

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
FACULDADE DE BIOMEDICINA

ROBERTO MAGNO DA SILVA

PERFIL BIOQUÍMICO PADRÃO DE HOMOCISTEÍNA, VITAMINA B12 E
ÁCIDO FÓLICO EM POPULAÇÃO CONTROLE NÃO PORTADORA DE
CÂNCER GÁSTRICO ATENDIDA NO HOSPITAL OPHIR LOYOLA

BELÉM-PA

2017

ROBERTO MAGNO DA SILVA

PERFIL BIOQUÍMICO PADRÃO DE HOMOCISTEÍNA, VITAMINA B12 E
ÁCIDO FÓLICO EM POPULAÇÃO CONTROLE NÃO PORTADORA DE
CÂNCER GÁSTRICO ATENDIDA NO HOSPITAL OPHIR LOYOLA

Trabalho de conclusão de curso apresentado
à Faculdade de Biomedicina da
Universidade Federal do Pará, como
requisito para a obtenção do título de
Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano

BELÉM-PA

2017

ROBERTO MAGNO DA SILVA

PERFIL BIOQUÍMICO PADRÃO DE HOMOCISTEÍNA, VITAMINA B12 E
ÁCIDO FÓLICO EM POPULAÇÃO CONTROLE NÃO PORTADORA DE
CÂNCER GÁSTRICO ATENDIDA NO HOSPITAL OPHIR LOYOLA

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Biomedicina da Universidade
Federal do Pará, como requisito para a
obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina,
aprovado com o
conceito_____.

Belém (PA), 24 de fevereiro de 2017

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano
ICB-UFPA
(Orientador)

Profa. MSc. Regianne Maciel dos Santos Correa
Faculdade Pan Amazônica (Fapan)
(Avaliadora)

Profa. Dra. Tatiane Cristina Mota
Escola Superior da Amazônia (Esamaz)
(Avaliadora)

Prof. Dr. Marcelo de Oliveira Bahia
ICB-UFPA
(Suplente)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

A Universidade Federal do Pará, direção do Instituto de Ciências Biológicas, a coordenação da Faculdade de Biomedicina, bem como seu corpo docente que oportunizaram a janela que hoje vislumbro um horizonte superior, eivado pela acendrada confiança no mérito e ética aqui presentes.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano, bem como a minha amiga e colega de profissão Fernanda Farias, pelo suporte no pouco tempo que lhe couberam, pelas suas correções, sugestões e incentivos.

A Profa. Dra. Tatiane Mota pelas palavras de incentivo no momento em que eu mais me encontrava abalado e desmotivado.

Aos meus amigos pelo apoio e incentivo, em especial ao Renan Lavareda, meu amigo de infância, que acompanhou toda a minha trajetória sempre torcendo pelo meu sucesso.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo, apoio incondicional e suporte financeiro para que eu conseguisse concluir meu curso de graduação.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
1 INTRODUÇÃO	6
1.1 HOMOCISTEÍNA.....	6
1.2 ÁCIDO FÓLICO	8
1.3 VITAMINA B12	9
1.4 HOMOCISTEÍNA, VITAMINA B12 E FOLATO NO DIAGNÓSTICO DE DOENÇAS	10
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.1.1 Objetivos específicos	13
3 METODOLOGIA.....	14
4 RESULTADOS	15
5 DISCUSSÃO	20
6 CONCLUSÕES.....	22
7 REFERÊNCIAS	23

RESUMO

Introdução: A homocisteína, a vitamina B12 e o ácido fólico possuem grande importância no metabolismo celular, participando na via de síntese de DNA. Dessa maneira tem sido crescente a sua preocupação em relação ao desenvolvimento de câncer e de outras doenças cardiovasculares e neurológicas. Devido a sua grande importância clínica é necessário estabelecer um perfil da homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico nos pacientes saudáveis da população paraense, para que esses valores de referência possam ser utilizados como uma forma de triagem. **Métodos:** Foram analisadas amostras de soro de 207 pacientes do Hospital Ophir Loyola sem câncer gástrico. Os níveis séricos de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12, foram avaliados pela metodologia de quimioluminescência (aparelho WIENER LAB CM 200). **Resultados:** Não foram observadas diferenças significativas nas dosagens entre homens e mulheres. Sugerimos como intervalos de valores normais para o Ácido fólico 13 – 19,7 nmol/L; Homocisteína 5,5 – 14,6 µM/L e Vitamina B12 245 – 676,4 pg/Ml. **Conclusão:** Os hábitos alimentares podem influenciar os níveis séricos de vitamina B12, folato e homocisteína, dessa maneira os valores indicados podem representar a composição étnica da população paraense.

Palavras-Chaves: Homocisteína, Vitamina B12, Ácido Fólico, Valores de Referência.

1 INTRODUÇÃO

1.1 HOMOCISTEÍNA

A homocisteína (He) é um aminoácido sulfídrico com um peso molecular de 135,1 kDa (Jakoby & Griffith, 1994) formado a partir da desmetilação da metionina. Na Figura 1 observa-se a via do metabolismo da Homocisteína, que se faz através das vias de desmetilação (que ocorre principalmente no jejum, dependente de vitamina b12 e ácido fólico) e de transulfuração (que ocorre principalmente quando há excesso de metionina, dependente da vitamina B6). No fígado as proteínas oriundas da dieta são catabolizadas, gerando inicialmente metionina. A metionina por sua vez pode ser catabolizada em S-adenosilmetionina (SAM) e S-adenosilHomocisteína (SAH) e posteriormente em Homocisteína. Esta última por sua vez, participará de processos de remetilação pela enzima metileno-tetraidrofolato redutase (MTHFR), que utiliza o folato como cofator, gerando metionina. A Homocisteína pode ser eliminada pela ação da enzima cistationina β -sintase (CBS), utilizando a vitamina B6 como cofator para a produção de Cistationa e posteriormente Glutationa (Vilaça, 2015)

As funções essenciais do ciclo, de modo geral, incluem o fornecimento de metionina para síntese proteica, a reciclagem do metiltetraidrofolato, o metabolismo da colina (via betaína), e a geração de precursores para reações de metilação (S-adenosilmetionina), formação de poliaminas e biossíntese de cisteína (Neves *et al.*, 2004).

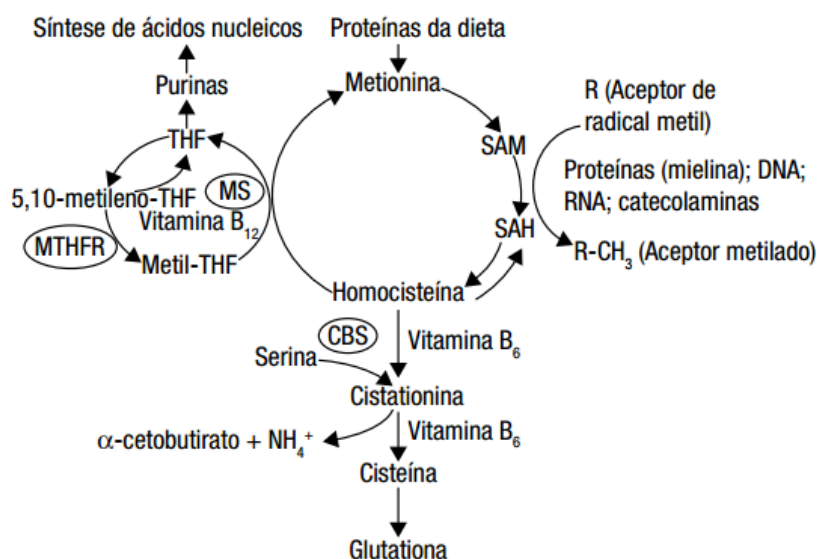


Figura 1: Via do metabolismo da homocisteína e folato (tetrahydrofolato) (Fonte: Vilaça, 2015). THF – Tetrahydrofolato.

A Homocisteína pode ser detectada no soro e na urina, sendo que seus valores refletem a síntese celular. Deficiências enzimáticas hereditárias ou adquiridas, tanto na via de remetilação da homocisteína, a metionina ou na sua transulfuração, a cisteína, resultam em níveis elevados de homocisteína e na síndrome clínica da hiper-homocisteinemia ou homocistinúria (Neves *et al.*, 2004). Deficiências de cofatores também podem causar esta síndrome, por exemplo, uma redução da atividade da CBS por deficiência de cofator, que é a vitamina B₆, ou por alguma mutação, pode levar a um aumento da homocisteína (Wang *et al.*, 207).

A deficiência de vitamina B₁₂ e folato dificulta a execução de diversas reações enzimáticas. A redução dos níveis dessas vitaminas impede o funcionamento da metionina sintase e MTHFR, aumentando as concentrações séricas de homocisteína (Stabler *et al.*, 1988; Paniz *et al.*, 2005). A cisteína, formada a partir da homocisteína, pode ser incorporada em enzimas e proteínas podendo ter seu grupo -SH convertido em pontes dissulfeto, necessárias para a força e estabilidade de muitas proteínas, inclusive do colágeno (Neves *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 1986). A hiper-homocisteinemia é um fator de risco para alguns tipos de doenças como doenças degenerativas do cérebro, cardiovasculares (Ueland *et al.*,

1989), ósseas ou mesmo câncer (Bydlowski *et al.*, 1998), doenças hepáticas (Bem-Ari *et al.*, 2001) e arteriosclerose (Boers *et al.*, 1985; Dalery *et al.*, 1995).

Se fazem necessários estudos mais aprofundados, afim de entender essa relação entre a Homocisteína e o câncer. As alterações ocorridas no metabolismo da homocisteína são de causa multifatorial, envolvendo fatores genéticos (Arruda *et al.*, 1997), fisiológicos, nutricionais (Motulsky, 1996) e hormonais (Munshi *et al.*, 1996).

1.2 ÁCIDO FÓLICO

Ácido fólico, também conhecido como folato, metilfolato ou vitamina B9, é uma vitamina do complexo B, solúvel em água e presente em diversos itens da dieta diária. O folato ocorre naturalmente nos alimentos e o ácido fólico é a forma sintética do folato, usada em medicamentos (NIH, 2014).

O álcool interfere na absorção de folato e também aumenta a quantidade da vitamina que é eliminada pela urina. Por isso, pessoas que consomem álcool excessivamente, podem ter deficiência de ácido fólico. Além disso, é frequente os alcoólatras terem dietas pobres e não alcancarem a ingestão diária recomendada de folato e isso torna-los um grupo de risco para o desenvolvimento de câncer (Giovannucci *et al.*, 1995).

Se houver uma ingestão exagerada de ácido fólico por um longo período isto pode resultar em uma deficiência de vitamina B12, o que pode causar danos ao sistema nervoso e anemia por deficiência de vitamina B12 (Fotiou *et al.*, 2014).

A ingestão de ácido fólico é muito importante para o organismo e deve ser ingerida frequentemente, pode ser encontrada em diversos tipos de alimentos como as folhas verdes escuras, com ênfase para espinafre, brócolis, couve, alface e salsa. Os cereais integrais, feijões, cogumelos, vísceras (fígado de galinha), abacate, manga, laranja, tomate, melão, banana, ovo, levedo de cerveja e germe de trigo (NIH, 2014).

Ele é necessário para numerosas funções do corpo. Entre elas: a síntese e reparação do DNA, divisão e crescimento celular, produção de novas proteínas, formação de hemácias. O folato é importante para a saúde cardiovascular e do sistema nervoso (NIH, 2014; Weinstein *et al.*, 2003; Botez *et al.*, 1976). A via metabólica do folato está presente na Figura 1.

Durante a gestação o folato é especialmente importante para um bom desenvolvimento fetal e formação do tubo neural. A suplementação deve começar pelo menos um mês antes da gravidez e é essencial nas primeiras oito semanas após a concepção. Isto porque é neste período que ocorre o desenvolvimento do sistema nervoso e tubo neural do feto. Além de ser essencial para o desenvolvimento do sistema nervoso do feto, o folato é fundamental para a função cerebral adequada e desempenha um papel importante na capacidade cognitiva e na saúde mental e emocional (Grosse & Collins, 2007; Jian *et al.*, 2009). O folato age como cofator na produção de serotonina, um neurotransmissor que garante o bom humor, além de reduzir a quantidade de homocisteína no organismo (Kang *et al.*, 1987), que é um fator de risco para atrofia cerebral, deficiência cognitiva e demência (Schneider *et al.*, 2006).

1.3 VITAMINA B12

A vitamina B12, também conhecida como cobalamina, é uma vitamina solúvel em água encontrada em quantidades relevantes apenas em comidas de origem animal. A vitamina B12 é um cofator da enzima metionina sintase (Figura 1) e a deficiência desta vitamina leva ao aumento de homocisteína (Collin *et al.*, 2010).

A produção da vitamina B12 ocorre em algumas bactérias (Herbert, 1988) e a presença dela depende do processo de biomagnificação ocorrida durante a cadeia alimentar. As pequenas quantidades dessa vitamina presentes em plantas se devem a presença de biofilmes, uma vez que ela não pode ser produzida nem por plantas nem por animais (Watanabe *et al.*, 1997)

Na célula as isoformas da vitamina B12 são metabolizadas dentro de peroxissomos e então liberadas no compartimento intracelular específico como

coenzimas Me-Cobalamina e Ado-Cobalamina, de acordo com seu destino citosólico ou mitocondrial respectivamente (Banerjee, 2006). A forma Me-Cobalamina que é utilizada na via metabólica descrita na Figura 1.

1.4 Homocisteína, Vitamina B12 e Folato no diagnóstico de doenças

A homocisteína e as consequências de seu desequilíbrio no organismo está associado a diversas patologias. Níveis elevados podem estar relacionados a danos nos vasos sanguíneos, hipertensão arterial, ataques cardíacos ou derrames (Fanapour *et al.*, 1999; van Beynum *et al.*, 1999). Além de que, por estar envolvido em etapas importantes do ciclo celular, o aumento da homocisteína tem sido associado a Alzheimer ou demência (Seshadri *et al.*, 2002).

O ácido fólico é um nutriente vital na dieta, possuindo um papel crucial na síntese de DNA e na produção de hemácias. Dessa maneira a deficiência de folato pode levar ao desenvolvimento de anemia megaloblástica e danos ao sistema nervoso. Sua deficiência é extremamente preocupante em mulheres grávidas, pois pode levar a defeitos congênitos no feto, levando a má formação do tubo neural. A vitamina B12 é essencial no organismo, devido a sua participação em diversas vias metabólicas. Sua diminuição pode levar ao desenvolvimento de anemia perniciosa, a produção diminuída de neurotransmissores e danos ao sistema nervoso. O ácido fólico e a vitamina B12 auxiliam no controle dos níveis séricos de homocisteína.

Devido à grande importância desses biomarcadores no metabolismo celular, tem sido crescente a sua preocupação em relação ao desenvolvimento de câncer. O efeito da ácido fólico no câncer colorretal ainda é controverso. Alguns estudos mostram que uma dieta rica em ácido fólico inibe o desenvolvimento do câncer colorretal (Giovannucci, 2002; Sanjoaquin *et al.*, 2005) e outros apontam que o ácido fólico pode estar envolvido na progressão do câncer (Baggott *et al.*, 2012 & Cole *et al.*, 2007). A hipótese é de que uma alimentação rica em ácido fólico irá ter um efeito protetor antes do processo de transformação neoplásica e que se a suplementação

de ácido fólico ocorrer após o processo de transformação tumoral irá aumentar o risco para o desenvolvimento do câncer colorretal (Kim, 2004).

Acredita-se o ácido fólico esteja envolvido no processo de carcinogênese devido seu papel na síntese de DNA e metilação do DNA, uma vez que a deficiência do folato leva a uma diminuição na produção de purina e timinidina, resultando em um reparo inadequado do DNA (Duthie *et al.*, 2000 & Kim *et al.*, 2000). Também possui um papel crítico na síntese de S-adenosil metionina (SAM) (Figura 1), um doador universal do grupo metil durante a metilação do DNA (Crider *et al.*, 2012). A metilação das regiões CpG (citosina-guanina dinucleotídeos) é uma modificação epigenética essencial para a manutenção da estabilidade do cromossomo e a regulação da expressão gênica (Crider *et al.*, 2012). Uma metilação aberrante é uma característica do câncer e é caracterizada por uma hipometilação global (contribuindo para a ativação de proto-oncogenes) (Feinberg & Vogelstein, 1983). Além do câncer colorretal, o folato também tem sido associado com o câncer gástrico (Vollset *et al.*, 2007; Teng-Yu *et al.*, 2014; Gonda *et al.*, 2012), câncer de próstata (Collin *et al.*, 2010).

Muitas células malignas são dependentes de metionina, pois elas não conseguem converter a Homocisteína em metionina (Wu *et al.*, 2002). Dessa forma a elevação da Homocisteína pode ser um biomarcador para a presença de tumores malignos (Wu *et al.*, 2002). A hiperhomocisteinemia é frequentemente associada com a deficiência do folato. A produção elevada da Homocisteína pode levar a produção de espécies reativas de oxigênio, contribuindo para o dano no DNA (Hoffman, 2011). Foi demonstrado que a Homocisteína é capaz de aumentar o crescimento de células cancerígenas em cultura e que esse efeito é inibido pelo folato (Akoglu *et al.*, 2004). Phelip *et al.* (2008) demonstraram que a hiperhomocisteinemia associada a deficiência de folato está associada ao processo de oncogênese, e somente a deficiência de folato não aumenta o risco para o desenvolvimento do câncer.

É necessário estabelecer um perfil da homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico nos pacientes não portadores de câncer gástrico, para que esses valores de referência possam ser utilizados como uma forma de triagem para a detecção de casos precoces de câncer. O estabelecimento desses valores de referência, próprios

para a população paraense, são de extrema importância uma vez que irão representar as características próprias da população dessa região, como fatores genéticos e culturais. A escolha de valores de referência adequados é fundamental para que laboratórios de análises clínicas forneçam informações fidedignas e que os clínicos possam interpretar corretamente os resultados e optar pelas melhores condutas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Definir valores de referência para as dosagens séricas de Homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico na população alvo deste estudo.

2.1.1 Objetivos específicos

- a) Caracterizar a distribuição dos valores de Homocisteína, vitamina B12 e ácido fólico.
- b) Definir a média e o desvio padrão dos valores desses biomarcadores na população estudada.
- c) Analisar a relação dos níveis séricos desses marcadores com a faixa etária e gênero da população alvo deste estudo.

3 METODOLOGIA

Foram coletadas 207 de amostras de soro de pacientes sem câncer gástrico, de acordo com os resultados de endoscopia e biópsia, atendidos no Hospital Ophir Loyola (Belém-PA) no período do primeiro semestre de 2016.

As amostras foram coletadas obedecendo aos cálculos de amostragem usando software BioEstat versão 5.0 (AYRES, M. *et al.* 2007) utilizando-se o cálculo para o tamanho amostral para proporções de intervalo de confiança, com poder de teste de 0,90 e nível alfa de 0,01.

A coleta de dados foi realizada por meio de informações hospitalares. E os pacientes os quais foram selecionados e aceitaram fazer parte do estudo, assinaram um termo de livre esclarecimento-TCLE, dessa maneira formalizando sua participação.

Para as dosagens de vitamina B12, ácido fólico 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 fotossensibilidade 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 rotações por minuto, durante 10 minutos, para obtenção do soro. Os níveis séricos de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12, foram avaliados pela metodologia de quimioluminescência (aparelho WIENER LAB CM 200).

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 analisados 207 pacientes saudáveis (130 homens e 77 mulheres), com idade variando de 28 à 89, a faixa etária mais prevalente no estudo foi de maiores de 60 anos (56% dos indivíduos totais). Na Tabela 1 pode-se observar as características da população estudada, na qual ressalta-se que as médias e os desvios padrões entre homens, mulheres e a população total foram muito semelhantes para os três marcadores analisados (Ácido fólico, Homocisteína e Vitamina B12).

Tabela 1: Características da amostra.

Características	Homem		Mulher		Total	
	n	%	n	%	n	%
Faixa etária						
28 – 39 anos	12,0	9,2	10,0	13,0	22,0	10,6
40 – 59 anos	40,0	30,8	29,0	37,7	69,0	33,3
> 60 anos	78,0	60,0	38,0	49,4	116,0	56,0
Marcadores						
bioquímicos	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Ácido fólico	16,6	2,6	16,7	2,6	16,7	2,6
Homocisteína	10,3	3,0	10,9	2,6	10,5	2,9
Vitamina B12	493,2	138,9	509,2	130,6	499,2	135,8

Como não foram observadas diferenças significativas nas dosagens entre homens e mulheres, passou a se adotar a população total para análise dos demais resultados. Na Tabela 2 pode-se observar as análises descritivas da amostra estudada. Nenhum dos 3 grupos (Ácido fólico, Homocisteína e Vitamina B12) possuíram distribuição normal pelo teste de D'Agostino. Eles apresentaram valores de média e mediana muito próximos entre si e um pequeno desvio padrão. De acordo com o que é recomendado pelo CLSI (2000), recomendamos para esta população adotar como valores de referência normais os intervalos que

compreendem os percentis de 5% e 95%, sendo, portanto, para o Ácido fólico 13 – 19,7 nmol/L; Homocisteína 5,5 – 14,6 μ M/L e Vitamina B12 245 – 676,4 pg/mL.

Tabela 2: Estatística descritiva para Ácido fólico, Homocisteína e Vitamina B12.

	Ácido fólico	Homocisteína	Vitamina B12
Número de valores	207,0	207,0	207,0
Valor mínimo	12,7	5,0	208,3
Valor máximo	20,0	16,4	694,5
Mediana	16,3	11,1	530,1
Média	16,7	10,5	499,2
Desvio Padrão	2,6	2,9	135,8
5% Percentil	13,0	5,5	245,0
95% Percentil	19,7	14,6	676,4
Distribuição Normal	Não	Não	Não

Na Tabela 3 são apresentadas as frequências para os valores de ácido fólico, onde observa-se que a maior prevalência de indivíduos está no intervalo de classe 18.50 |— 19.50, com uma frequência absoluta de 54 indivíduos.

Tabela 3: Frequências para os valores do ácido fólico.

Classes	Centro de classe	Frequência absoluta	Frequência relativa
12.50 — 13.50	13.00	36	17.39%
13.50 — 14.50	14.00	26	12.56%
14.50 — 15.50	15.00	15	7.25%
15.50 — 16.50	16.00	42	20.29%
16.50 — 17.50	17.00	0	0.00%
17.50 — 18.50	18.00	1	0.48%
18.50 — 19.50	19.00	54	26.09%
19.50 — 20.50	20.00	33	15.94%
Total		207	100.00%

No histograma de frequência (Figura 2), podemos observar os dados numéricos descritos na Tabela 3, ressaltando a baixa quantidade de indivíduos presentes nas colunas com centro de classe 17 e 18.

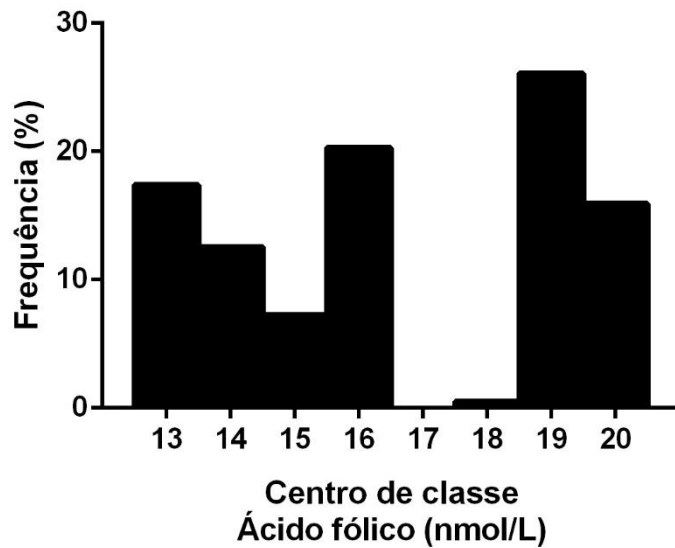


Figura 2: Histograma de frequência do Ácido fólico.

Na Tabela 4 estão as frequências dos valores de Homocisteína, onde observa-se que a maior prevalência de indivíduos está no intervalo de classe 10.50 |— 12.50, com uma frequência absoluta de 46 indivíduos.

Tabela 4: Frequências para a Homocisteína

Classes	Centro de classe	Frequência absoluta	Frequência relativa
4.50 — 6.50	5.50	28	13.53
6.50 — 8.50	7.50	27	13.04
8.50 — 10.50	9.50	45	21.74
10.50 — 12.50	11.50	46	22.22
12.50 — 14.50	13.50	42	20.29
14.50 — 16.50	15.50	19	9.18
Total		207	100.00%

Na Figura 3 podemos observar no histograma a distribuição dos resultados apresentados na Tabela 4.

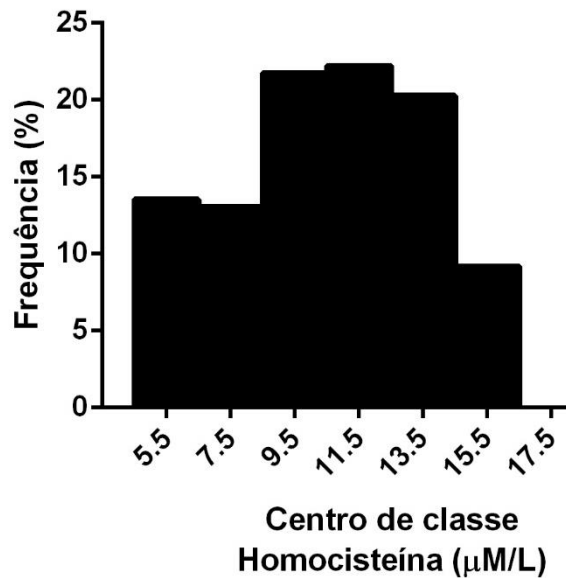


Figura 3: Histograma de frequência da Homocisteína

Na Tabela 5 estão os resultados para as dosagens séricas de vitamina B12. A maior frequência foi no intervalo de classe 517,50 |— 579,50 com uma frequência absoluta de 37 indivíduos.

Tabela 5: Frequências para vitamina B12.

Classes	Centro de classe	Frequência absoluta	Frequência relativa
207.50 — 269.50	238.50	14	6.76
269.50 — 331.50	300.50	21	10.14
331.50 — 393.50	362.50	15	7.25
393.50 — 455.50	424.50	20	9.66
455.50 — 517.50	486.50	28	13.53
517.50 — 579.50	548.50	37	17.87
579.50 — 641.50	610.50	36	17.39
641.50 — 703.50	672.50	36	17.39
Total		207	100.00%

No histograma (Figura 4) podemos observar a tendência apresentada na Tabela 5, observa-se também o “pico” observado na coluna com centro de classe 300,5.

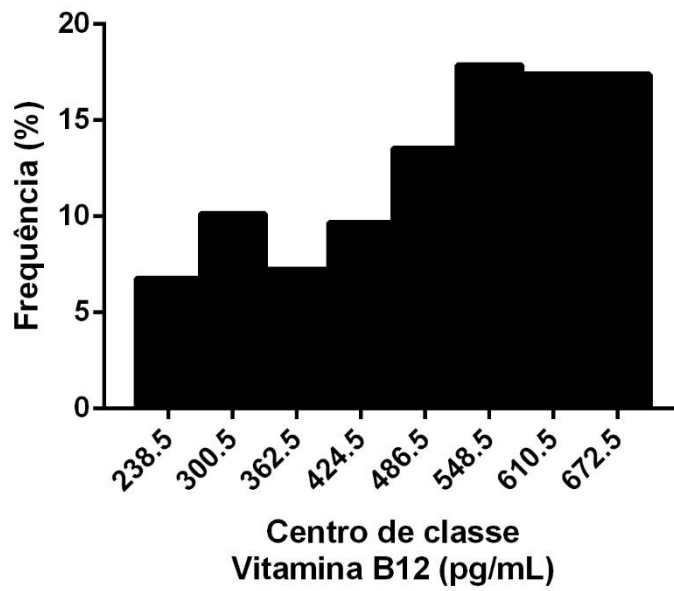


Figura 4: Histograma de frequência da Vitamina B12.

5 DISCUSSÃO

O objetivo desse estudo foi descrever a dosagem sérica de homocisteína, vitamina B12 e folato na população atendida no Hospital Ophir Loyola, referência em tratamento de câncer. Nosso estudo não observou diferenças nas dosagens de homocisteína entre homens e mulheres, discordando do que foi observado por Adeli *et al.* (2015) na população canadense, provavelmente pela diversidade étnica encontrada na população brasileira. Apesar disto, sabe-se que os níveis séricos de homocisteína total variam conforme a idade, o sexo e o nível de estrógeno do indivíduo. Uma vez que Mulheres pós-menopausa apresentam níveis de homocisteína maiores que mulheres pré-menopausa e os homens possuem níveis de homocisteína maiores que o das mulheres (Ueland *et al.*, 1993). Crianças tendem a apresentar níveis de homocisteína mais baixos (Ueland *et al.*, 1992; Wilcken & Gupta, 1979) tendendo a crescer com a idade (Gartler *et al.*, 1981).

Diversos estudos epidemiológicos têm apontado um efeito protetor do folato no desenvolvimento de câncer, devido ao seu papel na síntese do DNA (Giovannucci, 2002). Além disso ele é um forte determinante da concentração de homocisteína, sendo este inversamente relacionados com o consumo de folato, para um nível basal de homocisteína a ingestão de folato deve ultrapassar 400 µg/dia (Lucock, 2004). Dessa maneira uma ingestão mais baixa de folato, pode ser suficiente para aumentar os níveis de homocisteína, entretanto uma alimentação pobre em folato pode ser comum na população geral de muitos países.

Diversos estudos apontam uma correlação negativa entre homocisteína e vitamina B12 sérica (Dalery *et al.*, 1995) e uma correlação positiva forte com a idade, sexo masculino, fumo, hipertensão arterial, níveis aumentados de colesterol e sedentarismo (Nygard *et al.*, 1995). Dessa maneira o folato e a vitamina B12 são importantes determinantes na concentração sérica da homocisteína, e a dosagem sérica do folato é um bom biomarcador que reflete sua disponibilidade nos tecidos (Caudill, 2010), tornando os resultados muito representativos sobre a situação que possa estar ocorrendo a nível tecidual.

Segundo o laboratório Hemes Pardini os valores de referência para a dosagem de homocisteína no soro por quimiluminescência é de 5,46 a 16,20 micromol/L para homens e 4,44 a 13,56 micromol/L para mulheres (Laboratório Hermes Pardini, 2016). Para a vitamina B12 81 a 488 pg/mL para homens e 111 a

522 pg/mL para mulheres. Para o ácido fólico maior que 3,10 ng/mL (Laboratório Hermes Pardini, 2016). Os valores indicados no presente estudo são próximos aos valores de referência indicados pelo laboratório Hemes Pardini (um laboratório de referência nacional), as pequenas variações encontradas se devem provavelmente pela composição étnica da população paraense e aos hábitos alimentares.

Os hábitos alimentares podem influenciar muito os níveis séricos de vitamina B12, folato e homocisteína, dessa maneira, recomenda-se uma alimentação saudável e balanceada. Uma alimentação rica em folato e vitamina B12 podem diminuir a concentração sérica de homocisteína. Os alimentos ricos em folato e vitamina B12 são: fígado, levedo de cerveja, lentilha, quiabo, feijão, espinafre, peixes, leite, ovo e carnes magras.

6 CONCLUSÕES

Esses valores de referência, próprios da população paraense, refletem os hábitos alimentares e culturais específicos da região norte e podem ser utilizados futuramente para a determinação precoce no desenvolvimento de câncer, além de serem ótimos indicadores do risco para o desenvolvimento de doenças coronarianas. Dessa maneira, recomenda-se para a população estudada os valores de referência (para a técnica de quimioluminescência) para o Ácido fólico: 13 – 19,7 nmol/L; para Homocisteína: 5,5 – 14,6 μ M/L e para Vitamina B12: 245 – 676,4 pg/mL

7 REFERÊNCIAS

- AKOGLU, B.; MILOVIC, V.; CASPARY, W. F.; FAUST, D. Hyperproliferation of homocysteine-treated colon cancer cells is reversed by folate and 5-methyltetrahydrofolate. **Eur J Nutr**, **43**(2):93-9, 2004.
- ARRUDA, V. R.; VON ZUBEN, P. M.; CHIAPARINI, L. C.; *et al.* The mutation Ala 677 ® Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. **Thromb Haemost**, **77**: 818-21, 1997.
- AYRES M., AYRES JÚNIOR M., AYRES D.L., SANTOS, A.S. **Bioestat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq,. 272p, 2008.
- BAGGOTT, J. E.; OSTER, R. A.; TAMURA, T. Meta-analysis of cancer risk in folic acid supplementation trials. **Cancer Epidemiol**, **36**(1):78-81, 2012
- BANERJEE, R. B12 trafficking in mammals: A for coenzyme escort service. **ACS Chem Biol**, **1**: 149–159, 2006
- BEN-ARI, Z. *et al.* Basal and post-methionine serum homocysteine and lipoprotein abnormalities in patients with chronic liver disease. **J Investig Med**, **49** (4): 325-9, 2001.
- BOERS, G. H. *et al.* Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. **NEJM**, **313**: 709-15, 1985.
- BOTEZ, M, I. Folate deficiency and neurological disorders in adults. **Med Hypotheses**. **2**(4):135-40, 1976.
- BYDLOWSKI, S. P.; MAGNANELLI, A. C.; CHAMONE, D. A. F. Hiper-Homocisteinemia e Doenças Vaso-Oclusivas. **Arq Bras Cardiol**, **71**(1): 69-76, 1998
- CAUDILL, M. A. Folate bioavailability: implications for establishing dietary recommendations and optimizing status. **Am J Clin Nutr**, **91**(5):1455S-1460S, 2010.

- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory.** Document C 28-A2, 2000.
- COLE, B. F.; BARON, J. A.; SANDLER, R. S.; *et al.* Folic acid for the prevention of colorectal adenomas: a randomized clinical trial. **JAMA**, **297**(21):2351-9, 2007.
- COLLIN, S. M.; METCALFE, C.; REFSUM, H.; *et al.* Circulating folate, vitamin B12, homocysteine, vitamin B12 transport proteins and risk of prostate cancer: a case-control study, systematic review and meta-analysis. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **19** (6): 1632–1642, 2010.
- CRIDER, K.S.; YANG, T.P.; BERRY, R.J. & BAILEY, L.B. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. **Adv Nutr**, **3**: 21–38, 2012
- DALERY, K.; LUSSIER-CACAN, S.; SELHUM, J.; *et al.* Homocysteine and coronary artery disease in French Canadian subjects: relation with vitamin B12, B6, pyridoxal phosphate and folate. **Am J Cardiol**, **75**: 1107-11, 1995.
- DUTHIE, S. J.; NARAYANAN, S.; BLUM, S.; PIRIE, L.; BRAND, G. M. Folate deficiency in vitro induces uracil misincorporation and DNA hypomethylation and inhibits DNA excision repair in immortalized normal human colon epithelial cells. **Nutr Cancer**, **37**: 245-251, 2000.
- FANAPOUR, P. C.; YUG, B.; KOCHAR, M. S. Hyperhomocysteinemia: an additional cardiovascular risk factor. **WMJ**, **98** (8): 51-4, 1999.
- FEINBERG, A.P. & VOGELSTEIN, B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. **Nature**, **301**: 89–92, 1983.
- FOTIOU, P.; RAPTIS, A.; APERGIS, G.; *et al.* Vitamin status as a determinant of serum homocysteine concentration in type 2 diabetic retinopathy. **J Diabetes Res**, **2014**: 807209, 2014.
- GARTLER, S. M.; HORNANY, S. K.; MOTULSKY, A. G. Effect of chronologic age on induction of cystathionine synthase, uroporphyrinogen 1 synthase, and glucose-

- Gphosphate dehydrogenase activities in lymphocytes. **Proc Natl Acad Sci USA**, **78**: 1416-9, 1981.
- GIOVANNUCCI, E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review. **J Nutr**, **132** (8): 2350S-2355S, 2002.
- GIOVANNUCCI, E.; RIMM, E. B.; ASCERIO, A.; *et al.* Alcohol, low-methionine-low-folate diets and risk of colon cancer in men. **J Natl Cancer Inst**, **87** (4): 265-73, 1995.
- GONDA, T. A.; KIM, Y. I.; SALAS, M. C.; *et al.* Folic acid increases global DNA methylation and reduces inflammation to prevent Helicobacter-associated gastric cancer in mice. **Gastroenterology**, **142**: 824-833.e7, 2012
- GROSSE, S. D.; COLLINS, J. S. Folic acid supplementation and neural tube defect recurrence prevention. **Birth Defects Res A Clin Mol Teratol**, **79** (11): 737-42, 2007.
- HERBERT, V. Vitamin B-12: Plant sources, requirements, and assay. **Am. J. Clin. Nutr**, **48**: 852–858, 1988
- HOFFMAN, M. Hypothesis: hyperhomocysteinemia is an indicator of oxidant stress. **Med Hypotheses**, **77**(6):1088-93, 2011.
- JAKOBY, W. B.; GRIFFITH, O. W. Sulfur and sulfur amino acids. **Methods Enzymol**, **143**: 366-76, 1994.
- JIAN, M.; WANG, J.; SUN, H. Meta-analysis of effect of intervention with folic acid on neural tube defects. **Wei Sheng Yan Jiu**, **38** (6): 682-4, 2009.
- KANG, S. S.; WONG, P. W. K.; COOK, H. Y.; *et al.* Protein-bound homocyst(e)ine. A possible risk factor for coronary artery disease. **J Clin Invest**, **77**: 1482-6, 1986.
- KANG, S. S.; WONG, P. W. K.; NORUSIS, M. Homocysteinemia due to folate deficiency. **Metabolism**, **36**: 458-62, 1987.

- KHOSROW, A.; HIGGINS, V.; NIEUWESTEEG, M.; *et al.* Complex Reference Values for Endocrine and Special Chemistry Biomarkers across Pediatric, Adult, and Geriatric Ages: Establishment of Robust Pediatric and Adult Reference Intervals on the Basis of the Canadian Health Measures Survey. **Clinical Chemistry**, **61** (8): 1063–1074, 2015.
- KIM, Y. I. Folate and DNA methylation: a mechanistic link between folate deficiency and colorectal cancer? **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **13**: 511-519, 2004
- KIM, Y. I. Will mandatory folic acid fortification prevent or promote cancer? **Am J Clin Nutr**, **80** (5):1123-8, 2004.
- KIM, Y.I.; SHIRWADKAR, S.; CHOI, S.W.; PUCHYR, M.; WANG, Y. & MASON, J.B. Effects of dietary folate on DNA strand breaks within mutation-prone exons of the p53 gene in rat colon. **Gastroenterology**, **119**: 151–161, 2000.
- LABORATÓRIO HERMES PARDINI. Disponível em: <<http://www.labhpardini.com.br>> . Acesso em 29 de dezembro de 2016
- LUCOCK, M. Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? **BMJ**, **328**: 211-4, 2004.
- MOTULSKY, A. G. Nutritional ecogenetics: homocysteine-related arteriosclerotic vascular disease, neural tube defects, and folic acid. **Am J Hum Genet**, **58**: 17-20, 1996.
- MUNSHI, M. N.; STONE, A.; FINK, L.; FONSECA, V. Hyperhomocysteinemia following a methionine load in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and macrovascular disease. **Metabolism**, **45**: 133-5, 1996.
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). **Dietary supplement fact sheet. Folate. Health Information.** Office of Dietary Supplements, US National Institutes of Health; 2014. Available from: <http://ods.od.nih.gov/factsheets/Folate-HealthProfessional>.
- NEVES, L. B.; MACEDO, D. M.; LOPES, A. C. Hemocisteína. **J Bras Patol Med Lab**, **40** (5): 311-20, 2004

- NYGARD, O.; VIOLSET, S. E.; REFSUM, H.; *et al.* Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile: the Hordaland Homocysteine Study. **JAMA**, **274**: 1526-33, 1995.
- PANIZ, C.; GROTTTO, D.; SCHMITT, G. C.; *et al.* Physiopathology of vitamin B12 deficiency and its laboratorial diagnosis. **J Bras Patol Med Lab**, **41** (5): 323-34, 2005.
- PHELIP, J. M.; DUCROS, V.; FAUCHERON, J. L.; FLOURIE, B.; ROBLIN, X. Association of hyperhomocysteinemia and folate deficiency with colon tumors in patients with inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis**, **14** (2): 242-8, 2008.
- SANJOAQUIN, M. A.; ALLEN, N.; COUTO, E.; RODDAM, A. W.; KEY, T. J. Folate intake and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach. **Int J Cancer**, **113** (5): 825-8, 2005.
- SCHNEIDER, J. A.; TANGNEY, C. C.; MORRIS, M. C. Folic acid and cognition in older persons. **Expert Opin Drug Saf**, **5** (4): 511-22, 2006.
- SESHADRI, S.; *et al.* Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. **New England Journal of Medicine**, **346** (7): 476-483, 2002.
- STABLER, S. P.; MARCELL, P. D.; PODELL, E. R.; *et al.* Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. **J Clin Invest**, **81**: 466-74, 1988.
- TENG-YU, L.; EN-PEI, C.; YIN-TING, S.; *et al.* Lower serum folate is associated with development and invasiveness of gastric cancer. **World J Gastroenterol**, **20** (32): 11313-11320, 2014.
- UELAND, P. M.; REFSUM, H.; BATTSTRÖM, L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. In: Francis Jr RB, ed. - **Atherosclerotic cardiovascular disease, hemostasis, and endothelial function**. New York: Marcel Dekker. 183-236, 1992.

- UELAND, P. M.; REFSUM, H.; STABLER, S. P.; *et al.* Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. **Clin Chem**, **39**: 1764-79, 1993.
- UELAND, P.M.; REFSUM, H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: Plasma levels in health, disease, and drug therapy. **J Lab Clin Med**, **114**: 473-501, 1989.
- VAN BEYNUM, I. M.; SMEITINK, J. A.; DEN HEIJER, M.; TE POELE POTHOFF, M. T.; BLOM, H. J. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for ischemic stroke in children. **Circulation**, **99** (16): 2070-2, 1999.
- VILAÇA, C. O.; FREITAS, M. R. G.; NASCIMENTO, O. J. M.; *et al.* Homocysteine metabolism in neurologic disorders. **Rev Bras Neurol**, **51** (3): 73-8, 2015.
- VOLLSET, S. E.; IGLAND, J.; JENAB, M.; *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 Epidemiol Biomarkers Prev**, **16** (11): 2416–24, 2007.
- WANG, L.; KE, L.; CHEN, W.; *et al.* Polymorphisms of MTHFD, Plasma Homocysteine Levels, and Risk of Gastric Cancer in a High-Risk Chinese Population. **Clin Cancer Res**, **13**(8): 2526-2532, 2007
- WATANABE, F.; ABE, K.; TAKENAKA, S.; TAMURA, Y.; MARUYAMA, I.; NAKANO, Y. Occurrence of cobalamin coenzymes in the photosynthetic green alga, *Chlorella vulgaris*. *Biosci. Biotechnol. Biochem*, **6**: 896–897, 1997.
- WEINSTEIN, S. J.; HARTMAN, T. J.; STOLZENBERG-SOLOMON, R. *et al.* Null association between prostate cancer and serum folate, vitamin B(6), vitamin B(12), and homocysteine. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, **12** (11): 1271-2, 2003.
- WILCKEN, D. E. L.; GUPTA, V. J. Cysteine - homocysteine mixed disulfide: differing plasma concentrations in normal men and women. **Clin Sci**, **57**: 211-5, 1979.
- WU, L. L. & WU, J. T. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for cancer and a new potential tumor marker. **Clin Chim Acta**, **322**: 21–28, 2002