmol/L; o valor de indivíduos afetados e Positivos para o CAGA de 13,93 ( $\pm 0,18$ ) µmol/L e o valor de indivíduos afetados e Negativos para o CAGA o valor de 13,71 ( $\pm 0,31$ ) µmol/L.



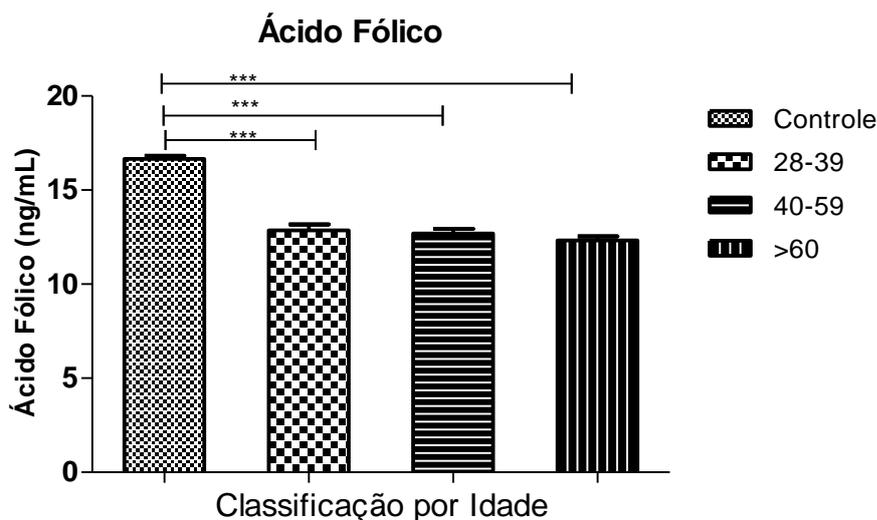
**Gráfico 8:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de vitamina B12 por pg/mL, ácido fólico por ng/mL e de homocisteína por μmol/L em indivíduos afetados e Positivos para o CAGA e indivíduos afetados e Negativos para o CAGA através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna de cada seguimento é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta indivíduos afetados e Positivos para o CAGA e terceira coluna de cada seguimento composta indivíduos afetados e Negativos para o CAGA. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 9, temos a vitamina B12 com os valores médios, em indivíduos controles de 499,2 ( $\pm 9,43$ ) pg/mL; indivíduos afetados com idades entre 28-39 com valor de 649,3 ( $\pm 55,41$ ) pg/mL; indivíduos afetados com idades entre 40-59 com valor de 858,3 ( $\pm 52,49$ ) pg/mL e indivíduos afetados com idades entre 60 anos a mais com valor de 795,0 ( $\pm 33,91$ ) pg/mL.



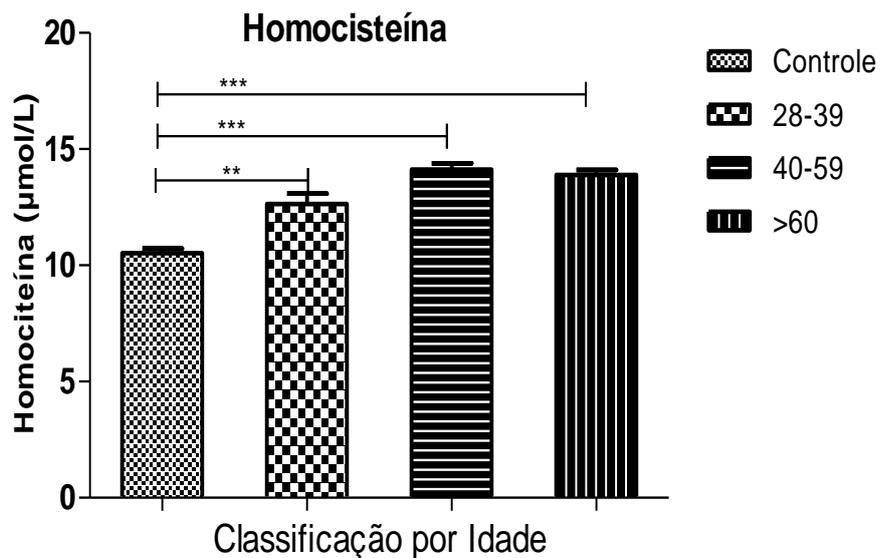
**Gráfico 9:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de vitamina B12 por pg/mL por classificação de idade através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta por paciente com idade entre 28-39 anos; a terceira coluna composta por indivíduos com idade entre 40-59 anos e a quarta coluna composta por indivíduos com idade >60 anos. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 10, temos o ácido fólico com os valores médios, em indivíduos controles de 16,65 ( $\pm 0,17$ ) ng/mL; indivíduos afetados com idades entre 28-39 com valor de 12,85 ( $\pm 0,32$ ) ng/mL; indivíduos afetados com idades entre 40-59 com valor de 12,69 ( $\pm 0,25$ ) ng/mL e indivíduos afetados com idades entre 60 anos a mais com valor de 12,33 ( $\pm 0,21$ ) ng/mL.



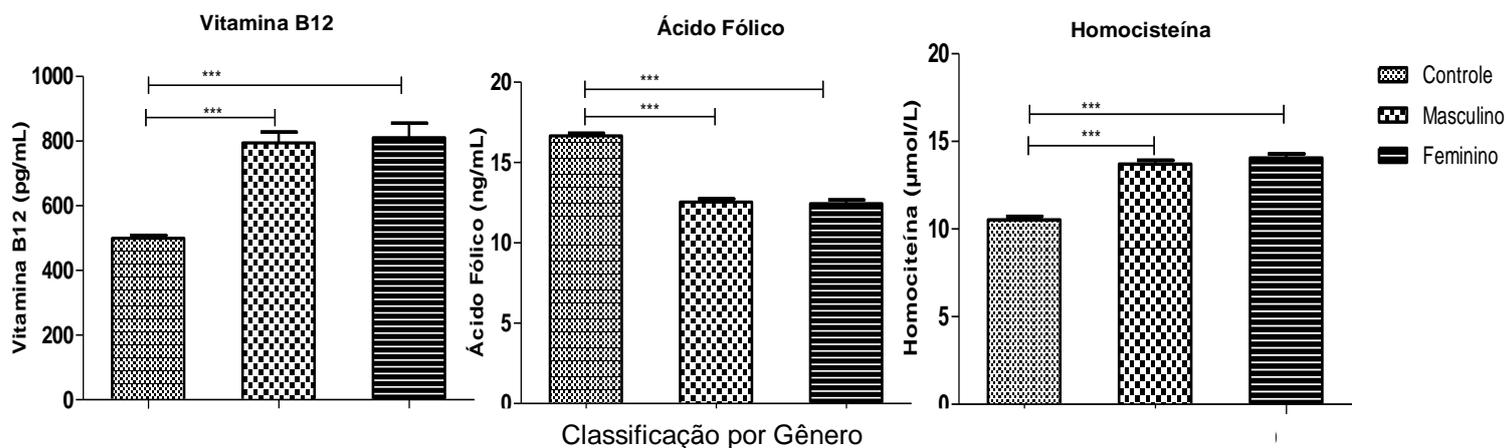
**Gráfico 10:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de ácido fólico por ng/mL por classificação de idade através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta por paciente com idade entre 28-39 anos; a terceira coluna composta por indivíduos com idade entre 40-59 anos e a quarta coluna composta por indivíduos com idade >60 anos. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 11, temos o ácido fólico com os valores médios, em indivíduos controles de  $10,53 (\pm 0,20) \mu\text{mol/L}$ ; indivíduos afetados com idades entre 28-39 com valor de  $12,64 (\pm 0,44) \mu\text{mol/L}$ ; indivíduos afetados com idades entre 40-59 com valor de  $14,12 (\pm 0,27) \mu\text{mol/L}$  e indivíduos afetados com idades entre 60 anos a mais com valor de  $13,90 (\pm 0,21) \mu\text{mol/L}$ .



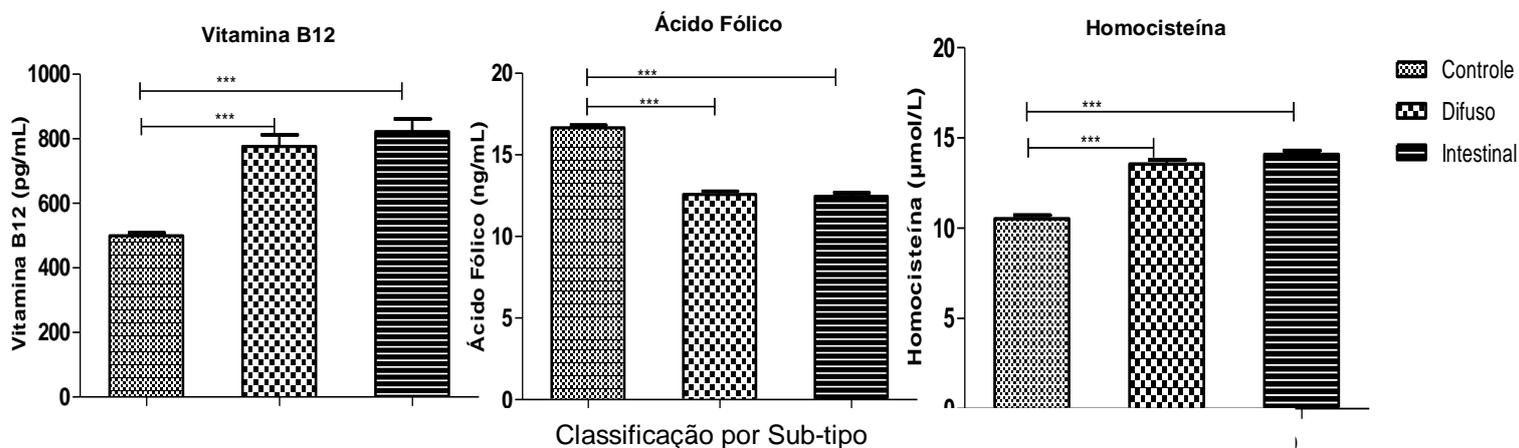
**Gráfico 11:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de homocisteína por  $\mu\text{mol/L}$  por classificação de idade através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta por paciente com idade entre 28-39 anos; a terceira coluna composta por indivíduos com idade entre 40-59 anos e a quarta coluna composta por indivíduos com idade >60 anos. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 12, temos a vitamina B12 com os valores da média dos indivíduos controle de  $499,2 (\pm 9,43)$   $\text{pg/mL}$ ; indivíduos afetados do gênero Masculino com valor de  $794,9 (\pm 33,18)$   $\text{pg/mL}$  e do gênero Feminino com valor de  $810,2 (\pm 45,18)$   $\text{pg/mL}$ . Em relação ao ácido fólico, os valores da média dos indivíduos controle são  $16,65 (\pm 0,17)$   $\text{ng/mL}$ ; indivíduos afetados do gênero Masculino com valor de  $12,55 (\pm 0,20)$   $\text{ng/mL}$  e do gênero Feminino com valor de  $12,44 (\pm 0,23)$   $\text{ng/mL}$ . E a homocisteína com os valores da média dos indivíduos controle de  $10,53 (\pm 0,20)$   $\mu\text{mol/L}$ ; indivíduos afetados do gênero Masculino com valor de  $13,71 (\pm 0,20)$   $\mu\text{mol/L}$  e do gênero Feminino com valor de  $14,05 (\pm 0,24)$   $\mu\text{mol/L}$ .



**Gráfico 12:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de vitamina B12 por pg/mL, ácido fólico por ng/mL e de homocisteína por μmol/L por gênero Masculino e gênero Feminino através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna de cada seguimento é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta indivíduos do gênero Masculino e terceira coluna de cada seguimento composta indivíduos do gênero Feminino. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

No gráfico 13, temos a vitamina B12 para a análise do sub-tipo de tumor com os valores da média dos indivíduos controle de 499,2 ( $\pm 9,43$ ) pg/mL; indivíduos com o sub-tipo Difuso com valor de 776,3 ( $\pm 36,03$ ) pg/mL e do sub-tipo Intestinal com valor de 822,4 ( $\pm 39,07$ ) pg/mL. Em relação ao ácido fólico, para a análise do sub-tipo de tumor com os valores da média dos indivíduos controle de 16,65 ( $\pm 0,17$ ) ng/mL; indivíduos com o sub-tipo Difuso com valor de 12,57 ( $\pm 0,20$ ) ng/mL e do sub-tipo Intestinal com valor de 12,45 ( $\pm 0,22$ ) ng/mL. E a homocisteína para a análise do sub-tipo de tumor com os valores da média dos indivíduos controle de 10,53 ( $\pm 0,20$ ) μmol/L; indivíduos com o sub-tipo Difuso com valor de 13,56 ( $\pm 0,23$ ) μmol/L e do sub-tipo Intestinal com valor de 14,09 ( $\pm 0,21$ ) μmol/mL.



**Gráfico 13:** Análise da média e erro padrão da média da distribuição de vitamina B12 por pg/mL, ácido fólico por ng/mL e de homocisteína por µmol/L por sub-tipo de tumor através do teste Anova um critério, e posteriormente, o teste de Dunnett para comparação entre as colunas com intervalo de confiança de 95% ( $P \leq 0,05$ ). A primeira coluna de cada seguimento é composta por pacientes controle colacionada com as seguintes colunas, sendo segunda a coluna, composta indivíduos com o sub-tipo Difuso e terceira coluna de cada seguimento composta indivíduos com o sub-tipo Intestinal. O símbolo (\*) foi empregado para representar valores estatisticamente significativos.

## 5. DISCUSSÃO

Esta análise padronizada demonstrou que houve diferença significativa nos valores das dosagens da tríade HCAF entre os pacientes com câncer gástrico em relação aos indivíduos controle, em todos estágios da classificação TNM, frente a regiões do estômago, sub-tipo intestinal e difuso, gênero, idade, ao EBV e presença de *Helicobacter pilory*, ou seja, isso nos denota que em conjunto, a tríade é bastante viável para a triagem do câncer gástrico.

O estudo teve como viés, a menor quantidade de pacientes com tumores em região de antro/corpo/fundo (n=1), fato que pode ter prejudicado a análise estatística, onde não houve diferença significativa, na dosagem da tríade em relação ao controle. Em contrapartida é importante frisar, que era esperado que os pacientes com mais de 60 (faixa etária com menores taxas de ácido fólico e vitamina B12) não fossem significativos em relação ao câncer, no entanto este público manteve-se significativo em todas as dosagens.

A análise das taxas da tríade sempre se mostrou alterada em relação ao controle na estatística, exceto no viés anteriormente citado. Estes achados corroboram com YUAN-YUAN 2016 que salientava o aumento de He relacionando-a ao câncer de próstata; ZHI LIU em 2018, associou o aumento plasmático de homocisteína ao adenoma retal de baixo risco, adenoma retal de alto risco e câncer retal de estágio I-IV. ZHANG D, em 2015 também apoia nossos achados ao concatenar níveis elevados de He e a deficiência de folato, ao aumento do risco de câncer gástrico.

VOLLSET SE em 2007 e ZHANG D, em 2015, encontraram uma associação entre vitamina B12 baixa e o risco de câncer. MIRANTI EH, em 2017 também identificou um aumento no risco de desenvolver câncer de até 5,8 vezes mais em relação ao controle, quando os pacientes tinham uma concentração baixa de Cbl, no estudo a hipótese para a baixa captação desta vitamina se daria por uma gastrite inicial por exemplo, uma vez que, para uma absorção satisfatória, necessita-se de uma mucosa gástrica intacta para que se produza ácido e fator intrínseco.

Em contra partida, ARENDT JF, em 2013, assim como nos resultados do presente estudo, encontrou uma associação entre níveis elevados de Cbl e o risco global de câncer subsequentemente diagnosticado. No mesmo artigo, a haptocorrina aumentada, foi atribuída como a possível causa dos níveis mais altos cobalamina em pacientes com câncer. Ou seja, na análise combinada dos artigos, solidificamos que na presença e na ausência de câncer instalado, o perfil da cobalamina se modifica no organismo.

No entanto, é bom frisar que em pacientes com câncer gástrico porém submetidos a gastrectomia, as aferições de vitamina B12 e folato tendem a ser menores cursando com a Hiperhomocisteinemia. Perfil este característico do prejuízo no processo de absorção causado pela perda de fator intrínseco produzido nas células parietais, após este tipo de cirurgia. Desta maneira, a tríade funciona eficientemente como marcador de triagem para CG, todavia para o monitoramento de CG, tornar-se-ão necessários mais estudos, que investiguem o comportamento da cobalamina em pacientes pós cirúrgicos (SAKUTA, H. *et al.* 2005; BILICI, A. *et al.* 2015).

Os valores médios de folato, nos pacientes com câncer gástrico, sempre estiveram menores em relação ao controle, concordando com os resultados obtidos por LEE, T. Y. em 2014, onde os níveis séricos de folato foram significativamente associados ao desenvolvimento do câncer gástrico, bem como, a fenótipos invasivos deste tipo de câncer, como invasão serosa, linfática, invasão e metástase hepática. PRICE, A. J. 2016, demonstrou uma relação entre homens com níveis mais elevados de folato no sangue, e estes apresentaram maior risco de câncer de próstata de alto grau (mais agressivo). Denotando que há uma diferença entre essas aferições, para outros tipos de câncer.

CHANG em 2015, realizou em condições semelhantes, as dosagens dos 3 marcadores, como no estudo vigente, porém na população chinesa. Seus resultados pactuam aos encontrados em nossas análises, tendo em vista que, os valores medianos plasmáticos de folato foram substancialmente mais baixos que os controle, e os de homocisteína e vitamina B12 mais altos. Este perfil teve associação significativa ao câncer gastrointestinal superior.

DA COSTA J. DE F., em 2011 no Brasil, realizou um trabalho com primatas, onde os mesmos eram induzidos ao câncer gástrico inoculados com a linhagem ACP03 de câncer humano e tratados com N-metil-nitrosouréia, e dentre as análises realizadas a partir desta indução, foram aferidos os níveis de folato e homocisteína, os quais apresentaram uma diminuição e um aumento respectivamente, quocientes estes que concordam com nossos resultados.

Na literatura temos ao todo basicamente cerca de 14 artigos, os quais falam direta e indiretamente sobre os marcadores e o câncer. E podemos observar que ao falamos dessa associação, onde esses nutrientes estão envolvidos com vários tipos de câncer, e nos desdobramos mais especificamente para o câncer gástrico, podemos observar uma relação bem mais intensa, e isso provavelmente se dá, devido aos processos que envolvem a má absorção de ácido fólico e vitamina B12 pela mucosa gástrica dos paciente com câncer de estômago.

## 6. CONCLUSÃO

O diagnóstico precoce do CG é um desafio do cenário atual, devido a característica invasiva das endoscopias gástricas e a carência de biomarcadores, traduzindo na identificação tardia da doença, e levando a menores chances de cura e sobrevida. Neste âmbito, a pesquisa atual demonstrou que os valores das dosagens de homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico tiveram diferença significativa independente de sexo, subtipo do câncer, estágio tumoral e infecção por EBV e/ou *Helicobacter. Pylori*, além de demonstrar diferença significativa para praticamente todas as idades e regiões tumorais. Este fato nos denota a potencialidade da avaliação da tríade como um marcador de triagem para o diagnóstico célere do câncer gástrico, a ser inserido nos exames de rotina clínica.

No entanto, é importante salientar, que a tríade em nossos testes demonstrou funcionar de forma notável em relação ao rastreio, ou seja, como biomarcador de triagem, todavia, quando falamos do uso da tríade para o monitoramento, é sempre relevante levar em consideração, pacientes gastrectomizados e pós bariátricos, os quais podem ter problemas no metabolismo da vitamina B12 devido o prejuízo na produção de fator intrínseco, e como reflexo um possível desequilíbrio da homocisteína, sem necessariamente tais alterações nas dosagens estarem de forma patognomônica ligada ao CG em pacientes de acompanhamento. Desta maneira, como foi solidificado na análise estatística, a tríade confere um iminente e eficaz marcador para triagem de CG (PANIZ, C. *et al.* 2005; GREENBERG J. A. *et al.* 2011; MATSUI, T. 2011).

## 7. REFERÊNCIAS

ALLEMANI *et al.* Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25 676 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). **HHS Public Access**. v.385; p.977–1010; 2015.

AJANI, J. A. *et al.* Clinical benefit with docetaxel plus fluorouracil and cisplatin compared with cisplatin and fluorouracil in a phase III trial of advanced gastric or gastroesophageal cancer adenocarcinoma: the V-325 Study Group. **Journal of Clinical Oncology**. v.22; p.3205-9. 2007.

ABBASI, S. Y. *et al.* Advanced Gastric Cancer in Jordan From 2004 to 2008: A Study of Epidemiology and Outcomes. **Gastrointestinal Cancer Research**. v.4; p.122–127; 2011.

AGOLLI, L. *et al.* Adjuvant radiochemotherapy for gastric cancer: should we use prognostic factors to select patients?. **World Journal Gastroenterol**. v.22; p. 1131-1138; 2016.

ARENDET, J. F. *et al.* Elevated Plasma Vitamin B12 Levels as a Marker for Cancer: A Population-Based Cohort Study. **Journal of the National Cancer Institute**. v.105; p.1799-805; 2013.

BARBOSA, J. A. *et al.* Helicobacter pylori: Associação com o câncer gástrico e novas descobertas sobre os fatores de virulência. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. v.10; p.254-262; 2011.

BASS, J. A., *et al.* Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. **Nature Science**. v.513; p.202–209; 2014.

BILICI, A. *et al.* The changing of serum vitamin B12 and homocysteine levels after gastrectomy in patients with gastric cancer: do they associate with clinicopathological factors?. **Tumor Biology Journal**. v.36; p.823-8; 2015.

BOCCIA, S. *et al.* Meta and pooled analyses of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer risk: a huge-GSEC review. **American Journal of Epidemiology**. v.167; p.505-516; 2008.

BRESCIANI, C. *et al.* Sistematização técnica da gastrectomia total. **Gastrão**. v.42; p.026; 2015.

BOYLE, P. *et al.* World cancer report. **International Agency for Research on Cancer publications**. 2008.

BITO T. *et al.* Vitamin B12 deficiency results in severe oxidative stress, leading to memory retention impairment in *Caenorhabditis elegans*. **Elsevier\_Redox Biology**. v.11; p.21-29; 2016.

BYDLOWSKI S. P. *et al.* Hiper-Homocisteinemia e Doenças Vaso-Oclusivas **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.71; 1998.

CALVERT, A. H. Biochemical pharmacology of pemetrexed. **Oncology**. 2004 v.18;p.13-7; 2004.

CANCER, AMERICAN SOCIETY. Stomach Cancer, 2016. Disponível em: <<https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/what-is-stomach-cancer.html>>. Acesso em: 27 de dezembro de 2017.

CHING-HOU MA. *et al.* Homocysteine causes dysfunction of chondrocytes and oxidative stress through repression of SIRT1/AMPK pathway: A possible link between hyperhomocysteinemia and osteoarthritis. **Elsevier\_Redox Biology**. v.15; p.504-512; 2018.

CURADO, M. P. *et al.* Cancer Burden in Latin America and the Caribbean. **Annals of Global Health**. v.80; p.370-377; 2014.

CHANG, S.C. *et al.* Plasma folate, vitamin B12, and homocysteine and cancers of the esophagus, stomach, and liver in a Chinese population. **Nutrition and Cancer**. v.67; p.212-23; 2015.

CLARKE R. *et al.* Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. **The New England Journal of Medicine**. v.324; p.1149- 1155; 1991.

DA COSTA J. DE F., *et al.* Experimental Gastric Carcinogenesis in Cebus apela Nonhuman Primates. **PLOS ONE**. p.6(7); e.21988; 2011.

DEHKORDI E. H. *et al.* Effect of folic acid and metformin on insulin resistance and inflammatory factors of obese children and adolescents. **International Journal of Research in Medical Sciences**. v.21; p.71; 2016.

DUTHIE, S. J. *et al.* Folate, DNA stability and colo-rectal neoplasia. **Proceedings of the Nutrition Society**. v.63; p.571-578; 2004.

GALVÁN-PORTILLO, M. V. *et al.* Dietary folate and vitamin B12 intake before diagnosis decreases gastric câncer mortality risk among susceptible MTHFR 677TT carriers. **Nutrition**. v.26; p.201-208; 2010.

GONDA, T.A. Folic acid increases global DNA methylation and reduces inflammation to prevent Helicobacter-associated gastric cancer in mice. **Gastroenterology**. v.142; p.824-833; 2012.

EDGREN, G. *et al.* Risk of gastric cancer and peptic ulcers in relation to ABO blood type: a cohort study. **American Journal of Epidemiology**. v.172; p.1280-5; 2010.

EL ABIAD, R. *et al.* Gastric cancer: endoscopic diagnosis and staging. **Surgical Oncology Clinics of North America**. v.21; p.1-19; 2012.

FERREIRA, M.L. *et al.* Differential Proteomic Analysis of Noncardia Gastric Cancer from Individuals of Northern Brazil. **Plos One**. v.7; i.7; 2012.

FINKELSTEIN, J. D. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. **European Journal of Pediatrics**. v. 157; 1998.

GONZÁLEZ, C.A. *et al.* Carcinogenesis, prevention and early detection of gastric cancer: where we are and where we should go. **International Journal of Cancer**. v.130; p.745-753; 2012.

GREENBERG J. A. *et al.* Folic acid supplementation and pregnancy: more than just neural tube defect prevention. **Reviews in Obstetrics & Gynecology**. v.4; p.52-59; 2011.

HAROLD, C. *et al.* Epstein-Barr viral microRNAs target caspase 3. **Virology Journal**. v.13; p.145; 2016.

HU, B. *et al.* Gastric cancer: classification, histology and application of molecular pathology. **Journal Gastrointestinal Oncology**. v.3; p.251-61; 2012.

HUNT, R.H. *et al.* Helicobacter pylori nos países em desenvolvimento. **World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines**. v.1; p.1-14; 2010.

HOSPITAL DO CÂNCER DE BARRETOS. Câncer de estômago. Disponível em: < <https://www.hcancerbarretos.com.br/cancer-de-estomago> >. Acesso em: 05 de julho de 2016.

HERRERA, R. *et al.* Tendencia de la mortalidad por cáncer en Chile según diferencias por nivel educacional, 2000-2010. **Revista Panamericana de Salud Pública**. v.37, n.1, p.44-51; 2015.

IIZASA, H. *et al.* Epstein-Barr Virus (EBV)-associated Gastric Carcinoma. **Viruses**. v.4; p.3420-3439; 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estômago: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Disponível em: [http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/estomago/d](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/estomago/definicao)  
[efinicao](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/estomago/d/definicao). Acesso em: 20 de dezembro de 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2015/por-tipos.asp>.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>.

JACOB, C. E. *et al.* Trends in tumor location in gastric carcinoma over a 28-year period. **Hepato-gastroenterology**. v.76; p. 1297-1301; 2007.

KARACA, C. *et al.* Endoscopic submucosal resection of gastric subepithelial lesions smaller than 20mm: a comparison of saline solution-assisted snare and cap band mucosectomy techniques. **Gastrointestinal Endoscopy**. v.20; p.5-30585; 2016.

KIM, H. *et al.* Epstein-Barr Virus MicroRNA miR-BART20-5p Suppresses Lytic Induction by Inhibiting BAD-Mediated caspase-3-Dependent Apoptosis. **Journal of Virology**. v.90; n.3; 2016.

KIM, Y-S. *et al.* Unique characteristics of ARID1A mutation and protein level in gastric and colorectal cancer: A meta-analysis. **Saudi Journal of Gastroenterology**. v.23; p.268-74; 2017.

KASSAB, P. *et al.* Epidemiologia do Câncer Gástrico. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.49; p. 225-43; 2003.

KASSAB, P. *et al.* Estadiamento do câncer do estômago. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.50; p. 1-20; 2004.

LIN-GOMEZ, S. *et al.* Cancer Incidence Trends Among Asian American Populations in the United States, 1990–2008. **Journal of the National Cancer Institute**. v.105; p.1096–1110; 2013.

LEE, T. Y. *et al.* Lower serum folate is associated with development and invasiveness of gastric cancer 2014. **World Journal Gastroenterology**. v.20; p. 11313-11320. 2014.

LAZZERINI P. E. *et al.* Hyperhomocysteinemia, inflammation and autoimmunity. **Autoimmunity Reviews Elsevier**. v.6; p.9-503. 2007.

LEME, P. L. S. H. Pylori e Câncer Gástrico. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.49; p.225-43 2003.

LIEW, S-C. Folic acid and diseases – supplement it or not?. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.62; p.90-100; 2015.

MACHADO D. J. de B *et al.* - Hyperhomocyst(e)inemia in chronic stable renal transplant patients. **Revista do Hospital das Clínicas de São Paulo**. v.55; p.161-168; 2000.

MARCOS-PINTO, R. Genetic Variations and Gastric Cancer Risk. **Portuguese Journal of Gastroenterology**. v.22; p.135-136; 2015.

MAYNE, S. T. *et al.* Nutrient intake and risk of subtypes of esophageal and gastric cancer. **Cancer Epidemiol Biomarkers**. v.10; p.1055-62; 2001.

MATSUI, T. Helicobacter pylori and Arteriosclerosis. **Gan to Kagaku Ryoho. Cancer & Chemotherapy Journals**. v.38; p.365-9; 2011.

MATTSON, M.P. *et al.* Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. **Trends Neurosciences Journal**. v.26; p.137–146; 2003.

MIRANTI, E.H. *et al.* Low vitamin B12 increases risk of gastric cancer: A prospective study of one-carbon metabolism nutrients and risk of upper

gastrointestinal tract cancer. **International Journal of Cancer**. v. 141; p.1120-1129; 2017.

NEVES, L. B. *et al.* Homocisteína. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 40; p.311-20; 2004.

OLIVEIRA, J.L. *et al.* O vírus Epstein-Barr e a mononucleose infecciosa. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**. v.10; p.535-43; 2012.

PETERS, G. J. *et al.* Folates and anti-folates in the treatment of cancer; role of folic acid supplementation on efficacy of folate and non-folate drugs. **Trends in Food Science and Technology**. v.16; p.289-297; 2005.

PETROS Z. *et al.* Hyperhomocysteinemia in ulcerative colitis is related to folate levels. **World Journal Gastroenterology**. v.11; p.6038-2; 2005.

PANIZ, C. *et al.* Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v.41; p. 323-34; 2005.

PRICE A. J. *et al.* Circulating Folate and Vitamin B12 and Risk of Prostate Cancer: A Collaborative Analysis of Individual Participant Data from Six Cohorts Including 6875 Cases and 8104 Controls. **European Urology**. v.70; p.941-951; 2016.

RIZZO G. *et al.* Vitamin B12 among Vegetarians: Status, Assessment and Supplementation. **Nutrients**. v.8; p.767; 2016.

STOLZENBERG-SOLOMON, R. Z. *et al.* Esophageal and gastric cardia cancer risk and folate- and vitamin B(12)-related polymorphisms in Linxian, China. **Cancer Epidemiol Biomarkers**. v.12; p.1222 – 6; 2003.

SELHUB J. M. J. W. The pathogenesis of homocysteinemia: Interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v.55; p.131-8; 1992.

ŠKOVIEROVÁ H. *et al.* The Molecular and Cellular Effect of Homocysteine Metabolism Imbalance on Human Health. **International Journal of Molecular Sciences**. v.17; p.1733; 2016.

SESHADRI, R. A. *et al.* Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in gastric cancer. **World Journal Gastroenterology**. v.22; p. 1114-1130; 2016.

SOUZA, F. O. *et al.* Tratamento Paliativo Do Adenocarcinoma Gástrico. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**. v. 24; p.74-80; 2011.

SACCO, R. L. *et al.* Homocysteine and the risk of ischemic stroke in a triethnic cohort: the Northern Manhattan Study. **Stroke**. v.35; p.2263-2269; 2004.

SUN, W. C. *et al.* Synthesis of Fluorinated Fluoresceins. *Journal of Organic Chemistry*. v.19; p.6469-6475; 1997.

SAKUTA, H. *et al.* Plasma vitamin B12, folate and homocysteine levels in gastrectomized men. **Clinical Nutrition Journal**. v.24; p.244-9; 2005.

STANGER, O. *et al.* Clinical use and rational management of homocysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. **Zeitschrift Fur Kardiologie Journals**. v.93; p.439-53; 2004.

UEMURA N, *et al.* Helicobacter pylori infection and the development of gastric cancer. **The New England Journal of Medicine**. v.345; p.784–789; 2001.

VANNELLA. L, *et al.* Systematic review: gastric cancer incidence in pernicious anaemia. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**. v.37; p.375-82; 2013.

VERDECCHIA, A. *et al.* Comparison of stomach cancer incidence and survival in four continents. **European Journal of Cancer**. v.39; p.1603–1609; 2003.

VOLLSET, S.E. *et al.* The association of gastric cancer risk with plasma folate, cobalamin, and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**. v.16; p.2416-24; 2007.

WEINSTEIN, S. J. *et al.* Null association between prostate cancer and serum folate, vitamin B(6), vitamin B(12), and homocysteine. **Cancer Epidemiol Biomarkers**. v.12; p.1271-2; 2003.

WENG, Y. R. *et al.* Folate levels in mucosal tissue but not methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms are associated with gastric carcinogenesis. **World Journal Gastroenterology**. v.12; p.7591-7597; 2006.

WANG, Q. *et al.* Tumor Suppressor p53 Stimulates the Expression of Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein 1. **Journal of Virology**.v.91; p.312-17; 2017.

WANG, J. *et al.* Comparison of Gastric Cancer Survival Between Caucasian and Asian Patients Treated in the United States: Results from the Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) Database. **Official Journal Society Surgical Oncology**. v.22; p.2965–2971; 2015.

WASHINGTON K. 7th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual: Stomach. **Annals of Surgical Oncology**. v.17; p.3077–3079; 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World cancer factsheet. **Cancer Research UK**. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Cancer Control: a Global Snapshot In 2015. **Together Let's Beat Cancers**. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Cancer Report 2008. **International agency for research on Cancer**. 2008.

VISRAM, M. *et al.* Homocysteine regulates fatty acid and lipid metabolism in yeast. **The Journal of Biological Chemistry**. v.293; i.7; 2018.

YUAN-YUAN Q. U. *et al.* Functional variants of the 5-methyltetrahydrofolatehomocysteine methyltransferase gene significantly increase susceptibility to prostate cancer: Results from an ethnic Han Chinese population. **Nature Science**. v.6; p.36-264; 2016.

ZILBERSTEIN, B. *et al.* Gastric cancer trends in epidemiology. **Arquivo Gastroenterologia**. v.49; p.177-178; 2012.

ZHANG D. *et al.* Elevated Homocysteine Level and Folate Deficiency Associated with Increased Overall Risk of Carcinogenesis: Meta-Analysis of 83 Case-Control Studies Involving 35,758 Individuals. **Plos One**. v.10; e.0123423; 2015.

ZHANG X. M. *et al.* Inhibitory effect of homocysteine on rat neural stem cell growth in vitro is associated with reduced protein levels and enzymatic activities of aconitase and respiratory complex III. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**. v.49. p. 131-138; 2017.

ZHI LIU *et al.* Plasma Levels of Homocysteine and the Occurrence and Progression of Rectal Cancer. **Medical Science Monitor**. v.24; p.1776-1783; 2018.

## 8. ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO  
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**PROJETO:** Estudo do papel de MYC na carcinogênese gástrica: identificação de proteínas e genes regulados por MYC em amostras clínicas e em modelos *in vitro*.

A Universidade Federal do Pará, por meio do Hospital Universitário João de Barros Barreto, está desenvolvendo uma pesquisa que permitirá identificar alterações genéticas e proteínas que podem estar envolvidas na formação dos tumores de estômago. As alterações genéticas serão identificadas pela metodologia da reação em cadeia da polimerase com análise quantitativa em tempo real (qRT-PCR) e as proteínas relacionadas ao surgimento dos tumores de estômago serão analisadas pelo método da imunistoquímica. Com isso, esperamos obter evidências científicas em relação à possibilidade de utilização desses genes/proteínas em kits de diagnóstico e/ou prognóstico para pacientes que adquiriram câncer do estômago.

Você está sendo admitido neste Hospital, para estabelecimento de diagnóstico e/ou tratamento de alguma doença estomacal e há a necessidade da remoção de material biológico relacionado à enfermidade. A sua participação neste estudo será no sentido de permitir que um fragmento de tecido do seu estômago, que será retirado por cirurgia ou endoscopia para fins de diagnóstico e/ou tratamento de alguma doença gástrica e que não tenha mais nenhuma utilização para exames laboratoriais de rotina, possa ser analisado exclusivamente para esta pesquisa, isto é, após esta investigação, resíduos ou produtos do fragmento de tecido do seu estômago não serão estocados.

É necessário esclarecê-lo que, a obtenção do fragmento de tecido do seu estômago para pesquisa ou de amostra de sangue para análise clínica, não implicará em riscos adicionais no seu tratamento ou na sua cirurgia ou endoscopia, nem em aumento no tempo do exame ou cirurgia a qual será submetido. Sua privacidade será respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, lhe identificar, será mantido em sigilo.

Fique ciente de que pode se recusar a participar do estudo, ou retirar seu consentimento

a qualquer momento, sem precisar justificar, e, se desejar sair da pesquisa, não sofrerá qualquer prejuízo à assistência que esta recebendo.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são os Doutores: Paulo Pimentel de Assumpção, Mariana Ferreira Leal, Samia Demachki e Rommel Mario Rodriguez Burbano (todos vinculados a Universidade Federal do Pará / Hospital João de Barros Barreto – Rua dos Mundurucus 4487 e com eles poderei manter contato pelos telefones: (91) 88364667 / 32016776 / 32018425).

Informamos também que você será assistido durante toda a pesquisa, bem como lhe será garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre este estudo e as suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da sua participação.

Enfim, após ter sido orientado quanto ao teor do aqui mencionado e compreendido a natureza e objetivo deste estudo, você pode ou não manifestar seu livre consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por sua participação.

No entanto, caso você tenha qualquer despesa decorrente da participação nesta pesquisa, haverá ressarcimento na forma seguinte: dinheiro ou depósito em sua conta corrente.

De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da sua participação no estudo, será devidamente indenizado, conforme determina a lei.

Belém, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante da Pesquisa

\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Responsável pelo Participante da Pesquisa

\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
Data

\_\_\_\_\_  
Testemunha

\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_  
Data