

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA A DEFICÊNCIA DE  
VITAMINA B12 EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES  
MELLITUS TIPO 2 USANDO METFORMINA**

**FABIANA LIMA MARQUES**

**VILA VELHA**  
**DEZEMBRO / 2016**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA A DEFICÊNCIA DE  
VITAMINA B12 EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES  
MELLITUS TIPO 2 USANDO METFORMINA**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do título de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

**FABIANA LIMA MARQUES**

**VILA VELHA**  
**DEZEMBRO / 2016**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

M357a Marques, Fabiana Lima.

Análise de fatores de risco para a deficiência de vitamina B12 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 usando metformina. / Fabiana Lima Marques – 2016.

55 f.: il.

Orientadora: Everlayny Fiorot Costalonga.

Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Vila Velha, 2016.

Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Diabetes. 3. Vitamina.  
I. Costalonga, Everlayny Fiorot. III. Universidade Vila Velha. IV.  
Título.

CDD 615

**FABIANA LIMA MARQUES**

**ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA A DEFICÊNCIA DE  
VITAMINA B12 EM PACIENTES PORTADORES DE DIABETES  
MELLITUS TIPO 2 USANDO METFORMINA**

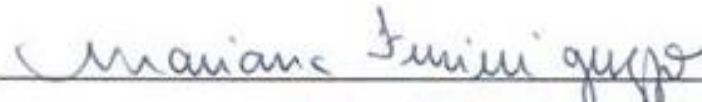
Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do título de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 14 de dezembro de 2016,

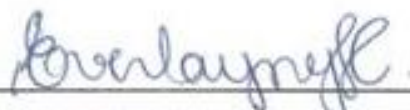
Banca Examinadora:



**Weverton Machado Luchi – UFES**



**Mariana Furieri Guzzo – UVV**



**Everlayny Fiorot Costalonga – UVV**

**Orientador**

Dedico essa dissertação a minha família, com especial carinho à minha mãe e à minha avó, Maria da Conceição Lima Marques e Maria da Silva Lima, pelos ensinamentos sobre caráter, amor e dignidade e ao meu tio, Valmir José de Lima, por ser meu maior exemplo de médico e acima de tudo de ser humano.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ser meu farol nos momentos de indecisão, minha sustentação nos momentos de fraqueza e meu conselheiro nos momentos de alegria. Obrigada Senhor pela Graça.

A minha orientadora, grande amiga e incentivadora, Prof<sup>a</sup>. Dr. Everlayny Fiorot Costalonga. Obrigada pela paciência, persistência e pela grande dedicação. É uma honra tê-la como orientadora, amiga, verdadeiro exemplo, pois além dos ensinamentos científicos, aprendi muito com sua postura humana e a sua grande humildade.

A minha família, com especial carinho à minha mãe, à minha avó e à minha irmã, Maria da Conceição Lima Marques, Maria da Silva Lima e Flávia Lima Marques pelo grande apoio e estímulo.

Ao meu tio, Prof. Valmir José de Lima, o meu respeito, minha admiração e meu amor, por sempre estar pronto a me ajudar nos momentos difíceis, por seus grandes ensinamentos na medicina e por me mostrar que é possível e necessário ser um grande médico e um grande ser humano.

Aos meus amigos, professores da UVV, especialmente às Prof.<sup>a</sup> Tâmea Aparecida Linhares Pôssa Linhares, Prof.<sup>a</sup> Alana Rocha Puppim Fraga e Prof.<sup>a</sup> Mariana Furieri Guzzo que muito me ajudaram e me estimularam. Meu muito obrigada amigas.

Ao colega Weverton Machado Luchi pelas orientações na elaboração do artigo científico.

Ao Edson Rodrigues Pereira Filho, secretário da pós-graduação, sempre gentil, solícito e competente.

Aos meus pacientes, pela confiança, pela ajuda e pelos ensinamentos de bondade e resignação.

“As convicções são cárceres. Mais inimigas da verdade do que as próprias mentiras.”

*Friedrich Nietzsche*

## SUMÁRIO

|   |          |
|---|----------|
| <b>Resumo.....</b>  | <b>1</b> |
| <b>Abstract.....</b>  | <b>2</b> |
| <b>Artigo científico.....</b>   | <b>3</b> |
| Abstract.....   | 4        |
| Introduction.....   | 5        |
| Material and methods.....   | 7        |
| Results.....  | 11       |
| Discussion.....   | 17       |
| Conclusion.....   | 19       |
| References.....   | 20       |
| <b>ANEXO 1</b>  |          |
| Protocolo de pesquisa clinica.....  | 24       |
| <b>ANEXO 2</b>  |          |
| Termo de consentimento livre e esclarecido.....   | 32       |
| <b>ANEXO 3</b>  |          |
| Aprovação pelo comitê de ética em pesquisa.....   | 36       |
| <b>ANEXO 4</b>  |          |
| Normas técnicas para publicação na revista “ <i>Archives of Endocrinology and Metabolism</i> ”..... | 39       |



## **ANEXO 5**

|  |    |
|--|----|
| Comprovante de submissão do artigo ao periódico “ <i>Archives of Endocrinology and Metabolism</i> ”..... | 46 |
|--|----|

## RESUMO

MARQUES, Fabiana Lima, Universidade Vila Velha – ES, dezembro de 2016. **Análise de fatores de risco para a deficiência de vitamina B12 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 usando metformina.** Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr. Everlayny Fiorot Costalonga.

**INTRODUÇÃO:** Em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo2 (DM2), o uso de metformina (MTF) tem sido associado à deficiência de vitamina B12. O presente estudo avalia essa associação e busca identificar outros potenciais fatores de risco para essa deficiência, verificando sua relação com a presença de neuropatia periférica (NP) clinicamente detectável. **MATERIAL E MÉTODOS:** Estudo transversal envolvendo portadores de DM2 atendidos em um serviço público de referência. NP foi rastreada pelo Escore de Sintomas Neuropáticos e pelos testes de sensibilidade vibratória, reflexo Aquileu e monofilamento. Os níveis de vitamina B12 foram determinados pela média de 2 dosagens. **RESULTADOS:** Foram incluídos 316 indivíduos, 91 % usando MTF. Deficiência de vitamina B12 foi observada em 14% (n=43). Todos os portadores de deficiência faziam uso de MTF, com *odds ratio* de 2,6 para aqueles com doses superiores a 1000 mg/dia (IC 95% 1,3-5,3, p=0,006). A presença de deficiência também se relacionou ao uso de inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) (p=0,02), e as concentrações foram diretamente relacionadas aos níveis de ferritina (p=0,002). NP provável foi observada em 41% (n=129). A frequência de NP foi menor em usuários de metformina (39% vs. 60%; p = 0,04). **CONCLUSÕES:** Este estudo mostrou associação dose dependente entre o uso de MTF e deficiência de vitamina B12, além de uma associação com o uso de IECA. Por outro lado, a presença dessa deficiência não esteve relacionada à ocorrência de neuropatia.

**Palavras chaves:** diabetes mellitus tipo 2, metformina, vitamina B12, neuropatia diabética

## ABSTRACT

MARQUES, Fabiana Lima, University of Vila Velha – ES, dezembro de 2016. **Analysis of risk factors for vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes mellitus using metformin.** Advisor: Prof<sup>a</sup>. Dr. Everlayny Fiorot Costalonga.

**INTRODUCTION:** In patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), the use of metformin has been associated with vitamin B12 deficiency. The present study evaluates this association and seeks to identify other potential risk factors for this deficiency, verifying its relationship with the presence of clinically detectable peripheral neuropathy (PN). **MATERIAL AND METHODS:** Cross-sectional study involving patients with T2DM attended at a referral public service. PN was tracked by the Neuropathy Symptom Score and by the vibration sensitivity, Achilles reflex, and monofilament tests. Vitamin B12 levels were determined as the mean of two measurements. **RESULTS:** The study included 316 subjects, of whom 91% were using metformin. Vitamin B12 deficiency was observed in 14% (n=43). All patients with the deficiency used metformin, with an odds ratio of 2.6 for those using doses higher than 1000 mg/day (95% confidence interval [CI] 1.3–5.3, p=0.006). The presence of vitamin B12 deficiency was also related to the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI) (p=0.02), and the vitamin B12 concentrations were directly related to ferritin levels (p=0.002). Probable PN was observed in 41% (n=129). The frequency of PN was lower in metformin users (39% vs. 60%; p=0.04). **CONCLUSIONS:** This study showed a dose-dependent association between the use of metformin and vitamin B12 deficiency, in addition to an association with the use of ACEI. In contrast, the presence of this deficiency was not related to the occurrence of neuropathy.

**Keywords:** Type 2 diabetes mellitus - Metformin - Vitamin B12 - Diabetic neuropathy

## ARTIGO CIENTÍFICO

**Analysis of risk factors for vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes mellitus using metformin**

**Authors:**

Fabiana Lima Marques<sup>1</sup>, Everlayny Fiorot Costalonga<sup>1,2</sup>

**Institutions:**

<sup>1</sup>Universidade de Vila Velha [Vila Velha University] - Post Graduation in Pharmaceutical Sciences - Vila Velha (ES) - Brazil

<sup>2</sup>Universidade Federal do Espírito Santo [Espírito Santo Federal University] – Department of Clinical Medicine - Vitória (ES) - Brazil

**Author / Address for correspondence:**

Fabiana Lima Marques

Avenida Champagnat, 501, salas 207 e 208, Praia da Costa, Vila Velha, ES, Brazil

Telephone: 27 - 3239-3666

Fax: 27-33251545

E-mail: [fabianalima5@uol.com.br](mailto:fabianalima5@uol.com.br)

**Short title:** Vitamin B12 deficiency in type 2 diabetics

**Keywords:** Type 2 diabetes mellitus - Metformin - Vitamin B12 - Diabetic neuropathy

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** In patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM), the use of metformin has been associated with vitamin B12 deficiency. The present study evaluates this association and seeks to identify other potential risk factors for this deficiency, verifying its relationship with the presence of clinically detectable peripheral neuropathy (PN). **MATERIAL AND METHODS:** Cross-sectional study involving patients with T2DM attended at a referral public service. PN was tracked by the Neuropathy Symptom Score and by the vibration sensitivity, Achilles reflex, and monofilament tests. Vitamin B12 levels were determined as the mean of two measurements. **RESULTS:** The study included 316 subjects, of whom 91% were using metformin. Vitamin B12 deficiency was observed in 14% (n=43). All patients with the deficiency used metformin, with an odds ratio of 2.6 for those using doses higher than 1000 mg/day (95% confidence interval [CI] 1.3–5.3,  $p=0.006$ ). The presence of vitamin B12 deficiency was also related to the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI) ( $p=0.02$ ), and the vitamin B12 concentrations were directly related to ferritin levels ( $p=0.002$ ). Probable PN was observed in 41% (n=129). The frequency of PN was lower in metformin users (39% vs. 60%;  $p=0.04$ ). **CONCLUSIONS:** This study showed a dose-dependent association between the use of metformin and vitamin B12 deficiency, in addition to an association with the use of ACEI. In contrast, the presence of this deficiency was not related to the occurrence of neuropathy.

**Keywords:** Type 2 diabetes mellitus - Metformin - Vitamin B12 - Diabetic neuropathy



## INTRODUCTION

Metformin is the most widely used oral antihyperglycemic agent (1). Most current clinical recommendations propose that, in the absence of contraindications, metformin should be the drug of first choice to be started at the moment of the diagnosis of type 2 diabetes mellitus (T2DM) (2-3). Most of the side effects of this drug are mild and transient (4). However, side effects that are slightly symptomatic and difficult to initially detect clinically, such as B12 deficiency, have been suggested (5-9).

The association of vitamin B12 deficiency with the development of megaloblastic anemia has already been well established (10-12). However, anemia and macrocytosis can be seen in only 29% and 36%, respectively, of the population with proven cobalamin deficiency (10). Another possible consequence of this deficiency is peripheral neuropathy, whose initial manifestations, such as paresthesia and loss of vibration sensitivity, can easily be confused with the clinical presentation of diabetic neuropathy (12-13). As about 50% of the patients with T2DM will develop diabetic neuropathy (14-16), the clinical suspicion of vitamin B12 deficiency based on neurological findings is impaired, leading to a possible underdiagnosis of this important nutritional deficit, which can cause permanent neurological damage if not adequately identified and treated (17).

Because of the large number of individuals using metformin, the implementation of a universal screening routine would entail high costs for the public system. Therefore, the identification of risk factors for the development of this deficiency is a way of facilitating the identification of more susceptible patients, allowing the suggestion of more cost-effective screening systems.

Thus, the objectives of this study were to correlate the presence of vitamin B12 deficiency, as well as the serum level of this vitamin, with the use of metformin and other potential risk factors, such as age and use of other medications. Other objectives included performing clinical screening for peripheral neuropathy in patients with T2DM, verifying the association of a positive screening with the presence of vitamin B12 deficiency.



## **MATERIALS AND METHODS**

This was a cross-sectional study that evaluated patients with T2DM enrolled in the diabetic care program of the municipal government of Cariacica, Espirito Santo, Brazil.

### **Ethical aspects**

The patients participated spontaneously, having signed a free and informed consent form. The project was approved by the research ethics committee at the Vila Velha University, linked to *Plataforma Brasil* (Brazil Platform), with the number 1.328.545.

### **Selection of the patients**

Patients of both sexes who had T2DM according to the diagnostic criteria of the American Diabetes Association (ADA) were evaluated from November 2015 to July 2016. Patients with malabsorptive diseases, end-stage chronic renal failure, and with a history of using cobalamin-containing formulations in the previous 6 months were excluded from the study. For purposes of characterizing the use or not of metformin, we considered as users those patients using this medication for at least 3 months.

### **Data collection**

All patients were submitted to interviews collecting data regarding the duration of the diabetes; medications used currently and in the previous 6 months; detailed information on the use of metformin, proton pump inhibitors, H2 antagonists and supplements containing calcium; use of a vegetarian diet; and history of peripheral neuropathy due to other etiologies. The Neuropathy Symptom Score

(NSS) (18), in a version adapted to the Portuguese language (19), was used to evaluate neuropathic symptoms.

The patients underwent a complete physical examination, including evaluation of anthropometric measurements and measurement of blood pressure. To test the vibration sensitivity, we used a 128-Hz tuning fork that was positioned on the dorsal side of the hallux and classified the response as normal or altered (18). The Achilles reflex was classified as absent, decreased, or normal (18). Sensitivity to mechanical pressure was tested by using the 10-g Semmes-Weinstein monofilament, positioned at four different points in each foot: plantar regions of the hallux, and first, third and fifth metatarsals. The identification of any point of insensitivity was considered altered (20).

The clinical diagnosis of neuropathy was considered as likely for the presence of any combination of two of the following findings: neuropathic symptoms, altered sensitivity (vibration or mechanical pressure), and alteration of the Achilles reflexes (21). The diagnosis of possible neuropathy was considered in the presence of any of these findings.

### **Laboratory evaluation**

Samples were collected for the evaluation of blood glucose, glycated hemoglobin (HbA1c), lipid profile, vitamin B12, iron, ferritin, folic acid, aspartate transaminases (AST) and alanine transaminases (ALT), TSH and free T4, and complete blood count with platelet count. The formula proposed by the MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) was used to estimate the glomerular filtration rate. The serum level of vitamin B12 was quantified by chemiluminometric assay in a single laboratory and repeated on a subsequent day. In order to classify the vitamin B12 levels, the mean of the two measurements was used, with the presence of

values below the reference value of the method being considered as deficient (211 pg/mL).

### **Statistical analyses**

The sample was characterized in regard to sex, age, and other variables described above. Categorical variables were described as absolute number / percentage. Continuous variables were described as mean  $\pm$  standard deviation (SD) or median / interquartile range, depending on the presence or absence of parametric distribution, respectively.

Patients with vitamin B12 deficiency were compared with those without a deficiency with regard to possible risk factors, such as the use of metformin (characterizing the duration of use, pharmacological presentation, and current dose), use of other medications (such as proton pump inhibitors, H2 antagonists, supplements with calcium, oral antihyperglycemic agents, antihypertensive medications, and statins), duration of the T2DM, sex, and age. Moreover, a comparative analysis of the prevalence of vitamin B12 deficiency was performed in users and non-users of metformin.

The analyses of the association between the variables were performed through a comparison between groups, correlations, and linear regressions. Comparisons between quantitative variables were analyzed by using the Student's *t* test or Mann-Whitney test, as appropriate. Qualitative variables were analyzed using the chi-square test. Analysis of association between continuous variables was performed both by means of correlation tests (Pearson or Spearman, as appropriate) and by simple and multiple linear regression tests, in order to estimate the independent influence of the predictor variables on the outcomes.

All statistical analyses were performed with SigmaStat for Windows (version 3.5, SPSS, Inc., San Rafael, CA). P values < 0.05 were considered statistically significant.

## RESULTS

We selected 316 subjects of both sexes with T2DM. Of these, 91% (n = 286) were using metformin. The general characteristics of the sample, including the profile of medications in use, are presented in **Table 1**.

**Table 1: General characteristics of the sample**

| <b>General data</b>                        |                    |
|--|--------------------|
| Sex F : M *                                | 237 (75) : 79 (25) |
| Age (years) #                              | 63.8 (9.2)         |
| Duration of T2DM diagnosis (years) @       | 10 (5-15)          |
| Body Mass Index (Kg/m <sup>2</sup> ) @     | 30 (26-33)         |
| Smoking *                                  | 20 (6%)            |
| Alcoholism *                               | 8 (3%)             |
| <b>Medications in use</b>                  |                    |
| Metformin *                                | 286 (91)           |
| Duration of Metformin use (years) @        | 9.8 (6.0-13.0)     |
| Metformin Dose (mg) @                      | 2000 (1500-2550)   |
| Sulfonylurea *                             | 94 (30)            |
| Other oral antihyperglycemic agents *      | 14 (4)             |
| Insulin *                                  | 142 (45)           |
| Angiotensin-converting enzyme inhibitors * | 120 (38)           |
| Angiotensin II receptor blockers *         | 121 (39)           |
| Statin *                                   | 236 (75)           |
| Calcium Channel Antagonist *               | 57 (18)            |
| Aspirin *                                  | 115 (37)           |
| Proton pump inhibitor *                    | 76 (24)            |
| H2 antagonist *                            | 5 (2)              |
| Calcium Supplements *                      | 18 (6)             |

---

\* n (%); # mean (SD); @ median (interquartile range)

On average, the group had a good metabolic control, with an HbA1c of  $7.3 \pm 1.3\%$ , HDL cholesterol of  $46 \pm 11$  mg/dL, LDL cholesterol of  $86 \pm 30$  mg/dL, and triglycerides of  $137 \pm 70$  mg/dL. The percentage of positive albuminuria was 28% ( $n = 89$ ), and 1% had a history of amputation ( $n = 4$ ) or previous ulceration ( $n = 2$ ).

Mean vitamin B12 levels were  $379 \pm 170$  pg/mL on the first measurement, and  $377 \pm 173$  pg/mL on the second measurement, with a 98% correlation between the two measurements. Vitamin B12 deficiency was observed in 14% of the patients ( $n = 43$ ). Anemia was observed in 39% ( $n = 17$ ) of the patients with vitamin B12 deficiency and in 20% of patients without vitamin B12 deficiency ( $n = 56$ ;  $p = 0.01$ ).

All subjects with vitamin B12 deficiency were using metformin. The risk of vitamin B12 deficiency was significantly higher in the group using metformin doses greater than 1000 mg/day (odds ratio [OR] 2.6, 95% CI 1.3-5.3,  $p = 0.006$ ). Individuals with vitamin B12 deficiency also had a significantly higher frequency of use of sulfonylurea and angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI), with no significant difference in age, use of proton pump inhibitors, H2 antagonists, or calcium supplements (**Table 2**).

**Table 2: Comparison of groups with and without vitamin B12 deficiency**

|                                 | With deficiency  | Without deficiency | <i>p</i>          |
|---------------------------------|------------------|--------------------|-------------------|
| <i>N</i>                        | 43               | 270                |                   |
| Age (years)**                   | 64.2 (10.7)      | 63.7 (9.0)         | 0.720             |
| Sex (F)                         | 77%              | 75%                | 0.920             |
| Duration of T2DM (years)*       | 10 (8-16)        | 10 (5-14)          | 0.170             |
| HbA1c (%)*                      | 6.8 (6.3-7.8)    | 7.1 (6.3-8.1)      | 0.340             |
| Vitamin B12 (pg/mL)*            | 169 (136-200)    | 377 (298-478)      | <b>&lt; 0.001</b> |
| Ferritin (ng/mL)*               | 54 (28-90)       | 81 (42-117)        | <b>0.005</b>      |
| Folic acid (ng/mL)              | 11.4 (7.9-14.0)  | 10.5 (7.9-13.2)    | 0.650             |
| Hemoglobin (g/dL)*              | 12.3 (11.8-13.3) | 12.8 (12.2-13.9)   | <b>0.010</b>      |
| Use of metformin                | 100%             | 89%                | <b>0.040</b>      |
| Duration of use (years)*        | 10.8 (7.9-13.8)  | 9.3 (5.8-12.9)     | 0.102             |
| Dose (mg)*                      | 2550 (1700-2550) | 2000 (1500-2550)   | <b>0.016</b>      |
| Use of doses >1000 mg/day       | 37%              | 22%                | <b>0.009</b>      |
| Use of sulfonylurea             | 44%              | 27%                | <b>0.040</b>      |
| Use of ACEI <sup>@</sup>        | 56%              | 35%                | <b>0.016</b>      |
| Use of PPI <sup>#</sup>         | 19%              | 24%                | 0.510             |
| Use of calcium supplements      | 0                | 6%                 | 0.168             |
| Presence of probable neuropathy | 35%              | 42%                | 0.490             |

\*median (interquartile distance); \*\*mean (standard deviation); <sup>@</sup>Angiotensin-converting enzyme inhibitor; <sup>#</sup>proton pump inhibitor



Multiple regression analyses demonstrated an independent association between vitamin B12 deficiency and metformin at doses greater than 1000 mg/day ( $p = 0.02$ ) and the use of ACEI ( $p = 0.02$ ), but not with the use of sulfonylurea ( $p = 0.05$ ). Moreover, a direct and independent linear association was observed between vitamin B12 levels and ferritin serum concentrations ( $p = 0.002$ ), as well as the metformin dose ( $p = 0.001$ ).

Although metformin users had a higher frequency of vitamin B12 deficiency ( $n = 43$  [15%]) than non-users ( $n = 0$ ;  $p = 0.045$ ), the serum vitamin B12 levels were not significantly lower in metformin users (372 vs. 433 pg/mL;  $p = 0.06$ ). Moreover, we did not observe a higher prevalence of anemia in the group treated with metformin (23%) compared with the group not treated with this medication (23%;  $p = 0.84$ ).

Regarding the presence of peripheral neuropathy, we observed that the Neuropathy Symptom Score was positive in 39% ( $n = 122$ ) of the patients. On physical examination, the neuropathic signs were observed in 71% of the patients ( $n = 223$ ), with changes in vibration sensitivity present in 56% ( $n = 176$ ), in the Achilles reflex in 29% ( $n = 92$ ), and in the monofilament test in only 14% ( $n = 43$ ). The presence of neuropathy was classified as probable in 41% ( $n = 129$ ) of the patients, possible in 30% ( $n = 94$ ), and absent in 29% ( $n = 93$ ). All patients who had altered symptom scores demonstrated some sign of neuropathy on physical examination. On the other hand, 33% ( $n = 43$ ) of the patients who did not have neuropathic complaints had at least one sign of neuropathy on physical examination.

There was no significant association between the presence of vitamin B12 deficiency and the presence of neuropathic signs or symptoms by any of the

detection methods used. In the multiple regression analyses, the presence of probable neuropathy demonstrated an independent association with a history of smoking (OR 6.4, 95% CI 1.3-30.2,  $p = 0.01$ ), age ( $p = 0.02$ ; OR for age > 60 years: 2.4, with 95% CI 1.3-4.5), and duration of T2DM ( $p = 0.02$ , OR for a duration greater than 10 years: 2.6; with 95% CI 1.6-5.1). Furthermore, the presence of probable neuropathy was significantly lower among metformin users (39% vs. 60%;  $p = 0.04$ ).

## DISCUSSION

In this sample of patients with long-standing T2DM and good metabolic control, we observed a 14% prevalence of vitamin B12 deficiency, which occurred exclusively among metformin users. Previous studies have shown a frequency of 10–30% among metformin users and 4–7% among non-users of this medication (5-7, 9).

The association between metformin use and vitamin B12 deficiency has been recently confirmed in two meta-analyses (22-23), one of them involving 8,089 patients, which demonstrated that treatment with metformin is associated with a mean reduction of 66 pmol/L in serum vitamin B12 levels, with a 2.4-fold higher in the risk of deficiency among users of the medication (22).

In the present study, the relationship between the use of metformin and the occurrence of deficiency demonstrated a clear dose-dependence relationship, so that users of doses greater than 1000 mg/day had more than twice the chance of being diagnosed with this deficiency. Other studies have demonstrated an inverse linear association between the dose of metformin and serum concentrations of cobalamin (7, 24-25). In a case-control study, the most important risk factor for vitamin B12 deficiency was the use of high doses of metformin, in which each 1-gram increment in dose conferred a 2-fold increase in the risk of deficiency (24). Although the duration of drug use has also been indicated as a risk factor by some studies (7, 24), no such association was observed in the present sample.

Among the other medications in use, there was an independent association between the use of ACEI and the presence of vitamin B12 deficiency. This association has not been evaluated by any of the studies published so far. This result evidences the difficulty of assigning an independent effect to metformin in samples of patients using a wide variety of medications.

One limitation of the present study was the lack of a food recall because the coexistence of low ferritin in a significant number of patients with cobalamin deficiency suggests a possible association with diet of limited nutritional diversity.

Regarding clinical screening for the presence of peripheral neuropathy, it is worth mentioning the essential character of the neurological tests for the detection of loss of sensitivity, since the clinical complaint was only reported by 39% of the patients, while 71% presented some alteration on physical examination, especially vibration sensitivity, which was the most sensitive test among those used in the study. Similar to other studies (26-27), there was no significant association between vitamin B12 deficiency and the presence of clinical neuropathy.

Although there is a clear association between the use of metformin and vitamin B12 deficiency, this finding has not demonstrated a clinical impact in most of the studies that verified the incidence of the main consequences of this deficiency, namely neuropathy and anemia (26, 28). Several authors have been able to demonstrate a decrease in serum cobalamin levels, but failed to verify changes in other more sensitive markers of this deficiency (9, 25, 29-30). Moreover, two studies have demonstrated that metformin may improve the intracellular metabolism of cobalamin (29-30), and an experiment on animals has shown that metformin increased the hepatic accumulation of this vitamin (31).

## **CONCLUSION**

In conclusion, this study reinforces the direct association between the use of increasing doses of metformin and the presence of vitamin B12 deficiency, raising the possibility of an association of this nutritional deficit with the use of ACEI, and departing from the hypothesis that the presence of vitamin B12 deficiency is associated with a significantly high frequency of clinically detectable neuropathy in individuals with T2DM. Further studies are needed to provide a better understanding of the effects of metformin on vitamin B12 metabolism, as well as to ascertain the clinical significance of this finding, thereby determining whether screening and subsequent treatment are cost-effective for all patients using metformin.

## REFERENCES

1. Mazokopakis EE, Starakis IK. Recommendations for diagnosis and management of metformin-induced vitamin B12 (Cbl) deficiency. *Diabetes Res Clin Pract* 2012; 97: 359-67.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes: 2013. *Diabetes Care* 2013; 36: S11-66.
3. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Ferrannini E, Holman RR, Sherwin R, Zinman B; American Diabetes Association; European Association for Study of Diabetes. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32: 193-203.
4. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Heine RJ, Holman RR, Sherwin R, Zinman B; Professional Practice Committee, American Diabetes Association; European Association for the Study of Diabetes. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia* 2006; 49: 1711-21.
5. Tomkin GH, Hadden DR, Weaver JA, Montgomery DA. Vitamin-B12 status of patients on long-term metformin therapy. *Br Med J*. 1971;2: 685-7.
6. Pflipsen MC, Oh RC, Saguil A, Seehusen DA, Seaquist D, Topolski R. The prevalence of vitamin B(12) deficiency in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study. *J Am Board Fam Med*. 2009;22(5):528-34.

7. Ko SH, Ahn YB, Song KH, Han KD, Park YM, Kim HS. Association of vitamin B12 deficiency and metformin use in patients with type 2 diabetes. *J Korean Med Sci.* 2014;29(7):965-72.
8. Niafar M, Hai F, Porhomayon J, Nader ND. The role of metformin on vitamin B12 deficiency: a meta-analysis review. *Intern Emerg Med.* 2015;10(1):93-102.
9. De Jager J, Kooy A, Lehert P, Wulffelé MG, van der Kolk J, Bets D, Verburg J, Donker AJ, Stehouwer CD. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 2010; 340: c2181.
10. Pruthi RK, Tefferi A. Pernicious anemia revisited. *Mayo Clin Proc.* 1994;69(2):144-50.
11. Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Metabolic abnormalities in cobalamin (vitamin B12) and folate deficiency. *FASEB J.* 1993;7(14):1344-53.
12. Green R, Kinsella LJ. Current concepts in the diagnosis of cobalamin deficiency. *Neurology.* 1995;45(8):1435-40.
13. Hemmer B, Glocker FX, Schumacher M, Deuschl G, Lücking CH. Subacute combined degeneration: clinical, electrophysiological, and magnetic resonance imaging findings. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998;65(6):822-7.
14. Dyck PJ, Kratz KM, Karnes JL, Litchy WJ, Klein R, Pach JM, et al. The prevalence by staged severity of various types of diabetic neuropathy, retinopathy, and nephropathy in a population-based cohort: the Rochester Diabetic Neuropathy Study. *Neurology.* 1993;43(4):817-24.

15. Dyck PJ, Litchy WJ, Lehman KA, Hokanson JL, Low PA, O'Brien PC. Variables influencing neuropathic endpoints: the Rochester Diabetic Neuropathy Study of Healthy Subjects. *Neurology*. 1995;45(6):1115-21.
16. Edwards JL, Vincent AM, Cheng HT, Feldman EL. Diabetic neuropathy: mechanisms to management. *Pharmacol Ther*. 2008;120(1):1-34.
17. Bell DS. Nondiabetic neuropathy in a patient with diabetes. *Endocr Pract* 1995;1:393– 4.
18. Young MJ, Boulton AJ, MacLeod AF, Williams DR, Sonksen PH. A multicentre study of the prevalence of diabetic peripheral neuropathy in the United Kingdom hospital clinic population. *Diabetologia*. 1993;36(2):150-4.
19. Moreira RO, Castro AP, Papelbaum M, Appolinário JC, Ellinger VCM, Coutinho WF, Zagury L. Tradução para o português e avaliação da confiabilidade de uma escala para diagnóstico da polineuropatia distal diabética. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2005;49:944-50.
20. Bakker K, Apelqvist J, Schaper NC, Board IWGoDFE. Practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot 2011. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012;28 Suppl 1:225-31.
21. Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*. 2010;33(10):2285-93.
22. Niafar M, Hai F, Porhomayon J, Nader ND. The role of metformin on vitamin B12 deficiency: a meta-analysis review. *Intern Emerg Med*. 2015;10(1):93-102.
23. Chapman LE, Darling AL, Brown JE. Association between metformin and vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab*. 2016.



24. Ting RZ, Szeto CC, Chan MH, Ma KK, Chow KM. Risk factors of vitamin B(12) deficiency in patients receiving metformin. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1975-9.
25. Beulens JW, Hart HE, Kuijs R, Kooijman-Buiting AM, Rutten GE. Influence of duration and dose of metformin on cobalamin deficiency in type 2 diabetes patients using metformin. *Acta Diabetol.* 2015;52(1):47-53.
26. de Groot-Kamphuis DM, van Dijk PR, Groenier KH, Houweling ST, Bilo HJ, Kleefstra N. Vitamin B12 deficiency and the lack of its consequences in type 2 diabetes patients using metformin. *Neth J Med.* 2013;71(7):386-90.
27. Dunstan DF, Rees JA, Chen S, Lansdown JA, Moat SJ, Ellis R, et al. An observational study of the effect of metformin on B12 status and peripheral neuropathy. *Br J Diabetes Vascular Dis* 2012;12:189-93.
28. Chen S, Lansdown AJ, Moat SJ, Ellis R, Goringe A, Dunstan FD, et al. An observational study of the effect of metformin on B12 status and peripheral neuropathy. *Br J Diabetes Vasc Dis* 2012;12:189–93.
29. Obeid R, Jung J, Falk J, Herrmann W, Geisel J, Friesenhahn-Ochs B, et al. Serum vitamin B12 not reflecting vitamin B12 status in patients with type 2 diabetes. *Biochimie.* 2013;95(5):1056-61.
30. Greibe E, Trolle B, Bor MV, Lauszus FF, Nexø E. Metformin lowers serum cobalamin without changing other markers of cobalamin status: a study on women with polycystic ovary syndrome. *Nutrients.* 2013;5(7):2475-82.
31. Greibe E, Miller JW, Foutouhi SH, Green R, Nexø E. Metformin increases liver accumulation of vitamin B12 - an experimental study in rats. *Biochimie.* 2013;95(5):1062-5.

## ANEXO 1

### Protocolo de pesquisa clinica

Análise de fatores de risco para a deficiência de vitamina B12 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 usando metformina

#### Informações gerais

**DATA DA ENTREVISTA E EXAME FÍSICO:** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1. Paciente número: \_\_\_\_\_
2. Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_
3. Sexo: Feminino  Masculino
4. Ano de diagnóstico do diabetes: \_\_\_\_\_
5. Cor: \_\_\_\_\_
6. Tabagismo: Sim  Não
- 6.1. Carga Tabágica: \_\_\_\_\_
7. Etilismo: Sim  Não
- 7.1. Quantidade Diária e Frequência Semanal: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
8. Vegetariano: Sim  Não

#### Uso da metformina

9. Dose diária utilizada em miligramas: \_\_\_\_\_
10. Tempo de uso total da medicação: \_\_\_\_\_
11. Tempo de uso da dose atual: \_\_\_\_\_
12. Apresentação: XR  liberação rápida
13. Presença de efeitos colaterais gastrintestinais:  sim  não

a) Se sim quais?

---

---

### Uso de outras medicações concomitantes

14. Outros antihiperlipemiantes orais: Sim  Não

a) Sulfoniluréia: Sim  Não

i. Qual medicação é usada? \_\_\_\_\_

ii. Dose diária utilizada: \_\_\_\_\_

iii. Tempo de uso ininterrupto: \_\_\_\_\_

b) Outros: Sim  Não

i. Qual medicação é usada? \_\_\_\_\_

ii. Dose diária utilizada: \_\_\_\_\_

iii. Tempo de uso ininterrupto: \_\_\_\_\_

15. Uso de insulina: Sim  Não

a) Tipo de insulina: \_\_\_\_\_

b) Dose diária em unidades: \_\_\_\_\_

c) Tempo de uso ininterrupto: \_\_\_\_\_

16. Uso de inibidores de bomba de prótons: Sim  Não

a) Qual medicação é usada? \_\_\_\_\_

b) Dose diária utilizada: \_\_\_\_\_

c) Tempo de uso ininterrupto: \_\_\_\_\_

17. Uso de inibidores H2: Sim  Não

a) Qual medicação é usada? \_\_\_\_\_

b) Dose diária utilizada: \_\_\_\_\_

b) Tempo de uso ininterrupto: \_\_\_\_\_

18. Uso de suplementos contendo cálcio: Sim  Não

a) Qual a forma utilizada?: \_\_\_\_\_

b) Dose diária utilizada: \_\_\_\_\_

c) Tempo de uso ininterrupto: \_\_\_\_\_

19. Uso de polivitamínicos: Sim  Não

a) Nome do suplemento utilizado: \_\_\_\_\_

b) Tempo de uso: \_\_\_\_\_

20. Uso prévio de vitamina B12: Sim  Não

a) Quando: \_\_\_\_\_

b) Dose: \_\_\_\_\_

21. Outras medicações utilizadas: Sim  Não

a) Qual (s) medicações?

---

---

---

---

---

---

### **Complicação do diabetes**

22. Nefropatia: Sim  Não

23. História de úlceras neuropáticas? Sim  Não

24. História de amputações? Sim  Não

25. Sintomas de claudicação: Sim  Não

### Outras comorbidades

26. HAS: Sim  Não

a) Medicções utilizadas para o controle: \_\_\_\_\_

27. Doença hepática? Sim  Não

a) Tipo de lesão hepática: \_\_\_\_\_

28. Neoplasias hematológicas? Sim  Não

a) Tipo de neoplasia: \_\_\_\_\_

b) Situação de controle da doença: \_\_\_\_\_

c) Medicções utilizadas: \_\_\_\_\_

29. Síndromes Má absorptivas? Sim  Não

b) Qual: \_\_\_\_\_

30. História de gastrectomia, cirurgia ileal ou cirurgia bariátrica?

Sim  Não

31. História de neuropatia por outras etiologias?

Sim  Não

### 32. Escore de Sintomas Neuropáticos (ESN)

1. O senhor (a) tem experimentado dor ou desconforto nas pernas?  Se NÃO, interromper a avaliação

Se SIM, continuar a avaliação

2. Que tipo de sensação mais te incomoda?  
(Descrever os sintomas se o paciente não citar)

Queimação, dormência ou formigamento 02 pts

Fadiga, câimbras ou prurido 01 pt

3. Qual a localização mais frequente  Pés

02 pts

desse (a) (sintoma descrito)?

Panturrilha 01 pt

Outra localização 0 pt

4. Existe alguma hora do dia em que este (a) (sintoma descrito) aumenta de intensidade?

Durante a noite 02 pts

Durante o dia e a noite 01 pt

Apenas durante o dia 0 pt

5. Este (a) (sintoma descrito) já o(a) acordou durante a noite?

Sim 01 pt

Não 0 pt

6. Alguma manobra que o (a) senhor(a) o realiza é capaz de diminuir este(a) (sintoma descrito)? (Descrever as manobras para o paciente se ele não citar nenhuma delas)

Andar 02 pts

Ficar de pé 01 pt

Sentar ou deitar 0 pt

Escore Total: \_\_\_\_\_ Classificação: Leve / Moderado / Grave. Um escore de 3–4 implica em sintomas leves, 5–6 sintomas moderados e 7–9 sintomas graves.

### Exame físico

33. Peso (Kg): \_\_\_\_\_ 34. Altura (m): \_\_\_\_\_ 35. IMC (Kg/m<sup>2</sup>): \_\_\_\_\_

36. PA sistólica (mm Hg): \_\_\_\_\_ PA diastólica (mm Hg): \_\_\_\_\_

37. Exame dos pés:

a) Inspeção:

Ressecamento  Micose interdigital  Distrofia ungueal

Calosidade  Fissuras  Úlceras

Deformidades articulares  Rarefação de pelos

Alt. de coloração  Limitação da mobilidade articular

## Outros

## Observações

## a) Palpação de pulsos:

|          | Direito                            |                                       |                                     | Esquerdo                           |                                       |                                     |
|----------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Pedioso  | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente |
| Tibial   | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente |
| Poplíteo | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente |

## b) Teste dos reflexos Aquileus:

| Direito                            |                                       |                                     | Esquerdo                           |                                       |                                     |
|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Diminuído | <input type="checkbox"/><br>Ausente |

## c) Teste para avaliação de sensibilidade vibratória usando diapásio de 128 hz:

| Direito                            |                                      | Esquerdo                           |                                      |
|------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Alterado | <input type="checkbox"/><br>Normal | <input type="checkbox"/><br>Alterado |

## d) Teste com monofilamento de 10 g:

- i. Resultado normal: Sim  Não
- ii. Alteração de sensibilidade em algum ponto? : Sim  Não

iii. Quantos pontos? \_\_\_\_\_



e) Pinprick

| Direito                  |                          | Esquerdo                 |                          |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Normal                   | Alterado                 | Normal                   | Alterado                 |

### Exames laboratoriais

DATA: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

38. Hemoglobina glicada plasmática fração A1c (%): \_\_\_\_\_

39. Colesterol total (mg/dl): \_\_\_\_\_ HDL(mg/dl): \_\_\_\_\_

LDL(mg/dl): \_\_\_\_\_ VLDL(mg/dl): \_\_\_\_\_

40. Triglicérides (mg/dl): \_\_\_\_\_

41. Creatinina (mg/dl): \_\_\_\_\_

42. Estimativa da taxa de filtração glomerular (mL/min/1,73 m<sup>2</sup>): \_\_\_\_\_

43. TGO (U/L): \_\_\_\_\_

44. TGP (U/L): \_\_\_\_\_

45. TSH (mUI/ml): \_\_\_\_\_



46. T4 livre (ng/dl): \_\_\_\_\_

47. Vitamina B12 (pg/ml): \_\_\_\_\_

48. Ácido fólico (ng/ml): \_\_\_\_\_

49. Hemograma: \_\_\_\_\_

a) Hemoglobina (g/dl): \_\_\_\_\_

b) Hematócrito (mL eritrocitos/dL): \_\_\_\_\_

c) VCM (fL): \_\_\_\_\_

d) Contagem de plaquetas (quantidade / mm<sup>3</sup>): \_\_\_\_\_

e) Contagem de leucócitos (quantidade / mm<sup>3</sup>): \_\_\_\_\_

f) Presença de neutrófilos hipersegmentados: \_\_\_\_\_

50. Ferro sérico (g/dl): \_\_\_\_\_

51. Ferritina (microg/L): \_\_\_\_\_

## ANEXO 2

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Título do projeto: “*Análise de fatores de risco para a deficiência de vitamina B12 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 usando metformina*”

Responsável pela pesquisa: Fabiana Lima Marques.

Coordenação/orientação: Profa. Dra. Everlayny Fiorot Costalonga  
Universidade Vila Velha

Este documento que você está lendo é chamado de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Ele contém explicações sobre o estudo que você está sendo convidado a participar. Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo. Antes de assinar faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo). Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.

O principal objetivo dessa pesquisa é a avaliação de fatores de risco para a deficiência da vitamina B12 entre indivíduos diabéticos tipo 2 em uso de metformina. A metformina é a medicação oral mais amplamente usada no tratamento de pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2. Várias pesquisas têm demonstrado que cerca de 10 a 30 % das pessoas que usam metformina desenvolvem deficiência da vitamina B12 o que pode gerar anemia e sintomas neurológicos.

Para a realização deste estudo, será necessária a realização de uma entrevista, com duração prevista de 15 minutos, quando serão colhidas informações sobre sua história pessoal, história do diabetes e medicações utilizadas. Após a entrevista será realizado exame físico, com duração prevista de 15 minutos, que constará de avaliação de peso, altura, pressão arterial e exame dos pés para avaliação da presença de neuropatia, que é uma complicação do diabetes por lesão dos nervos periféricos, que pode ser piorada pela deficiência da vitamina B12. Esse exame consiste de testes de sensibilidade, idealmente realizados como rotina nas consultas

ambulatoriais de pacientes diabéticos, que são indolores, não gerando, portanto, desconforto significativo ou riscos.

Será necessária a coleta de 5 ml de sangue periférico para dosagens da vitamina B12 e hemograma, sendo que essas dosagens serão realizadas em conjunto com os exames laboratoriais para avaliação do controle glicêmico, não necessitando, portanto, de ida adicional ao laboratório.

Existem riscos de causar equimose ou hematoma na hora da punção venosa, entretanto o procedimento será realizado com a utilização de técnica apropriada por profissional treinado, de forma a minimizar substancialmente esse risco. Caso esse procedimento possa gerar algum tipo de constrangimento, você não precisa realizá-lo.

Os pacientes com diagnóstico de deficiência de vitamina B12 e neuropatia diabética terão acesso ao tratamento, a ser realizado no mesmo ambulatório em que fazem acompanhamento do diabetes.

O principal benefício que essa pesquisa pode trazer é o conhecimento da quantidade de pessoas em uso de metformina que apresentam deficiência da vitamina B12 para que possamos tratar e orientar medidas para prevenir os danos à saúde que podem ocorrer caso essa desordem não seja tratada. Além disso, com o objetivo de prevenir a ocorrência de úlceras neuropáticas, que representa a maior causa de amputações em todo o mundo, durante o exame físico dos pés serão realizados testes para o rastreamento de neuropatia diabética, possibilitando identificação de pacientes em risco de ulceração. Ao final da consulta, todos os pacientes receberão informações para prevenção de ulceração, incluindo instruções de autoexame diário dos pés, escolha de sapatos adequados, dentre outras orientações conforme o caso.

Todas as informações obtidas serão sigilosas. O material com as suas informações (gravações, entrevistas, entre outras) ficará guardado em local seguro sob a responsabilidade da Dra. Fabiana Lima Marques com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade e que será destruído após a pesquisa. A divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários. Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas, entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome,

instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos, você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo. Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito a indenização.

Você ficará com uma cópia deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para a Dra. Fabiana Lima Marques que pode ser encontrada no endereço: Unidade de Saúde Bom Pastor, situado à Rua Padre José Carlos, S/N, Campo Grande, Cariacica, ES, tel: 3346-6558.

Dúvidas sobre a pesquisa envolvendo princípios éticos poderão ser questionadas ao **Comitê de Ética em Pesquisa da UVV** localizado na Rua Comissário José Dantas de Melo, nº 21, Boa Vista, Vila Velha-ES, CEP: 29.102-770, Tel: (27) 3421-2085, E-mail: [cep.uvv@gmail.com](mailto:cep.uvv@gmail.com). Horário de funcionamento: 2ª a 6ª feira –13:30 às 18:30h. Secretária: Andréa Sarmento. Reclamações e/ou insatisfações relacionadas à participação do paciente na pesquisa poderão ser comunicadas por escrito à Secretaria do CEP/UVV, desde que os reclamantes se identifiquem, sendo que o seu nome será mantido em anonimato.

#### Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que fui devidamente informado e esclarecido pela Dra. Fabiana Lima Marques sobre a pesquisa: **Análise de fatores de risco para a deficiência de vitamina B12 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 usando metformina**, dos procedimentos nela envolvidos, assim como dos possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isso me traga prejuízo ou penalidade.

---

Assinatura do paciente/representante legal

Nome do participante (Paciente ou Responsável):

CPF do participante (Paciente ou Responsável):

---

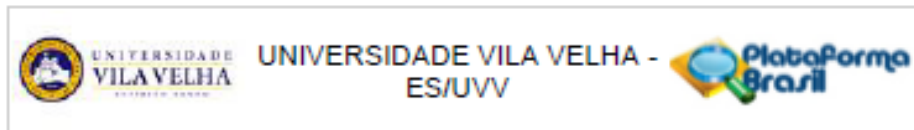
Assinatura do pesquisador responsável

Fabiana Lima Marques

CPF: 078.516.387-55

## ANEXO 3

## Aprovação do comitê de ética em pesquisa



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Análise de fatores de risco para a deficiência de vitamina B12 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 usando metformina

**Pesquisador:** Fabiana Lima Marques

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 48967915.4.0000.5064

**Instituição Proponente:** SOC EDUC DO ESP SANTO UNIDADE DE V VELHA ENSINO SUPERIO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.328.545

## Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de análise de fatores de risco para a deficiência de vitamina B12 em pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2 usando metformina. Apresenta revisão de literatura e dados sobre o problema a ser investigado.

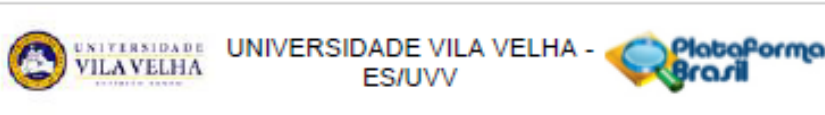
## Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos primários do estudo incluem a verificação da deficiência de vitamina B12 em portadores de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) em uso de MTF, verificando a influência de variáveis tais como idade, dose e tempo de uso, ou uso de outras medicações. Como objetivos secundários apresenta:- Verificar se a prevalência de deficiência de vitamina B12 nessa amostra de pacientes diabéticos é maior nos usuários de metformina em relação aos que não usam essa medicação. Em uma amostra de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, realizar rastreamento clínico para neuropatia periférica, verificando a associação do rastreamento positivo com a presença de deficiência de vitamina B12;- Avaliar a prevalência de alterações hematológicas nos pacientes diagnosticados com deficiência da vitamina B12.

## Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco mínimo, desconforto leve. O exame físico ao qual os pacientes serão submetidos será

Endereço: Avenida Comissário José Dantas de Melo, 21  
 Bairro: BOA VISTA II CEP: 29.102-920  
 UF: ES Município: VILA VELHA  
 Telefone: (27)3421-2137 Fax: (27)3421-2137 E-mail: cep.uvv@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.328.545

Indolor e não invasivo, não gerando, portanto, desconforto significativo ou riscos aos sujeitos do estudo. A coleta dos exames laboratoriais será realizada em conjunto com os exames para a avaliação de controle glicêmico, geralmente realizados a cada 4 meses em pacientes diabéticos que se encontram na meta de controle glicêmico, não necessitando, portanto, de deslocamento adicional ao laboratório.

**Benefícios:** Os indivíduos envolvidos na pesquisa serão beneficiados pelo diagnóstico da deficiência de vitamina B12, cujo tratamento precoce pode levar à prevenção ou correção de quadros hematológicos e neurológicos relacionados com essa condição. Além disso, com o objetivo de prevenir a ocorrência de úlceras neuropáticas, que representa a maior causa de amputações em todo o mundo, durante o exame físico dos pés serão realizados testes para o rastreamento de neuropatia diabética, possibilitando identificação de pacientes em risco de ulceração. Ao final da consulta todos pacientes receberão informações para prevenção de ulceração, incluindo instruções de autoexame diário dos pés, escolha de sapatos adequados, dentre outras orientações conforme o caso.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto está bem escrito e trata de tema importante para a saúde. Não apresenta riscos maiores para os pacientes.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O TCLE contém informações sobre os possíveis riscos e benefícios e ao final da consulta, todos pacientes receberão informações para prevenção de ulceração, incluindo instruções de autoexame diário dos pés, escolha de sapatos adequados, dentre outras orientações conforme o caso.

Apresenta também folha de rosto.

**Recomendações:**

Não há recomendações a serem feitas.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

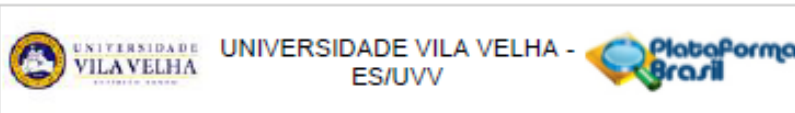
Não há pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O colegiado acata o parecer do relator, liberando a pesquisa para seu início, lembrando ao pesquisador que ao final da pesquisa, deverá encaminhar relatório final para a Plataforma Brasil.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Endereço: Avenida Comendador José Dantas de Melo, 21  
 Bairro: BOA VISTA II CEP: 29.102-920  
 UF: ES Município: VILA VELHA  
 Telefone: (27)3421-2137 Fax: (27)3421-2137 E-mail: cep.uvv@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.328.545

| Tipo Documento  | Arquivo                                      | Postagem               | Autor                | Situação |
|---|--|------------------------|----------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto                            | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_576392.pdf | 07/10/2015<br>23:44:42 |                      | Aceito   |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador                 | PROJETO.doc                                  | 07/10/2015<br>23:43:57 | Fabiana Lima Marques | Aceito   |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE.doc                                     | 07/10/2015<br>23:42:06 | Fabiana Lima Marques | Aceito   |
| Folha de Rosto  | Doc1.pdf                                     | 30/08/2015<br>20:39:15 | Fabiana Lima Marques | Aceito   |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VILA VELHA, 16 de Novembro de 2015

Assinado por:  
Valéria Rosseto Lemos  
(Coordenador)

Endereço: Avenida Comissário José Dentas de Melo, 21  
Bairro: BOA VISTA II CEP: 29.102-920  
UF: ES Município: VILA VELHA  
Telefone: (27)3421-2137 Fax: (27)3421-2137 E-mail: cep.uvv@gmail.com



## ANEXO 4

### Normas técnicas para publicação na revista “*Archives of Endocrinology and Metabolism*”

ABEM

#### INSTRUÇÕES PARA AUTORES

Informações gerais

Estas instruções devem ser seguidas cuidadosamente a fim de se evitar atrasos no processamento do seu manuscrito.

Os manuscritos devem ser submetidos para a publicação apenas nos AE&M, e não podem ter sido publicados ou estar em análise para publicação de forma substancial em nenhum outro periódico, profissional ou leigo.

Os manuscritos devem ser submetidos em inglês. Recomenda-se que eles sejam profissionalmente revistos por um serviço de editoração científica, e para este serviço, sugerimos as seguintes empresas: **Voxmed Medical Communications**, **American Journal Experts** ou **PaperCheck**. Os manuscritos que forem aprovados no processo de revisão por pares e forem recomendados para publicação, serão aceitos e publicados apenas depois do envio do certificado de revisão profissional da língua inglesa. Em circunstâncias extraordinárias, o Conselho Editorial pode abrir mão da apresentação deste certificado.

Todas as submissões são avaliadas em profundidade pelos editores científicos. Os artigos que não estiverem em conformidade com os critérios gerais para publicação serão devolvidos aos autores sem uma revisão detalhada, normalmente em três a cinco dias. Os manuscritos que estiverem em conformidade serão enviados aos revisores (geralmente dois).

#### Categorias de artigos

Os relatos originais de pesquisa podem ser submetidos aos AE&M como Artigos Originais ou Comunicações Breves. As outras categorias de artigos estão descritas abaixo. Todos os manuscritos devem obedecer ao número máximo de palavras determinado para o texto principal de acordo com as definições abaixo; o número de palavras não inclui o resumo, as referências e as figuras/tabelas e suas legendas. O número de palavras deve ser apresentado na página de título, junto com o número de figuras e tabelas. O formato é semelhante para todas as categorias de manuscritos e está descrito em detalhes na seção "Preparação dos manuscritos".

#### Artigos originais

O Artigo Original é um relato científico dos resultados de pesquisas originais que não foram publicadas ou enviadas para publicação em outros periódicos (impresso ou eletrônico). O Artigo Original representa um trabalho clínico ou laboratorial substancial. Em geral, Artigos Originais não devem exceder 3600 palavras no texto principal, e não devem ter mais de seis figuras ou tabelas e mais de 35 referências.

#### Artigos de revisão

Os AE&M publicam Artigos de Revisão que mostrem uma visão equilibrada de assuntos correntes no campo da endocrinologia clínica. Todas as revisões são feitas mediante convite e passam por revisão por pares. Os artigos desta categoria são requisitados pelos editores a autores que tenham experiência comprovada no campo. Autores que queiram submeter revisões não

requisitadas devem entrar em contato com os editores com antecedência para determinar se o tópico proposto é de interesse corrente e potencial para este periódico.

Os artigos de revisão não devem ter mais do que 4000 palavras no texto principal, mais de quatro figuras e tabelas e mais de 60 referências. O autor deve mencionar a fonte e/ou pedir autorização para o uso de figuras ou tabelas que já tenham sido publicadas.

#### Declarações de Consenso

As Declarações de Consenso relacionadas a padrões e práticas de saúde endocrinológica e metabólica devem ser enviadas por sociedades profissionais, forças-tarefas e outros consórcios. Estas declarações serão submetidas à revisão por pares, devem ser passíveis de modificação em resposta a críticas e serão publicadas apenas se estiverem de acordo com os padrões editoriais deste periódico. As Declarações de Consenso devem tipicamente conter até 3600 palavras no texto principal, devem incluir não mais de seis figuras e tabelas e não mais de 60 referências.

#### Comunicação Breve

A Comunicação Breve consiste de dados novos de importância suficiente para serem imediatamente publicados. A Comunicação Breve é uma descrição sucinta de um estudo objetivo com resultados importantes e claros que sejam confirmatórios ou negativos. A brevidade e a clareza aumentam a chance de aceitação deste tipo de manuscrito. A Comunicação Breve deve ter no máximo 1500 palavras no texto principal e até 20 referências, com não mais de duas ilustrações (tabelas ou figuras, ou uma de cada).

#### Relato de caso

Um Relato de Caso é uma comunicação breve que apresenta um ou vários casos de significância clínica ou científica. Estes relatos devem ser concisos e objetivos, e devem ter como foco a questão a ser discutida. Eles devem abordar a observação de pacientes ou famílias, trazendo conhecimento substancial sobre a etiologia, patogênese e delineamento da história natural ou manejo da condição descrita. Os Relatos de Caso devem ter 2000 palavras ou menos, com não mais de quatro figuras e tabelas e não mais de 30 referências.

Ressaltamos que somente serão considerados para publicação relatos de casos que tragam uma grande contribuição básica translacional ou clínica, de preferência acompanhados de revisão literatura.

#### Cartas ao Editor

As Cartas ao Editor podem ser submetidas em resposta a artigos que foram publicados no periódico. As Cartas devem ser comentários curtos relacionados a pontos específicos de concordância ou discordância com os artigos publicados. As Cartas não devem ser usadas para apresentação de dados originais que não tenham relação com o artigo publicado. As Cartas não devem ter mais de 500 palavras e cinco referências completas. Elas também não devem incluir figuras ou tabelas.

#### Preparação do manuscrito

##### Formato Geral.

Todos os manuscritos devem ser apresentados com o texto em uma única coluna, de acordo com as diretrizes abaixo:

O manuscrito deve estar em formato de MS-Word.

Todo o texto deve ser apresentado em espaço duplo com margens de 2 cm em ambos os lados e fonte Times Roman ou Arial tamanho 11.

Todas as linhas devem ser numeradas ao longo de todo o manuscrito e o documento inteiro deve ter suas páginas numeradas.

Todas as tabelas e figuras devem ter título e devem ser colocadas depois do texto.

Os artigos devem estar completos, incluindo uma página de título, resumo, figuras e tabelas.

Os artigos que não tenham todo estes componentes serão colocados em espera até que o manuscrito seja completado.

Todas as submissões devem incluir:

Uma carta de apresentação requerendo a avaliação do manuscrito para publicação nos AE&M e quaisquer outras informações relevantes sobre o artigo.

Em outro ponto do formulário de submissão, os autores podem sugerir até três revisores específicos e/ou querer a exclusão de até três outros.

O manuscrito deve ser apresentado na seguinte ordem:

1. Página de título
2. Resumo estruturado (ou sumário, para os relatos de caso)
3. Texto principal
4. Tabelas e Figuras, citadas no texto principal em ordem numérica
5. Agradecimentos
6. Declaração sobre financiamento, conflito de interesses ou quaisquer bolsas relacionadas com o artigo
7. Lista de referências

Página de título

A página de título deve conter as seguintes informações:

1. Título do artigo (declaração concisa do conteúdo principal do artigo).
2. Nomes completos de todos os coautores, com seus departamentos, instituições, cidade e país.
3. Nome completo, endereço de correspondência, e-mail, telefone e fax do autor para correspondência.
4. Título abreviado com não mais de 40 caracteres para os cabeçalhos das páginas.
5. Até cinco palavras-chave ou frases adequadas para o uso em um índice. (recomendamos o uso de termos MeSH).
6. Número de palavras - excluindo a página de título, o resumo, as referências e as figuras/tabelas e suas legendas.
7. Tipo de artigo.

Resumos estruturados

Todos os Artigos Originais, Comunicações Breves, Revisões e Relatos de Caso devem ser enviados com resumos estruturados de não mais que 250 palavras. O resumo deve ser independente

e claro sem necessidade de referência ao texto, e deve ser escrito para o típico leitor do periódico. O resumo deve incluir quatro seções que mostrem as divisões do texto principal. Todas as informações que estejam no resumo devem aparecer no manuscrito. Devem ser usadas frases completas em todas as seções o resumo.

#### Introdução

O artigo deve começar com uma breve introdução que coloque o estudo em perspectiva histórica e que explique seu objetivo e sua importância.

#### Materiais e Métodos

Os Materiais e Métodos devem ser descritos e referenciados em detalhe suficiente para que outros pesquisadores possam repetir o estudo. Devem ser apresentados os fornecedores de hormônios, produtos químicos, reagentes e equipamentos. Para métodos modificados, apenas as modificações devem ser descritas.

#### Resultados e Discussão

A seção Resultados deve apresentar, de forma breve, os dados experimentais em texto, tabelas e /ou figuras. Veja abaixo os detalhes sobre a preparação de tabelas e figuras.

A Discussão deve ter como foco a interpretação e significância dos achados, com comentários objetivos e concisos que descrevam a relação destes achados com outros estudos na área. A Discussão não deve repetir os Resultados.

#### Autoria

Os AE&M seguem as diretrizes de autoria e contribuição definidas pelo International Committee of Medical Journal Editors ([www.ICMJE.org](http://www.ICMJE.org)). Permite-se a autoria conjunta irrestrita e um máximo de dois autores para correspondência.

Os requerimentos uniformes para manuscritos submetidos a periódicos médicos declara que o crédito pelo autoria deve se basear apenas em contribuições substanciais:

1. à concepção e desenho ou a análise e interpretação dos dados.
2. à composição do artigo ou sua revisão crítica com relação ao conteúdo intelectual relevante.
3. à aprovação final da versão a ser publicada.

Todas estas condições devem ser respeitadas. O autor para correspondência é responsável por garantir que todos aqueles que contribuíram adequadamente sejam listados como autores, e que todos os autores tenham concordado com o conteúdo do manuscrito e sua submissão aos AE&M.

#### Conflitos de interesse

Deve ser incluída, no documento principal, uma declaração de conflito de interesse para todos os autores, colocada logo após o texto, na seção Agradecimentos. Se os autores não tiverem conflitos de interesse relevantes a serem declarados, isto também deve ser indicado na seção Agradecimentos.

#### Agradecimentos

A seção de agradecimentos deve incluir os nomes de todas as pessoas que contribuíram para o estudo mas não atenderam aos requerimentos necessários para a autoria. O autor para correspondência é responsável por informar a cada pessoa listada na seção de agradecimentos que ela foi incluída. Ele(a) também é responsável por fornecer a elas uma descrição da contribuição, de forma que estas pessoas saibam a atividade pela qual foram consideradas responsáveis. Cada pessoa listada nos agradecimentos deve dar permissão - por escrito, se possível - para o uso do seu nome. Estas informações são de responsabilidade do autor para correspondência.

### Referências

As referências à literatura devem ser citadas em ordem numérica (entre parênteses) no texto, e devem ser listadas na mesma ordem numérica ao final do manuscrito, em uma ou mais páginas separadas. O autor é responsável pela exatidão das referências. O número de referências a serem citadas é limitado para cada categoria de artigo e está indicado acima.

### Tabelas

As tabelas devem ser enviadas no mesmo formato do artigo (Word) e não em outro formato. Nota: não podemos aceitar tabelas em Excel no manuscrito. As tabelas devem ser autoexplicativas e os dados que contêm não devem ser duplicados no texto ou nas figuras. As tabelas devem ser construídas da forma mais simples possível e devem ser compreensíveis sem referência ao texto. Cada tabela deve ter um título conciso. Pode-se apresentar uma descrição das condições experimentais junto com as notas no rodapé da tabela. As tabelas não podem simplesmente duplicar o texto ou as figuras.

### Figuras e legendas

Todas as figuras devem ser numeradas. Tamanho da figura: O autor é responsável por fornecer imagens de tamanho adequado e cortadas corretamente, e com espaço adequado entre elas. Figuras coloridas serão reproduzidas em cores na edição online sem custo adicional. Os autores devem pagar a reprodução de figuras coloridas na edição impressa (o editor vai fornecer o orçamento no momento do aceite do manuscrito).

### Fotografias

Os AE&M prefere publicar fotos de pacientes sem máscara. Recomendamos a todos os autores interessados que trabalhem com as famílias antes da submissão e abordem o assunto da permissão para revisão e possível publicação de imagens de pacientes. Se seu artigo contém QUALQUER imagem identificável de paciente ou outra informação de saúde confidencial, É OBRIGATÓRIA a permissão do paciente (ou do seu responsável ou representante legal) por escrito antes que o material específico circule entre os editores, revisores e funcionários para a possível publicação nos AE&M. Se for necessário identificar algum paciente, recomenda-se o uso de números (por exemplo, Paciente 1), ao invés de qualquer outro tipo de indicação, como iniciais.

### Unidades de medida

Os resultados devem ser expressos em unidades métricas. A temperatura deve ser expressa em graus Celsius e o horário, em relógio de 24 horas (por exemplo, 08:00h, 15:00 h).

### Padronização das abreviaturas

Todas as abreviaturas devem ser imediatamente definidas depois de apresentadas pela primeira vez no texto.

### Sujeitos de pesquisa experimental

Para serem consideradas para publicação, todas as investigações clínicas descritas nos manuscritos devem ser conduzidas de acordo com as diretrizes da Declaração de Helsinki, e devem ter sido formalmente aprovadas pelo comitê institucional de revisão ou seu equivalente.

A população estudada deve ser descrita em detalhes.

Os sujeitos devem ser identificados apenas com números ou letras, não por iniciais ou nomes. As fotografias dos rostos de pacientes devem ser incluídas apenas se forem significativas em termos científicos. Para o uso de fotografias, os autores devem apresentar o consentimento dos pacientes por escrito. Para mais detalhes, veja as Diretrizes Éticas.

Os sujeitos de pesquisa devem ser informados sobre os potenciais conflitos de interesse relacionados ao estudo e a descrição de que isso foi feito deve estar apresentada no manuscrito.

### Experimentos com animais

Deve ser incluída no manuscrito uma declaração confirmando que todos os experimentos com animais descritos foram conduzidos de acordo com os padrões aceitos de bem-estar animal, como descritos nas Diretrizes Éticas.

### Descrições em genética molecular

Use a terminologia padrão para variantes, apresentando os números rs para todas as variantes relatadas. Estes podem ser facilmente determinados para novas variantes descobertas no estudo. Onde forem fornecidos números rs, os detalhes do ensaio (sequência de primers, condições de PCR, etc.) devem ser apresentados de forma concisa.

Os pedigrees devem ser determinados de acordo com padrões publicados (Veja Bennett et al. *J Genet Counsel* (2008) 17:424-433 -DOI 10.1007/s10897-008-9169-9).

### Nomenclaturas

Use a notação genética e os símbolos aprovados pelo HUGO Gene

Nomenclature Committee (HGNC) - (<http://www.genenames.org/>) para os genes.

Para a nomenclatura de mutações, use as diretrizes sugeridas pela Human Genome Variation Society (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>).

Forneça informações e uma discussão sobre derivações do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE). o cálculo do HWE pode ajudar a mostrar erros de genotipagem e o impacto em métodos analíticos downstream que considerem o HWE.

Ofereça frequências genotípicas assim com a frequência alélica. Também é desejável que as frequências dos haplótipos sejam fornecidas

Sempre que possível, os medicamentos devem ser indicados pelo seu nome genérico. Quando o nome comercial for usado, ele deve se iniciar com letra maiúscula.

As abreviaturas devem ser usadas apenas quando estritamente necessário e explicadas na primeira vez em que forem apresentadas no texto.

Os artigos devem ser escritos em inglês claro e conciso.

Evite os jargões e neologismos. Não faremos grandes correções de gramática e ortografia, o que é responsabilidade do autor. Se o inglês não for a língua nativa dos autores, o artigo deve ser revisado por um revisor nativo de língua inglesa.

Para não nativos de língua inglesa e autores internacionais que necessitem de assistência na escrita do manuscrito antes da submissão, sugerimos os serviços da [Voxmed Medical Communications](#), [American Journal Experts](#) ou [PaperCheck](#).

## ANEXO 5

## Comprovante de submissão do artigo

ScholarOne Manuscripts™ EVERLAYNY FIOROT COSTALONGA Instructions & Forms Help Log Out

SciELO Archives of Endocrinology and Metabolism

Home Author Review

Author Dashboard

Author Dashboard

- 1 Submitted Manuscripts >
- 1 Manuscripts with Decisions >
- Start New Submission >
- Legacy Instructions >
- 5 Most Recent E-mails >

### Submitted Manuscripts

| STATUS  | ID            | TITLE   | CREATED     | SUBMITTED   |
|---|---------------|---|-------------|-------------|
| ADM: AE&M, Editorial<br>Awaiting Admin Processing | AEM-2016-0378 | Analysis of risk factors for vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes mellitus and its relation to the use of metformin<br>View Submission<br>Cover Letter | 14-Nov-2016 | 20-Nov-2016 |

Archives of Endocrinology and Metabolism - Manuscript ID AEM-2016-0378

Entrada x



Archives of Endocrinology and Metabolism <onbehalf+aem.editorial.office+endocrino.org.br@manus para mim, everlayny.cost., fabianalima5, mim, everlayny.cost. ▾

20/11/2016 ☆



inglês > português Traduzir mensagem

Desativar para: inglês x

20-Nov-2016

Dear Dr. FIOROT COSTALONGA:

Your manuscript entitled "Analysis of risk factors for vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes mellitus and its relation to the use of metformin" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Archives of Endocrinology and Metabolism.

Your manuscript ID is AEM-2016-0378.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/aem-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/aem-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Archives of Endocrinology and Metabolism.

Sincerely,  
Archives of Endocrinology and Metabolism Editorial Office