

Universidade Federal de Minas Gerais

**Estudo da permeabilidade intestinal
em pacientes leucêmicos antes da quimioterapia**

Juliana Brovini Leite

Belo Horizonte
2012

Juliana Brovini Leite

Estudo da permeabilidade intestinal em pacientes leucêmicos antes da quimioterapia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Ciências Aplicadas ao Aparelho Digestivo

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Garcia Vilela

Co-orientador: Prof. Dr. Henrique Oswaldo da Gama Torres

Belo Horizonte
2012

L533e Leite, Juliana Brovini.
Estudo da permeabilidade intestinal em pacientes leucêmicos antes da quimioterapia [manuscrito]. / Juliana Brovini Leite. - - Belo Horizonte: 2012.
60f.: il.
Orientador: Eduardo Garcia Vilela.
Co-Orientador: Henrique Oswaldo da Gama Torres.
Área de concentração: Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Leucemia Mielóide. 2. Leucemia Linfóide. 3. Mucosa Intestinal. 4. Permeabilidade. 5. Cromatografia Líquida de Alta Pressão. 6. Dissertações Acadêmicas. I. Vilela, Eduardo Garcia. II. Torres, Henrique Oswaldo da Gama. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WI 402

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR

Professor Clélio Campolina Diniz

VICE-REITORA

Professora Rocksane de Carvalho Norton

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof^ª. Elisabeth Ribeiro da Silva

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

DIRETOR DA FACULDADE DE MEDICINA

Prof. Francisco José Penna

VICE-DIRETOR DA FACULDADE DE MEDICINA

Tarcizo Afonso Nunes

COORDENADOR DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

SUBCOORDENADOR DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof^ª. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

Prof^ª. Anelise Impelizeri Nogueira

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO**

Prof^ª. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

**SUBCOORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO**

Prof^ª. Valéria Maria de Azeredo Passos

**REPRESENTANTES DOCENTES DO COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO**

Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Prof. Nilton Alves de Rezende

Prof^ª. Suely Meireles Rezende

Prof^ª. Valéria Maria de Azeredo Passos

REPRESENTANTE DISCENTE

Andréa de Lima Bastos

TRABALHO REALIZADO COM SUPORTE FINANCEIRO DAS INSTITUIÇÕES

- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)
- Centro de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

Dedico esta dissertação aos meus pais Alfredo e
Márcia, à minha irmã Monique, e ao meu namorado
Daniel, pelo carinho, dedicação e apoio
incondicional.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre iluminar meus caminhos.

Ao Prof. Eduardo Garcia Vilela, orientador e mestre, pelos ensinamentos que muito colaboraram para a compreensão das alterações intestinais e realização dos exames no aparelho de Cromatografia Líquida. Obrigada pela paciência, dedicação e inestimáveis contribuições que muito enriqueceram meu trabalho.

Ao Prof. Henrique Oswaldo da Gama Torres, que sempre contribuiu com sua experiência, ensinamentos e incentivo para realização desta pesquisa.

Ao Prof. Aloísio Sales da Cunha, que gentilmente me acolheu no Grupo de Estudos da Barreira Gastrointestinal e me deu a oportunidade de iniciar nos caminhos da pesquisa. Agradeço pelo apoio, disponibilidade e carinho que sempre demonstrou a mim.

À Prof^a. Maria de Lourdes de Abreu Ferrari, pela amizade, apoio e incentivo no caminho da pesquisa.

A todos esses professores, minha eterna gratidão. Nossa convivência durante esses três anos contribuiu muito para meu crescimento profissional. Serei eternamente grata pela oportunidade que me deram e confiança que depositaram em mim. Vocês são exemplos de profissionais e serão sempre lembrados com muito carinho e admiração.

Agradeço também aos pacientes, que foram essenciais para realização deste trabalho.

Às acadêmicas do Grupo de Estudos da Barreira Gastrointestinal, em especial à Marcella Menezes de Andrade, Paloma Maciel Araújo e Taciana Bretas Guerra pela dedicação e disponibilidade na realização do teste da permeabilidade intestinal.

Aos médicos do Serviço de Hematologia, à Prof^a. Dra. Nelma Cristina Diogo Clementino, aos médicos Gustavo Henrique Romani Magalhães e Ana Beatriz Firmato Glória, pela colaboração no recrutamento dos pacientes e pela disponibilidade.

Ao Fernando Henrique Pereira, do Laboratório de Bioestatística da Pós-Graduação, pela contribuição no tratamento estatístico deste estudo.

Aos meus pais, minha irmã, meu namorado e minha tia Simone, que sempre estiveram ao meu lado, obrigada pela força.

Enfim, a todos que contribuíram para que essa dissertação de mestrado se tornasse uma realidade, muito obrigada.

“É absolutamente certo que neste mundo
nunca se consegue o possível se não se tentar,
constantemente, fazer o impossível”.

Max Webber

RESUMO

As leucemias são doenças caracterizadas por proliferação neoplásica que acomete a medula óssea, impedindo a hematopoiese e causando anormalidades do sangue periférico. Por vezes, não afetam apenas o sistema hematopoiético, mas também outros órgãos e tecidos, entre eles o intestino delgado. Alterações da função de barreira da mucosa intestinal têm sido observadas em pacientes com leucemia antes da quimioterapia de indução. Admite-se que estas alterações possam estar associadas à disfunção de células imunocompetentes, à presença do infiltrado de células leucêmicas no trato digestivo, ou ainda, à ação de citocinas secretadas nestes pacientes. O objetivo deste estudo foi avaliar a função da barreira intestinal em pacientes leucêmicos, antes do início da quimioterapia, por meio do teste da permeabilidade intestinal, utilizando lactulose e manitol como marcadores. Foram incluídos 20 pacientes com diagnóstico de leucemia. O teste da permeabilidade intestinal foi realizado antes do início do tratamento quimioterápico. Dez voluntários sadios também se submeteram à realização do exame. No primeiro grupo, a mediana da taxa de excreção lactulose/manitol foi de 0,019, enquanto que nos controles sadios a mediana foi de 0,009 ($p = 0,244$). Também foi realizada comparação do teste da permeabilidade intestinal entre os pacientes com leucemias agudas em geral e os voluntários sadios. A mediana da relação entre as taxas de excreção de lactulose e manitol nos leucêmicos agudos foi de 0,034. Quando comparada ao controle sadio ($T_{LM} = 0,009$), o valor de p foi 0,069. Esta mesma comparação foi feita entre pacientes com leucemia mielóide aguda e controles sadios e o valor de p foi de 0,149. O valor de p quando foi feita a comparação do teste da permeabilidade intestinal entre pacientes leucêmicos agudos e leucêmicos crônicos foi de 0,098. Foi também estudada a possível interferência da presença de sintomas gastrointestinais e da febre no teste de permeabilidade intestinal. Nos pacientes leucêmicos em geral o valor de p foi de 0,396 e 0,270, respectivamente. Nas leucemias agudas foi de 0,491 e 0,315. Assim, pode-se concluir que a função da barreira intestinal medida por meio do teste da permeabilidade intestinal foi semelhante nos pacientes leucêmicos em geral e nos controles sadios, contudo foi constatada uma tendência de comportamento diferente da função da barreira intestinal no grupo constituído por pacientes com leucemia aguda em geral. Os resultados do teste da permeabilidade intestinal entre leucêmicos agudos e leucêmicos crônicos também não diferiram entre si ($p = 0,098$), ainda que a mediana no primeiro grupo tivesse sido cinco vezes maior, e os sintomas gastrointestinais e a febre não interferiram nos valores do teste da permeabilidade intestinal em pacientes leucêmicos em geral e em pacientes com leucemias agudas.

Palavras-chave: Leucemia. Permeabilidade intestinal. Lactulose. Manitol.

ABSTRACT

Leukemias are diseases characterized by neoplastic proliferation that can affect the entire bone marrow, preventing hematopoiesis and causing abnormalities in peripheral blood. Sometimes leukemias not only affect the hematopoietic system, but also other organs and tissues, including the small intestine. Changes in barrier function of the intestinal mucosa have been observed in patients with leukemia before chemotherapy induction. It is assumed that these changes may be associated with dysfunction of immunocompetent cells, the leukemic cell infiltration in digestive tract, or even the action of local cytokine secretion in these patients. The objective of this study was to evaluate the intestinal barrier function in leukemia patients before the start of the chemotherapy through a intestinal permeability test, using lactulose and mannitol as markers. The study included 20 patients diagnosed with leukemia (acute and chronic). The intestinal permeability test was performed before chemotherapy. Ten healthy volunteers were also submitted to the test. In the first group, the median lactulose/mannitol ratio was 0,019, whereas in healthy controls the median was 0,009 ($p = 0,244$). A comparison was also performed between acute leukemia patients and healthy volunteers. The median lactulose/mannitol ratio in acute leukemia patients was 0,034 and, when compared to healthy controls ($T_{LM} = 0,009$), disclosed a p value of 0,069. This same comparison was made between acute myeloid leukemia patients and healthy controls, with a p value of 0,149. The p value disclosed by the comparison of intestinal permeability between acute and chronic leukemia patients was 0,098. We also studied the possible interference of gastrointestinal symptoms and fever presents in the intestinal permeability tests, but statistical significance was not show, neither in the entire sample (p value of 0,396 and 0,270, respectively) nor in acute leukemia (0,491 and 0,315). We concluded that the intestinal barrier function measured by intestinal permeability test was similar in leukemic patients in general and healthy controls, but a tendency towards a different behavior was found in the intestinal barrier function in the acute leukemia group. Intestinal permeability test also did not differ between acute and chronic leukemia ($p = 0,098$), even though the median in the first group was shown to be five times higher. Gastrointestinal symptoms and fever did not interfere with intestinal permeability test values in leukemia patients in general and in acute leukemia patients.

Keywords: Leukemia. Intestinal permeability. Lactulose. Mannitol.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LMC	leucemia mielóide crônica
LMA	leucemia mielóide aguda
LLA	leucemia linfóide aguda
LLC	leucemia linfóide crônica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	reação em cadeia da polimerase
BCR-ABL	<i>genes breakpoint cluster region - abelson oncogene</i>
Ph1	cromossomo Philadelphia
TMO	transplante de medula óssea
FAB	classificação franco-americana-britânica
MPO	mieloperoxidase
SB	Sudan Black
SBB	Sudan Black B
CD	<i>cluster differentiation</i>
MO	medula óssea
SP	sangue periférico
TGI	trato gastrointestinal
⁵¹ Cr-EDTA	etilenodiaminotetraacetato marcado com cromo radioativo
nm	nanômetro
SMD	síndrome mielodisplásica
µm	micrômetro
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
g/L	grama/litro
L	lactulose
M	manitol
V	volume urina
T _{L/M}	relação entre as taxas de excreção de lactulose e manitol
N	número de pacientes

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Sistema de classificação franco-americano-britânico das leucemias mielóides agudas.	17
TABELA 2:	Classificação da Organização Mundial de Saúde das leucemias mielóides agudas.	18
TABELA 3:	Classificação da Organização Mundial de Saúde das leucemias linfóides agudas.	19
TABELA 4:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes leucêmicos e voluntários sadios.	36
TABELA 5:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemias agudas e voluntários sadios.	36
TABELA 6:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemia mielóide aguda e voluntários sadios.	37
TABELA 7:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemia aguda e leucemia crônica.	37
TABELA 8:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemia mielóide aguda e leucemias crônicas.	38
TABELA 9:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes leucêmicos com e sem sintomas gastrointestinais.	38
TABELA 10:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes leucêmicos com e sem febre.	39
TABELA 11:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemias agudas com e sem sintomas gastrointestinais.	39
TABELA 12:	Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemias agudas com e sem febre.	40
TABELA 13:	Comparação dos resultados do teste da permeabilidade intestinal dos controles sadios deste estudo com os controles sadios da literatura.	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Desenho esquemático que ilustra a teoria de vias de permeação diferentes e a via única de permeação utilizando as junções firmes.	22
Figura 2:	Aspecto macroscópico da infiltração de células leucêmicas no intestino grosso em pacientes com leucemia mielóide aguda.....	25
Figura 3:	Equação da reta da lactulose.....	31
Figura 4:	Equação da reta do manitol.....	31
Figura 5:	Exemplo de cromatograma para dosagem de lactulose.....	32
Figura 6:	Exemplo de cromatograma de dosagem de lactulose em maior aumento.....	33
Figura 7:	Exemplo de cromatograma para dosagem de manitol.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	Permeabilidade intestinal.....	21
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	24
3	OBJETIVOS	28
3.1	Geral	28
3.2	Específicos	28
4	CASUÍSTICA E MÉTODO.....	29
4.1	Casuística	29
4.2	Método.....	29
4.3	Estatística	33
4.4	Ética	34
5	RESULTADOS	35
6	DISCUSSÃO	41
7	CONCLUSÕES.....	46
8	PROPOSTAS DE ESTUDO	47
	REFERÊNCIAS.....	48
	ANEXO I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Pacientes).....	53
	ANEXO II - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Voluntários sadios)	54
	ANEXO III - Banco de dados dos pacientes leucêmicos	55
	ANEXO IV - Banco de dados dos controles sadio	57
	ANEXO V - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP)	58
	ANEXO VI - Folha de aprovação da defesa da dissertação	59
	ANEXO VII - Ata da defesa da dissertação	60

1 INTRODUÇÃO

Na medula óssea normal ocorre a hematopoiese, processo que envolve a produção contínua de vários tipos de células sanguíneas maduras a partir de precursores imaturos, bem como a regulação de sua diferenciação, proliferação e apoptose. Para ocorrer a transformação leucêmica é necessário acúmulo de alterações nas células precursoras que lhes conferem vantagem proliferativa ou de sobrevivência sobre as demais¹.

As leucemias são caracterizadas por proliferação neoplásica que acomete a medula óssea, impedindo a hematopoiese, causando anormalidades do sangue periférico e, por vezes, infiltrando tecidos não hematopoiéticos. As manifestações clínicas, habitualmente presentes, são sangramento, infecção e anemia². Podem ser classificadas em agudas ou crônicas, conforme o curso natural da doença e, em linfóide ou mielóide, conforme a linhagem celular predominante. Dados imunofenotípicos, citogenéticos e de genética molecular também vêm sendo consistentemente utilizados, não somente para sua classificação, mas também para diagnóstico e avaliação das terapias³.

Caracteristicamente, as leucemias agudas apresentam taxas elevadas de proliferação celular e a medula óssea encontra-se saturada por células imaturas da série envolvida. Se o tratamento não for iniciado e a remissão não for induzida, a mortalidade é alta e acontece em poucas semanas. Em relação aos pacientes com leucemias crônicas, as taxas proliferativas são menores e, conseqüentemente, existe maior proporção de células maduras. Mesmo se não ocorrer remissão induzida pelo tratamento, na ausência da fase acelerada ou blástica, a sobrevida destes pacientes é superior a um ano, após a apresentação dos sintomas³.

Existem quatro grupos principais de leucemias: leucemia mielóide crônica (LMC), leucemia mielóide aguda (LMA), leucemia linfocítica aguda (LLA) e leucemia linfocítica crônica (LLC).

No Brasil, assim como acontece também em vários países desenvolvidos, não se conhece o número real de casos novos de câncer diagnosticados a cada ano pelos serviços de saúde, em função da ausência de um sistema de registro que cubra todo o território nacional. Neste cenário, as estimativas anuais de incidência continuam sendo de grande valia. De acordo com dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2010, houve 9.580 novos casos de leucemia no país, sendo 5.240 homens e 4.340 mulheres. Segundo dados do mesmo instituto em 2006, dos 9.550 novos casos de leucemia no Brasil, 970 casos ocorreram no

estado de Minas Gerais (540 homens e 430 mulheres), sendo 170 novos casos em Belo Horizonte (90 homens e 80 mulheres)⁴.

A LMC é conhecida como uma desordem clonal maligna de células do sistema hematopoiético que resulta no aumento, não apenas de células mielóides, mas também de células eritróides e plaquetas no sangue periférico, e é caracterizada por hiperplasia mielóide na medula óssea⁵. É responsável por cerca de 15% dos diagnósticos de leucemias em adultos e a faixa etária predominante situa-se entre 45 e 55 anos de idade, sendo bastante rara em idosos, crianças e adolescentes^{6,7}. Nos Estados Unidos, a incidência deste tipo de leucemia é de 1 a 2 casos por 100.000 habitantes por ano⁷.

Classicamente, a LMC manifesta-se por meio de três fases consecutivas: a fase crônica, cujo paciente se mantém clínica e laboratorialmente estável, com duração de três a cinco anos; a fase acelerada, caracterizada, de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS), pela presença de um ou mais dos seguintes achados: aumento significativo do baço ou aumento do número de leucócitos em pacientes que não respondem a terapia, mais de 15% de blastos no sangue ou medula óssea, mais de 20% de basófilos no sangue ou medula, plaquetopenia (contagem menor que 100.000) no sangue periférico não relacionada a terapia, contagem aumentada de plaquetas (maior que 1.000.000) em pacientes que não respondem ao tratamento e evolução citogenética com outras anormalidades além do cromossomo Philadelphia; e, finalmente, a chamada crise blástica, que retrata a agudização da leucemia sendo normalmente fatal^{6,8,9,10}. Esta fase caracteriza-se pela presença de pelo menos 30% de blastos no sangue periférico ou pela infiltração leucêmica extramedular^{6,11}. A agudização mais comum é a do tipo mielóide, mas o fenótipo linfóide é visto em, aproximadamente, 25% dos casos^{12,13}. Em uma pequena porcentagem de pacientes pode ser ainda encontrada a linhagem bifenotípica¹⁴.

O diagnóstico da LMC é feito por meio do hemograma, dosagens bioquímicas, mielograma, biópsia, reação em cadeia da polimerase (PCR) para o gene BCR-ABL e citogenética. É comum encontrar leucocitose presente em 50% a 70% dos pacientes, escalonamento na contagem diferencial de leucócitos com desvio à esquerda, basofilia, eosinofilia, aumento do número de plaquetas, anemia (cerca de 50% dos pacientes), elevação de ácido úrico e, geralmente, redução da fosfatase alcalina leucocitária. O estudo da medula óssea pelo mielograma ou biópsia de crista ílica evidencia hiperplasia granulocítica e a taxa de células mielóides/células eritróides varia de 15/1 a 20/1^{15,16}.

Sob o ponto de vista citogenético, a LMC é caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph), originário de uma translocação recíproca entre os

cromossomos 9 e 22, t(9;22) (q34;q11). A translocação cromossômica produz um gene quimérico, formado pela fusão de dois genes: o gene *breakpoint cluster region* (BCR), localizado no cromossomo 22, e o gene *abelson oncogene* (ABL), localizado no cromossomo 9, produzindo um transcrito ativo BCR-ABL no cromossomo rearranjado Ph¹⁷.

Até 1950, o principal recurso terapêutico para tratamento da LMC era a radioterapia. Em 1953, Galton introduziu com sucesso o bussulfan oral e, em 1972, a hidroxiureia passou a ser a principal droga utilizada no manuseio da LMC. Apesar de estas medidas terapêuticas produzirem controle clínico e hematológico dos pacientes, não alteram a história da doença e, invariavelmente, ocorre evolução para as fases acelerada e blástica, com consequente óbito¹⁸. Atualmente, o transplante de medula óssea (TMO), o uso do interferon-alfa e os inibidores de tirosinoquinase estão associados não somente a mudança da história da doença, mas também a remissões citogenéticas completas e duráveis¹⁵. Desde a descoberta do imatinibe, primeiro inibidor de tirosinoquinase, em 1999, esta classe medicamentosa passou a ser o tratamento de escolha da LMC em adultos e é possível que passe a ser utilizado também em crianças¹⁹.

A LMA é caracterizada pelo aumento de células mielóides imaturas na medula óssea e no sangue periférico, resultante de um sistema hematopoiético ineficaz²⁰. É a forma mais comum de leucemia nos primeiros meses de vida, sendo relativamente rara durante a infância e adolescência. Todavia, a partir da quarta e quinta décadas de vida torna-se a forma de leucemia aguda mais frequentemente observada²¹. A incidência de LMA nos Estados Unidos é de aproximadamente quatro casos por 100.000 por ano, podendo chegar a quase 18 casos por 100.000 por ano em pessoas com idade acima de 65 anos²².

Anemia e plaquetopenia estão presentes na maioria dos pacientes no momento do diagnóstico. A contagem de leucócitos pode estar aumentada, normal ou diminuída, sendo frequente a neutropenia e a presença de blastos circulantes. Os níveis séricos de ácido úrico e desidrogenase láctica estão, geralmente, elevados. O diagnóstico é estabelecido pelo mielograma e, em algumas situações, tais como medula óssea hipocelular, fibrose medular ou medula óssea acentuadamente infiltrada por células neoplásicas, por meio de biópsia de crista ilíaca¹. Em ambos os sítios de estudo, observa-se hiperplasticidade às custas de 20 a 100% de células blásticas, que podem ser identificadas pela morfologia, por meio da presença de bastonetes de Auer e, pela citocímica, por meio da coloração de Sudan Black (positivo nos mieloblastos), por meio da reação da peroxidase (específica para a diferenciação mielóide e positiva nos grânulos dos mieloblastos) e também pela esterase inespecífica (alfa-naftil acetato esterase apresenta positividade difusa em monoblastos). A imunofenotipagem do

sangue periférico ou da medula óssea determina características mielóides pela presença dos marcadores CD33 e CD13²³.

Nos anos 70, um grupo de hematopatologistas da França, Estados Unidos e Inglaterra propuseram um sistema de classificação que ficou conhecido como FAB (franco-americano-britânico), que incluía não só a morfologia, como também características citoquímicas, definindo assim os subtipos FAB M1 a M6 para as LMAs, e L1 a L3 para as LLAs²⁴. Alguns anos depois, o sistema de classificação foi redefinido e os subtipos de LMA foram ordenados de M0 a M7, devido à inclusão de critérios imunofenotípicos para melhor caracterização dos casos de LMA minimamente diferenciada e megacarioblástica, respectivamente²⁵ (TAB. 1).

De acordo com os critérios da FAB, o diagnóstico de leucemia aguda é confirmado em tais situações: 1) quando pelo menos 30% das células nucleadas da medula óssea são blastos; 2) predomínio de células eritróides (mais de 50% das células nucleadas são eritroblastos), e pelo menos 30% das células não eritróides são blastos; 3) presença de qualquer porcentagem de blastos em caso de leucemia promielocítica hipergranular, pois a célula leucêmica é o promielócito²⁴.

A classificação FAB inicial baseia-se na semelhança morfológica da célula normal com o seu equivalente leucêmico, reconhecendo subtipos que refletem o grau de maturação e a linhagem celular comprometida. Além da presença de grânulos, os blastos mielóides apresentam precocemente na sua diferenciação a enzima mieloperoxidase (MPO), detectada a partir das reações citoquímicas de MPO ou Sudan Black B (SBB). A MPO ocorre apenas em células de linhagem mielomonocítica, tendo sido arbitrado pelo grupo FAB que a sua presença em ao menos 3% das células blásticas caracterizaria uma leucemia aguda como LMA²⁵.

TABELA 1: Sistema de classificação franco-americano-britânico das leucemias mielóides agudas.

Classificação	Tipo	Descrição
M0	Leucemia mielóide aguda com diferenciação mínima	MPO + por método imunológico ou ultra-estrutural CD34+ ou CD13+ ou CD33+ ou CD11b+
M1	Leucemia mielóide aguda sem maturação	MPO+ em mais de 3% dos blastos Blastos: mais de 90% das células nucleadas da MO
M2	Leucemia mielóide aguda com maturação	Blastos: > 30% e < 90% das células nucleadas da MO Componente monocítico < 20%
M3	Leucemia promielocítica aguda	Predomínio de promielócitos anormais
M4	Leucemia mielomonocítica aguda	Blastos: > 30% e < 90% das células Componente monocítico > 20% e < 80% das células não eritróides e/ou >5000 monócitos/mm ³ no SP
M5	Leucemia monocítica aguda	Componente monocítico >80% das células não eritróides
M6	Leucemia eritróide aguda	Eritroblastos > 50% das células nucleadas da MO Blastos: > 30% das células não eritróides
M7	Leucemia megacariocítica aguda	Megacarioblastos > 30% das células nucleadas da MO (por método imunológico ou ultra-estrutural)

Legenda: MPO: mieloperoxidase; CD: cluster differentiation; MO: medula óssea; SP: sangue periférico.

Fonte: Adaptado de Xavier *et al.*, (2009)¹.

Mais recentemente, um comitê especial da Organização Mundial de Saúde (OMS) propôs uma nova classificação que representa um avanço conceitual importante em relação às outras, pois incorpora as alterações genético-moleculares como fatores primários para a determinação de grupos nosológicos¹⁰ (TAB. 2). Além disso a OMS modificou o critério de número mínimo de blastos na medula óssea para 20% para confirmação de LMA¹⁰.

TABELA 2: Classificação da Organização Mundial de Saúde das leucemias mielóides agudas.

Classificação	Descrição
I. LMA com translocações citogenéticas recorrentes	LMA com a t(8;21)(q22;q22), AML1-ETO LMA com a t(15;17)(q22;q21) (PML-RAR α) e variantes LMA com eosinófilos anormais na medula óssea – inv(16) (p13;q22) ou t(16;16)(p13;q11), CBF β -MYH11 LMA com anormalidades do 11q23 (MLL)
II. LMA com displasia de múltiplas linhagens	com SMD ou doença mieloproliferativa prévia sem antecedentes
III. LMA e SMD relacionadas a terapias	Relacionadas a agentes alquilantes Relacionadas a inibidores da topoisomerase II Outros tipos
IV. LMA não categorizada nos itens anteriores	LMA com mínima diferenciação LMA sem maturação LMA com maturação Leucemia mielomonocítica aguda Leucemias monoblástica e monocítica aguda Leucemia eritrocítica aguda Leucemia megacariocítica aguda Leucemia basofílica aguda Panmielose aguda com mielofibrose Sarcoma granulocítico

Legenda: LMA: leucemia mielóide aguda; LPA: leucemia promielocítica aguda; SMD: síndrome mielodisplásica.

Fonte: Adaptado de Xavier *et al.*, (2009)¹.

Em relação à abordagem terapêutica, nos pacientes com LMA menores de 60 anos de idade, a principal terapia de indução baseia-se no uso da daunorrubicina ou idarrubicina associado à citarabina. O transplante de medula óssea é indicado quando não se tem uma resposta favorável à terapia de indução ou em pacientes com risco pela citogenética molecular²⁶. Naqueles com mais de 60 anos, dependendo do grau de tolerância, utiliza-se os mesmos medicamentos com ajuste da dose. Para pacientes com remissão completa de três meses ou mais, tem sido indicado os anticorpos anti-CD33, tais como o gemtuzumabe ozogamicina, que aumenta as taxas de remissão, principalmente quando associado à citarabina²³.

A LLA desenvolve-se a partir do bloqueio em alguma etapa do estágio de maturação de células linfóides²⁷. É a malignidade mais comum da infância e adolescência. Existem 3.000 a 4.000 novos casos por ano nos Estados Unidos, dois terços envolvendo crianças. Quando acomete indivíduos adultos as chances de cura diminuem devido as anomalias genéticas adversas³.

Assim como acontece na LMA, ocorre aumento do número de blastos na corrente sanguínea, vistos no hemograma, além da plaquetopenia e leucopenia. Para confirmação diagnóstica também deve ser realizado mielograma, imunofenotipagem e exames citogenéticos²⁷.

Cerca de 25% dos adultos com LLA e 3% dos casos pediátricos apresentam o cromossomo Ph¹. Tais pacientes apresentam taxas de remissão completa inferiores e períodos de remissão reduzidos²⁸.

A classificação FAB, baseada na morfologia, subdivide as LLAs em L1-LLA (variante da infância), L2-LLA (variante de adultos), e L3-LLA (tipo Burkitt)²⁴. Já a classificação da OMS baseia-se em características moleculares e clínicas, além das morfológicas, como mostra a tabela 3²⁹.

TABELA 3: Classificação da Organização Mundial de Saúde das leucemias linfóides agudas.

Classificação	Descrição
I. LLA de precursor B	LLA com a t(9;22)(q34;q11); BCR-ABL
	LLA com a t(1;19)(q23;p13); E2A-PBX1
	LLA com a t(12;21)(p12;q22); TEL-AML1
	LLA com anormalidades da região 11q23; gene MLL
II. LLA de precursor T	
III. Leucemia de células de Burkitt	

Fonte: Adaptado de Xavier *et al.*, (2009)¹.

O tratamento de pacientes com LLA baseia-se em uma variedade de esquemas quimioterápicos. A vincristina e a prednisona são drogas utilizadas em todos os esquemas os quais, em sua maioria, são acrescidos a L-asparaginase e/ou daunorrubicina, para indução da remissão. Uma vez em remissão, prossegue-se o tratamento no sentido de se evitar a recidiva. Esta modalidade de tratamento é denominada quimioterapia de consolidação. Normalmente, selecionam-se drogas diferentes daquelas utilizadas para induzir a remissão, tais como o metotrexato em altas doses, a ciclofosfamida e a citarabina, entre outras³⁰.

A LLC é caracterizada pela proliferação clonal e acúmulo de linfócitos B ou T neoplásicos no sangue e medula óssea. Ocorre, na maioria dos casos, em pacientes com mais de 60 anos de idade³¹. O início é insidioso e a doença é comumente descoberta por acaso, durante a investigação de outro problema. O paciente apresenta-se, inicialmente, com linfocitose, que é indolente, sem outros comemorativos, até infiltração de outros órgãos como linfonodos, fígado, baço e medula óssea, com conseqüente linfonomegalia, hepatomegalia,

esplenomegalia, e citopenia no sangue periférico. Complicações da(s) citopenia(s) incluem anemia, responsável por comprometimento da qualidade de vida, além de infecção e sangramento, que representam as principais causas de morte de pacientes com LLC de células B³². A classificação FAB subdivide as leucemias linfocíticas crônicas em LLC de células B e de células T³³.

Pacientes com LLC são mais idosos e o prognóstico da doença é variável. Na fase mais precoce a doença permanece estável por 10 a 20 anos. Assim, o tratamento pode ser adiado até que haja progressão da doença. O uso de agentes alquilantes na fase inicial da doença não aumenta a sobrevida e está associado ao risco aumentado de outras doenças malignas³⁴. A partir do momento no qual se define pelo seu início, três modalidades são classicamente descritas: 1) os análogos da purina (fludarabina) isoladamente ou associados a outros agentes citotóxicos, tais como a ciclofosfamida; 2) os anticorpos monoclonais (rituximab e/ou alemtuzumab) em combinação com os análogos da purina (fludarabina); 3) a terapia de alta dose seguida por transplante alogênico (convencional ou de intensidade reduzida) ou autólogo^{34,35,36}.

Neste contexto, o trato digestivo é acometido durante o curso de um grande número de doenças sistêmicas. Entre elas, destacam-se as leucemias, pois não afetam apenas o sistema hematopoiético diretamente, mas também outros órgãos e tecidos do corpo³⁷. O trato gastrointestinal é uma área que geralmente é afetada por alterações patológicas provocadas pela doença e, secundariamente, pelo tratamento³⁸. A infiltração pelas células leucêmicas pode ocorrer em qualquer segmento do trato gastrointestinal (TGI) e causa estomatite, gengivite ou hipertrofia das gengivas, disfagia orofaríngea (devido à infiltração das tonsilas observadas na LLA) e formação de massas ao nível do esôfago, estômago, intestino delgado e cólon que, por sua vez, associam-se a quadros de obstrução, hemorragia, intussuscepção ou enterocolite³⁷. No nível do intestino delgado, tal infiltração provoca diminuição da integridade da barreira mucosa, permitindo a permeação de antígenos e também redução da área de absorção³⁹. O acometimento deste órgão é observado mais frequentemente na LMA, principalmente em estágios mais avançados da doença, podendo ocasionar ulcerações extensas³⁸.

Estas alterações da barreira intestinal podem ser estudadas por meio de testes de permeabilidade intestinal. Entre eles, destaca-se o que utiliza solução de açúcares, pois não necessita do emprego de radiação para suas dosagens⁴⁰.

1.1 Permeabilidade intestinal

As primeiras tentativas para se avaliar a função de barreira exercida pela mucosa intestinal foram realizadas por Fordtran e colaboradores em 1967, porém foi Menzies quem introduziu oligossacarídeos como substância teste para a avaliação não-invasiva da permeabilidade intestinal em 1974 e estudou a cinética da excreção urinária desses açúcares após sua administração por via oral^{41,42}.

A expressão permeabilidade intestinal relaciona-se à função de barreira exercida pelo epitélio e se traduz pela propriedade deste epitélio de permitir a passagem de moléculas por meio do mecanismo de difusão não mediada, independente do gradiente de concentração ou de pressão, e sem a assistência de um sistema carreador bioquímico passivo ou ativo⁴⁰. Somente substâncias com peso molecular maior que 150 dáltons utilizam essa via de acesso à mucosa intestinal, diferentemente do que acontece com o mecanismo de absorção. Ao contrário da permeabilidade intestinal, este termo se aplica a passagem de moléculas menores, tais como o sódio ou cloro, por meio de sistemas carreadores para seu transporte. A partir destes conceitos é possível afirmar que o aumento da permeabilidade pode coexistir ou não com a absorção inadequada, como acontece na doença celíaca⁴³.

A adequada manutenção da integridade epitelial exerce papel fundamental contra a patogenicidade exercida por bactérias, toxinas e outras moléculas que podem funcionar como antígenos⁴⁴. A quebra dessa barreira leva, potencialmente, a translocação de antígenos luminiais, microbiota e seus produtos tóxicos na circulação⁴⁵.

Existem duas teorias que explicam a rota de permeação por meio da mucosa intestinal: a teoria das duas rotas de permeação (vias transcelular e paracelular) e a teoria da rota única (via paracelular)⁴³ (Figura 1). Na teoria das duas rotas, a mais difundida, as moléculas com menos de 0,4 nm, como é caso do manitol e da L-ramnose, atravessam as membranas celulares por meio de pequenos poros aquosos (0,4 a 0,7 nm de raio), de alta incidência, presentes na membrana apical dos enterócitos, ou seja, utilizam a via transcelular. Já as moléculas maiores que 0,5 nm, como a lactulose, a celobiose e o etilenodiaminotetraacetato marcado com cromo radioativo (Cr-EDTA), a passagem ocorre por meio de canais aquosos maiores (6,5 nm de raio) presentes nas junções firmes, que são anéis de adesão que conectam as células epiteliais adjacentes. Ou seja, a permeação das substâncias pela via paracelular ocorre por entre as células^{43,46}.

A teoria da via única é justificada a partir da constatação da presença tanto de poros eletroneutros maiores (6,5 nm), quanto de poros menores (0,7 nm), cátion-seletivos,

localizados entre as células epiteliais, quando se utilizam marcadores com pesos moleculares variados, em diferentes gradientes osmóticos. Nesta teoria, as moléculas de peso molecular mais alto passariam exclusivamente pelos poros maiores presentes nas junções firmes, enquanto as moléculas menores passariam tanto pelos poros maiores quanto pelos poros menores, utilizando as vias paracelular e transcelular, embora a contribuição da via paracelular para a permeação total das moléculas menores venha a ser pequena. O manitol, substância ainda não encontrada em ambiente intracelular *in vivo*, utilizaria exclusivamente os poros menores. É importante ainda conceituar que tais poros permeáveis ao manitol teriam concentração maior entre as células que compõem as vilosidades, sendo menos comuns entre as células que compõem as criptas⁴⁷.

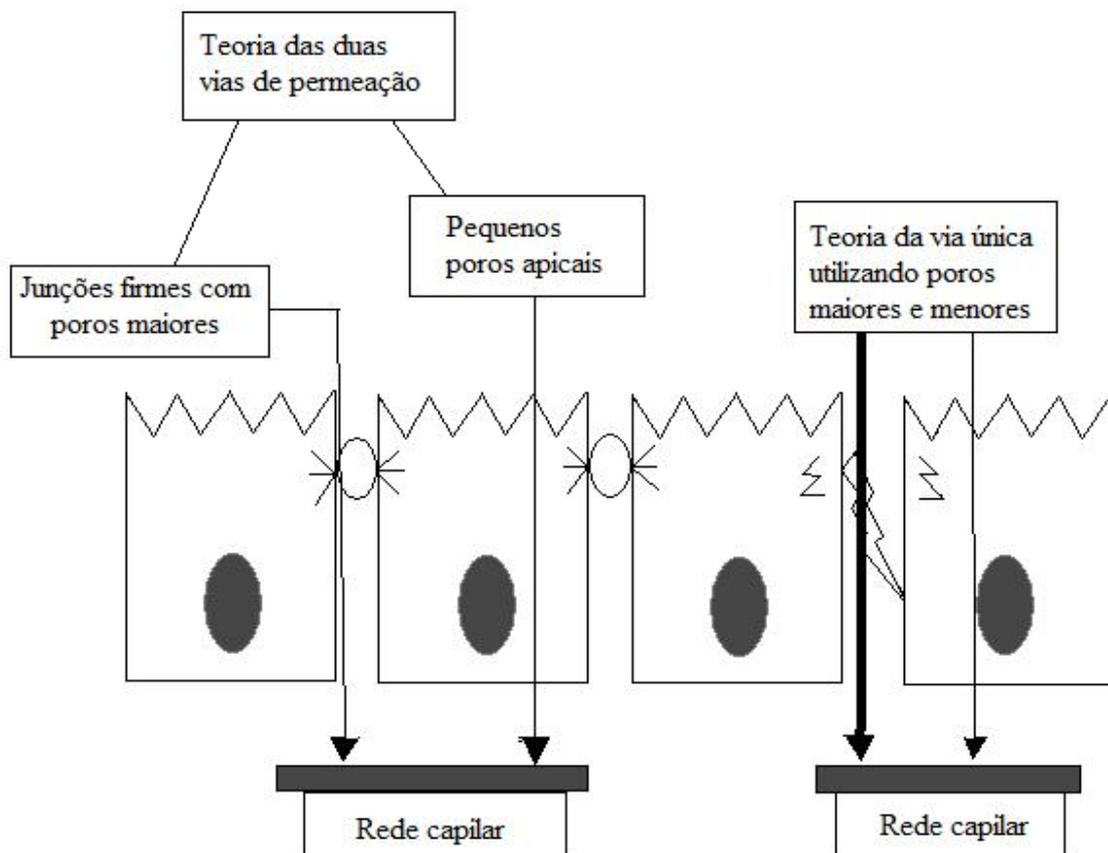


Figura 1: Desenho esquemático que ilustra a teoria de vias de permeação diferentes e a via única de permeação utilizando as junções firmes.

Fonte: Dados compilados pelo autor.

A partir destas considerações descritivas, torna-se pertinente afirmar que não existe um consenso para explicar as vias de permeação, no entanto é fato que a permeação a macromoléculas encontra-se aumentada em processos que causam reação inflamatória na

mucosa intestinal, favorecida por afrouxamento nas junções intercelulares, enquanto que a permeação aos monossacarídeos retrata a área absorptiva da mucosa, isto é, o grau de preservação ou não da estrutura vilositária que compõe o epitélio intestinal.

Outro conceito importante associado à função de barreira exercida pelo epitélio é sua dinamicidade, isto é, a resistência oferecida pelas junções firmes apresenta alterações após estresse hiperosmolar, doenças, drogas, dieta, citocinas e toxinas, podendo causar aumentos apenas transitórios da permeação de macromoléculas⁴⁰. Além disso, esta resistência das junções firmes também varia conforme a localização das células. As junções localizadas entre as células das criptas são mais permeáveis do que as junções das células das vilosidades⁴⁴.

Dentre os métodos utilizados para avaliação da permeabilidade intestinal, aqueles que empregam açúcares como marcadores são os mais utilizados. A combinação de dois açúcares (uma molécula maior e outra menor) minimiza a influência de fatores que podem afetar igualmente ambas as substâncias, tais como o esvaziamento gástrico, tempo de trânsito intestinal e *clearance* renal, e ainda é útil para se avaliar as rotas propostas de permeação^{45,48}. A lactulose e a celobiose são as macromoléculas mais amplamente utilizadas, embora a lactulose tenha uma vantagem em relação à celobiose, pois as dissacaridasas humanas apresentam algum efeito, ainda que pequeno, sobre a celobiose, e o manitol e a ramnose são os exemplos mais comuns de moléculas menores⁴⁰. As soluções utilizadas devem ser isosmolares em relação ao plasma, pois permitem o estudo da barreira mucosa sem causar alterações sobre as mesmas. Soluções hiperosmolares causam estresse da barreira da mucosa aumentando a permeação das macromoléculas^{40,44}.

A taxa de permeação dessas moléculas é medida a partir de sua excreção renal, após sua ingestão, uma vez filtradas e recuperadas na urina sem ocorrer reabsorção tubular. Quando comparada às amostras sanguíneas, a medida na urina é mais apropriada, pois a concentração dos açúcares no plasma é 100 vezes menor, o que torna a análise mais problemática⁴⁴.

As medidas de permeabilidade intestinal são empregadas para a avaliação de alterações da barreira mucosa intestinal que ocorrem em doenças gastrointestinais tais como a doença celíaca e doença de Crohn, e também em doenças sistêmicas tais como doenças auto-imunes, sepses e nas leucemias⁴⁹.

O crescente interesse pelo estudo da permeabilidade intestinal pode ser explicado pela possibilidade de se obter, de forma não invasiva, informações acerca de alterações que ocorrem no epitélio intestinal, capazes de elucidar a etiopatogenia de determinadas doenças e permitir a monitorização de medidas terapêuticas⁴³.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Apesar da possibilidade do acometimento do trato gastrointestinal pela leucemia, estudos acerca da natureza, incidência, extensão destas lesões, bem como sua importância clínica, são poucos na literatura.

Aproximadamente 10% dos pacientes com leucemia são acometidos por significativas complicações gastrointestinais, associados à própria leucemia, ou secundárias aos efeitos da quimioterapia⁵⁰. A LMA é o tipo que mais causa lesões intestinais, habitualmente pela infiltração das células leucêmicas ou secundárias às imunodeficiências, às desordens da coagulação ou mesmo pela toxicidade por drogas⁵⁰. A infiltração leucêmica no intestino pode gerar massas difusas ou polipóides e úlceras (Figura 2), e são responsáveis por quadros obstrutivos, intussuscepção e hemorragia. Nesse contexto, a imunocitopenia e a subsequente deficiência imunológica podem causar úlcera agranulocítica com invasão bacteriana e hemorragia⁵⁰. Especificamente em relação à neutropenia, esta se relaciona ao surgimento de infecções oportunistas, tais como a faringite e a esofagite por *Candida*, herpesvírus e citomegalovírus, que podem causar odinofagia, disfagia e hemorragia digestiva alta. Gastroenterocolites também são comuns e podem ser secundárias a uma grande variedade de agentes infecciosos, como vírus, bactérias, fungos e protozoários, manifestando-se por meio de quadros de dor abdominal, diarreia, sangramento e má absorção intestinal³⁷. Distúrbios de coagulação são responsáveis por hematomas intramurais e necrose hemorrágica. Sintomas orais comuns são hemorragia gengival, hipertrofia, inflamação e úlceras focais. E, em relação à toxicidade por drogas, a estomatite, condição inflamatória grave, habitualmente ocorre após quimioterapia^{50,51}. Danos no epitélio intestinal pela terapia citotóxica estão associados a uma variedade de complicações clínicas, incluindo mucosite orofaríngea, dores abdominais, diarreia, desequilíbrio no balanço eletrolítico, risco de hemorragia, enterocolite neutropênica e infecções invasivas devido à translocação de microorganismos endógenos que colonizam a superfície gastrointestinal⁵². Os regimes citotóxicos também apresentam potencial elevado para produzir danos epiteliais, infecção invasiva, e perda de proteínas intestinais^{53,54}. Além disso, mucosite oral e gastrointestinal aumentam significativamente os encargos econômicos da quimioterapia do câncer⁵⁵.



Figura 2: Aspecto macroscópico da infiltração de células leucêmicas no intestino grosso em pacientes com leucemia mieloide aguda.

Fonte: Iwamoto *et al.*, (2008)⁵⁶.

Estudos realizados por Hernandez-Magro *et al.* (2008) em pacientes leucêmicos em geral, evidenciaram infiltrações leucêmicas graves no trato gastrointestinal em 13 a 25% dos pacientes, e a manifestação clínica mais comum foi a hemorragia. Outros achados foram intussuscepção, obstrução, pneumatose intestinal, enteropatia perdedora de proteína, apendicite e ulceração anorectal⁵⁷. Na série de Smith *et al.* (1990), foi sugerido também que a contaminação bacteriana no intestino delgado é comum em pacientes com LLC e que a infecção por *Giardia lamblia* pode estar presente, principalmente naqueles pacientes com hipogamaglobulinemia e resultar em má absorção intestinal^{58,59}. Em outra série de casos, dos 142 pacientes leucêmicos acompanhados durante quatro anos, 13 (9%) apresentaram pelo menos uma complicação gastrointestinal³⁸. Deste total, quatro evoluíram com mais de uma complicação e cinco morreram devido à doença de base, sendo que três dessas cinco mortes estiveram relacionadas à doença gastrointestinal. As complicações relatadas foram infiltração leucêmica do intestino, necrose cecal, apendicite aguda com abscesso, candidíase esofágica e necrose, diverticulite, abscesso perirretal e colite pseudomembranosa³⁸.

Em estudos *post mortem* os índices de acometimento variam bastante. Segundo Weber e Ryan (1998), análises de espécimes de autópsia revelaram envolvimento gastrointestinal em quase metade de todos os pacientes com leucemia⁵⁰. Em outro estudo, autópsias realizadas em 148 pacientes com leucemia aguda e crônica de todas as idades,

Prolla e Kirsner (1964) encontraram afecções gastrointestinais secundárias a leucemia em 25% dos pacientes. Além disso, infecções micóticas ocorreram em 16% e hemorragias gastrointestinais graves em 18%, resultando em morte de oito pacientes. A lesão mais comum foi necrose hemorrágica, acometendo vários segmentos intestinais⁶⁰. Cornes e Jones (1962) evidenciaram após necropsia de 264 pacientes leucêmicos, que 14,8% destes apresentavam lesões gastrointestinais. Quatro tipos de lesões intestinais foram encontrados: espessamento na parede intestinal, lesões nodulares aumentadas, infiltrações difusas com membranas das mucosas apresentando dobras, e pólipos⁶¹.

Em relação aos aspectos funcionais da mucosa do intestino delgado, um estudo realizado por Bow *et al.* (1997) observaram alterações na função absorptiva intestinal, por meio do teste da D-xilose em pacientes com leucemia mielóide aguda não tratados e durante as quatro primeiras semanas de tratamento. O estudo foi realizado em 110 pacientes que ingeriram pela manhã, em jejum, 5 g de solução de D-xilose, e, uma hora depois da administração da solução foi coletada uma amostra de sangue do paciente para avaliação, por espectrofotometria, da absorção do açúcar. Má absorção foi observada em 16,4% dos pacientes, caracterizada pela diminuição nos níveis séricos de D-xilose antes do início do tratamento e níveis menores ainda durante a segunda e terceira semanas de tratamento, seguido por um pequeno aumento na quarta semana⁶².

Outro aspecto funcional da mucosa do intestino delgado, a barreira intestinal, também foi estudado em pacientes leucêmicos. De acordo com testes realizados por Sundström *et al.* (1998) em pacientes com LMA, a razão lactulose/manitol foi significativamente maior quando comparada a controles sadios, antes da indução quimioterápica e até a terceira semana de tratamento⁶³. No estudo realizado por Blijlevens *et al.* (2004), que comparou alterações na barreira intestinal de pacientes submetidos ao transplante de medula óssea após receberem condicionamento quimioterápico com pacientes com diagnóstico recente de LMA ou síndrome mielodisplásica (SMD) utilizando lactulose e ramnose, foi evidenciado aumento da permeabilidade intestinal nos dois grupos, sugerindo que a função intestinal já se encontrava alterada nos pacientes com LMA ou SMD antes do início da terapia. O aumento da razão entre as taxas de excreção da lactulose e ramnose foi atribuído a maior permeação da lactulose devido ao afrouxamento das junções firmes associado também a diminuição da permeação da ramnose, retratando, respectivamente, diminuição da função de barreira exercida pela mucosa intestinal e diminuição da área de superfície³⁹.

No intuito de avaliar as mudanças na absorção e na permeabilidade intestinal de pacientes com LMA, Bow e Meddings (2006) estudaram 35 pacientes antes da administração da terapia citotóxica e antes do uso de antiinflamatórios, e durante as quatro primeiras semanas de tratamento. Para tal, foi utilizada uma solução contendo xilose, marcador de absorção, lactulose e manitol, marcadores de permeabilidade intestinal, administrados oralmente. A absorção já se encontrava diminuída antes do início do tratamento, atingindo menores níveis séricos durante a segunda e terceira semanas de tratamento. Os níveis séricos baixos de D-xilose encontrados refletiam má absorção, e foram relacionados às infecções, à estomatite, ao número de transfusões sanguíneas e às doses de morfina. A elevação na razão lactulose/manitol refletia aumento da permeabilidade intestinal e foi relacionada à estomatite e às dores abdominais. Foi observado também que a permeabilidade já se encontrava alterada antes do início do tratamento e níveis mais elevados estavam presentes durante a segunda e terceira semanas. O uso de antiinflamatório foi associado ao aumento da permeabilidade, às náuseas, aos vômitos e à morbidade relacionada à infecção, apesar de reduzir a duração da neutropenia⁵².

Sabe-se que a função de barreira exercida pelo epitélio por meio das junções firmes é regulada por condições fisiológicas como a atividade física, e por condições patológicas que são acompanhadas pela secreção aumentada de citocinas, como é o caso de doenças inflamatórias intestinais como a doença de Crohn e doenças sistêmicas como as leucemias⁶⁴. Admite-se que tais alterações possam estar associadas tanto a disfunção de células imunocompetentes quanto a presença de infiltrados leucêmicos no trato digestivo, e teria como premissa fisiopatológica a secreção de citocinas^{39,63}. Nestas situações, o teste da permeabilidade intestinal é um método útil para avaliação da integridade da mucosa intestinal em diversas condições clínicas, inclusive em pacientes leucêmicos^{39,63}. A constatação que a permeabilidade intestinal pode estar alterada antes da realização da quimioterapia em pacientes leucêmicos e suas eventuais consequências clínicas podem ser úteis para explicar os mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesse processo e, eventualmente, apontar soluções mais específicas para tais alterações.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a função da barreira intestinal em pacientes leucêmicos, antes do início da quimioterapia, por meio do teste da permeabilidade intestinal, utilizando a dosagem urinária por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

3.2 Específicos

- a) Avaliar o comportamento do teste de permeabilidade intestinal nos pacientes leucêmicos quando comparado a voluntários sadios;
- b) avaliar o comportamento do teste da permeabilidade intestinal nos pacientes leucêmicos agudos e nos pacientes com leucemia mielóide aguda quando comparado a voluntários sadios;
- c) avaliar o comportamento do teste de permeabilidade intestinal em pacientes com leucemias agudas quando comparado a pacientes com leucemias crônicas;
- d) avaliar se os pacientes com leucemias em geral e com leucemias agudas com sintomas gastrointestinais e/ou febre apresentam maior taxa de excreção lactulose/manitol quando comparados a pacientes leucêmicos assintomáticos;
- e) avaliar o comportamento da lactulose e do manitol, isoladamente, segundo a rota de permeação dessas substâncias através da mucosa intestinal.

4 CASUÍSTICA E MÉTODO

4.1 Casuística

Foram incluídos no estudo 20 pacientes com idade acima dos 18 anos, de ambos os gêneros com diagnóstico inicial de leucemia mielóide aguda, leucemia mielóide crônica, leucemia linfóide aguda e leucemia linfóide crônica, atendidos no Ambulatório de Hematologia e no Pronto Socorro do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, antes de se submeterem a quimioterapia de indução, entre abril de 2010 e setembro de 2011. Os pacientes elegíveis para o estudo foram informados sobre a existência do projeto de pesquisa e convidados a participar. Aqueles que demonstraram interesse foram informados sobre o estudo e sobre o teste da permeabilidade intestinal. A realização do teste de permeabilidade intestinal não implicou na modificação de qualquer conduta médica. Além disso, dez voluntários sadios com idade acima dos 18 anos, de ambos os gêneros também realizaram o teste da permeabilidade intestinal.

Pacientes com o diagnóstico de cirrose, insuficiência cardíaca congestiva, síndrome nefrótica e doenças tireoidianas, doenças que poderiam interferir com a absorção ou fluxo de água e solutos e/ou com a motilidade gastrointestinal foram excluídos da pesquisa, bem como pacientes que fizeram uso de bebidas alcoólicas nos últimos três dias e uso de antiinflamatórios não esteróides nos sete dias que antecederam a coleta de urina.

4.2 Método

Para realização do teste da permeabilidade intestinal, o paciente permanecia em jejum por oito horas. A seguir, o paciente era orientado a eliminar qualquer resíduo urinário e, depois, era oferecida uma solução isomolar de 120 mL contendo 6,25 g de lactulose (95%) e 3,0 g de manitol diluídos em água. Nas duas horas seguintes, o jejum ainda era mantido. Todo volume urinário era coletado durante o período de cinco horas. Ao término desse tempo o conteúdo obtido era homogeneizado e o volume urinário total era anotado. Alíquotas de 50 mL eram armazenadas em frasco devidamente etiquetado e lacrado, após adição de 0,01 g de timerosal, no sentido de se evitar crescimento bacteriano. Em seguida, o material era encaminhado ao Laboratório do Grupo de Estudos da Barreira Gastrointestinal (GREBGI) na

Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), onde era filtrado utilizando-se filtro Millipore (0,22 μm) e resina de troca iônica. Após este procedimento, o material era armazenado em criotubos, devidamente identificados, em freezers a -20°C .

A dosagem do manitol e lactulose, presentes na urina, foi realizada por meio de um aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), Shimadzu[®] (Japão), composto por uma bomba injetora, um auto-injetor, um controlador acoplado a um “software” que permitia com que as leituras fossem interpretadas sob uma plataforma do tipo *workstation*, e um medidor de índice de refração. Cinquenta microlitros de urina, que estava armazenada nos criotubos, foram introduzidos no aparelho pelo auto-injetor após descongelamento, simultaneamente a uma fase móvel. As análises da lactulose e do manitol foram feitas em tempos distintos, pois para cada açúcar havia uma coluna que melhor o separava das demais substâncias o que implicou no emprego de duas fases móveis diferentes. Para a separação do manitol foi utilizada uma coluna H^+ (Phenomenex) e uma fase móvel composta de água milli-Q pura sonicada, a um fluxo de 0,6 mL/min. Para a separação da lactulose foi utilizada uma coluna NH_2 (Supelcogel) e uma fase móvel constituída por uma solução de acetonitrila e água milli-Q na proporção 75/25, sonicada, a um fluxo de 1,0 mL/min. A pré-coluna H^+ Supelcogel foi a mesma para as duas colunas. Amplitudes diferentes de ondas geradas pela solução contendo lactulose e manitol eram captadas pela *workstation*, que geravam gráficos sob a forma de curvas e eram então registradas pelo aparelho. O tempo de corrida para cada substância foi de 15 minutos e as análises foram realizadas em temperatura ambiente.

Para padronização do teste e o conhecimento adequado dos valores medidos na unidade g/L, foram preparadas soluções de lactulose com concentrações de 0,1 g/L, 0,2 g/L, 0,4 g/L e 0,8 g/L, e soluções de manitol com concentrações de 0,625 g/L, 1,25 g/L e 2,5 g/L e realizada regressão linear simples para elaboração de equação da reta para ambas. As áreas sob as curvas de lactulose e manitol registradas pelo aparelho foram plotadas no gráfico e geraram as equações da reta (Figura 3 e 4).

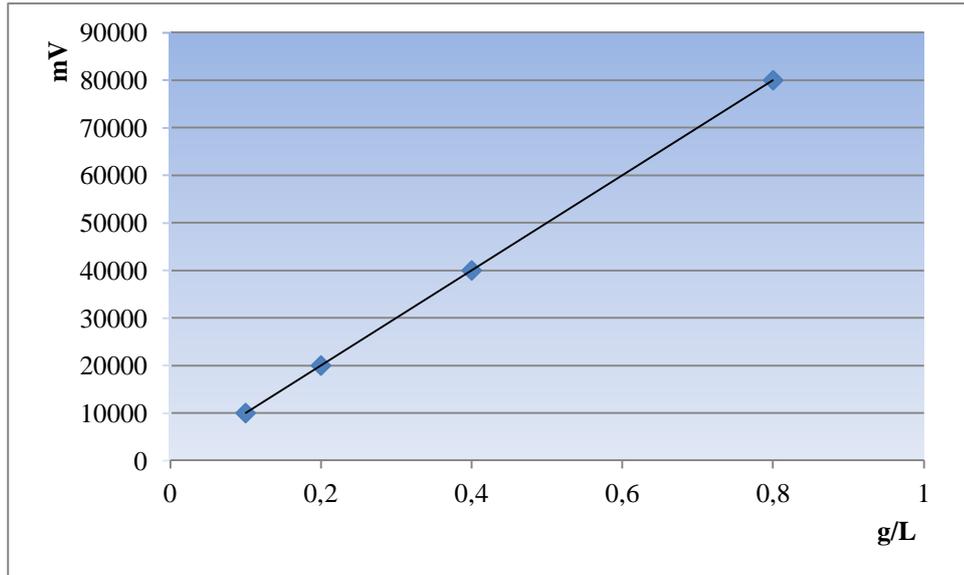


Figura 3: Equação da reta da lactulose.

Fonte: Dados compilados pelo autor.

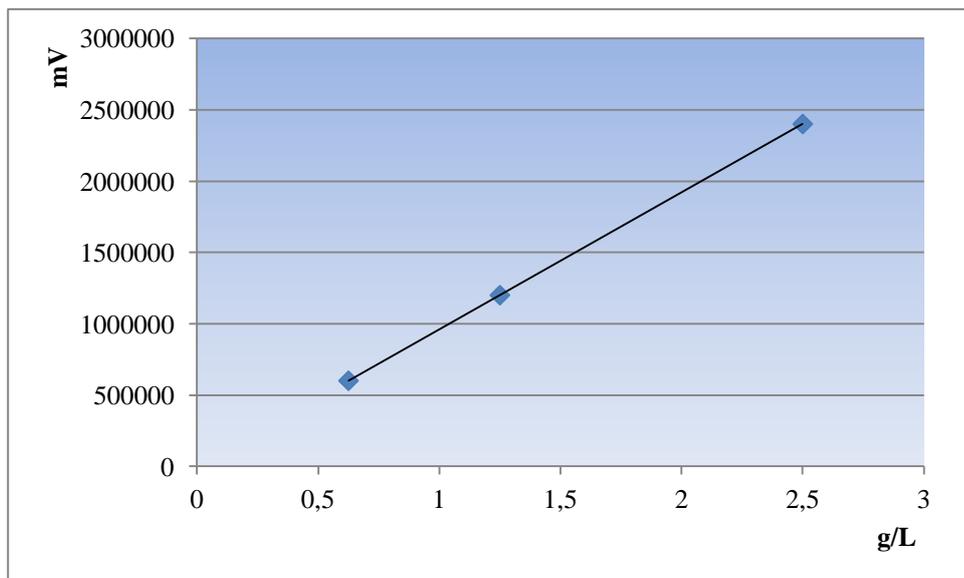


Figura 4: Equação da reta do manitol.

Fonte: Dados compilados pelo autor.

Por meio do volume urinário excretado por cada paciente, obtinha-se a quantidade dos açúcares, em porcentagem, eliminados pelos mesmos, como mostra a fórmula abaixo. A relação entre os dois açúcares era obrigatoriamente calculada de modo a obter o resultado final, que se constituía no teste da permeabilidade intestinal per si.

$$\% \text{ Lactulose} = \frac{L \text{ (g)} \times V \text{ (urina)} / 1000}{6,25} \times 100$$

Onde:

L significa a quantidade em gramas de lactulose obtida pela equação da reta da lactulose;

V significa o volume em mL de urina excretado pelo paciente;

6,25 é a quantidade em gramas de lactulose administrada pelo paciente antes do teste.

$$\% \text{ Manitol} = \frac{M \text{ (g)} \times V \text{ (urina)} / 1000}{3,0} \times 100$$

Onde:

M significa a quantidade em gramas de manitol obtida pela equação da reta do manitol;

V significa o volume em mL de urina excretado pelo paciente;

3,0 é a quantidade em gramas de manitol administrada pelo paciente antes do teste.

Abaixo, na Figura 5, um exemplo de cromatograma do teste de permeabilidade intestinal para dosagem de lactulose e, na Figura 7, um cromatograma para dosagem de manitol.

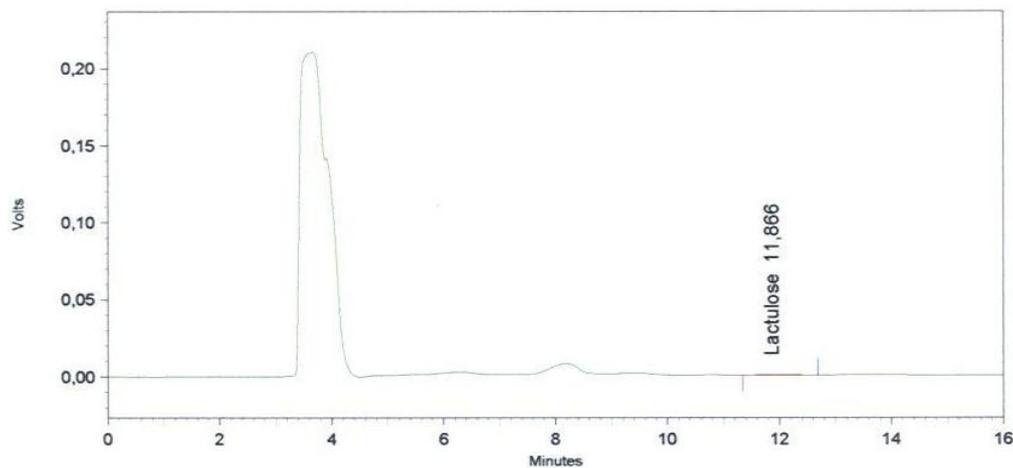


Figura 5: Exemplo de cromatograma para dosagem de lactulose.

Fonte: Dados compilados pelo autor, a partir da análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

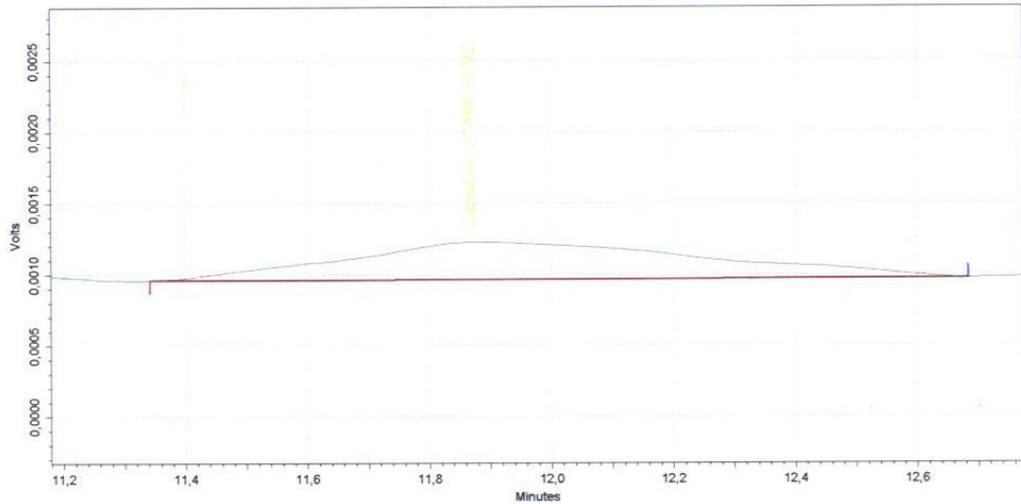


Figura 6: Exemplo de cromatograma de dosagem de lactulose em maior aumento.

Fonte: Dados compilados pelo autor, a partir da análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

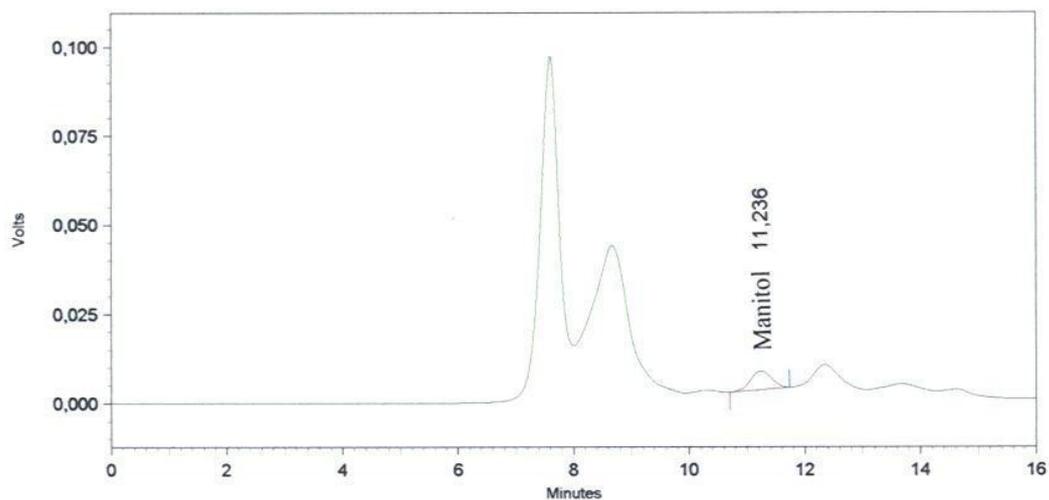


Figura 7: Exemplo de cromatograma para dosagem de manitol.

Fonte: Dados compilados pelo autor, a partir da análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

4.3 Estatística

Todos os dados coletados foram armazenados no programa Excel e, a partir deste, foi realizada uma análise descritiva dos resultados. Por meio do programa SPSS versão 18.0, foi realizado o tratamento estatístico da amostra no intuito de correlacionar variáveis laboratoriais entre si e comparar variáveis clínicas e laboratoriais. O teste T-Students foi realizado para comparação das médias de amostras independentes e quando os dados não apresentavam

distribuição gaussiana foi realizada a comparação de medianas pelo teste de Mann-Whitney. Foi considerado o valor de 5% ($p < 0,05$) como limiar de significância estatística.

4.4 Ética

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, parecer número ETIC 0079.0.203.000-11. Todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes do início do estudo.

5 RESULTADOS

Foram convidados a participar do estudo 26 pacientes com suspeita diagnóstica de leucemia antes do início do tratamento. Após o resultado dos exames confirmatórios, dois pacientes foram excluídos, pois se tratavam de pacientes com diagnóstico de mielofibrose. Outros quatro pacientes recusaram-se a participar da pesquisa, pois residiam fora do município de Belo Horizonte e dependiam de transporte da prefeitura local, o que dificultaria, ou mesmo impediria a realização do teste da permeabilidade intestinal. Assim, 20 pacientes com diagnóstico confirmado de leucemia aceitaram participar da pesquisa, sendo nove do gênero masculino (45%) e 11 do gênero feminino (55%). A idade variava entre 18 e 81 anos, com média de 47,2 anos. Quanto aos tipos de leucemia, 16 (80%) eram do tipo aguda (55% LMA e 25% LLA) e quatro (20%) do tipo crônica (15% LMC e 5% LLC).

As manifestações gastrointestinais, náuseas, vômitos, dor ou desconforto abdominal e diarreia estavam presentes em oito pacientes (40%), sendo sete pacientes com LMA e um com LMC. A febre estava presente em nove (45%) pacientes, sendo seis com LMA, um com LLA e dois com LMC. Somente dois (10%) pacientes apresentaram hemocultura positiva. Em um paciente com LLA foi isolado *Klebsiella pneumoniae* e no outro, com LMA, *Staphylococcus epidermidis*. Fadiga e mal estar em geral foram relatados por dois pacientes.

A média da permeabilidade intestinal nos pacientes leucêmicos, calculada a partir da relação entre as taxas de excreção da lactulose e manitol foi de 0,061, com desvio padrão de 0,115 e mediana de 0,019, variando entre 0,001 e 0,483. A média da porcentagem de excreção da lactulose foi de 0,27%, com desvio padrão de 0,26 e mediana de 0,23%, variando entre 0,01% e 0,97%. A média de porcentagem de excreção do manitol foi de 9,78%, com desvio padrão de 5,37 e mediana de 10,55%, variando entre 0,60% e 21,70%.

O teste de permeabilidade intestinal foi realizado também em 10 voluntários saudáveis. A média da relação entre as taxas de excreção da lactulose e do manitol foi de 0,012, com desvio padrão de 0,010 e mediana de 0,009, variando entre 0,001 e 0,027. A média da porcentagem de excreção da lactulose foi de 0,14%, com desvio padrão de 0,14 e mediana de 0,09%, variando entre 0,02% e 0,48% e a média de porcentagem de excreção do manitol foi de 11,44%, com desvio padrão de 4,34 e mediana de 11,60%, variando entre 4,70% e 18,0%.

Os resultados do teste da permeabilidade intestinal em pacientes leucêmicos foram comparados com os resultados nos voluntários saudáveis. A mediana da taxa de excreção da relação lactulose/manitol apresentou-se mais elevada no grupo de pacientes leucêmicos

($T_{LM} = 0,019$) quando comparada à mediana do grupo de voluntários sadios ($T_{LM} = 0,009$), porém não houve associação estatística ($p = 0,244$). As taxas de excreção de lactulose e manitol também foram analisadas separadamente e também não houve associação estatística entre os mesmos, conforme mostra a Tabela 4.

TABELA 4: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes leucêmicos e voluntários sadios.

	Teste da permeabilidade intestinal	N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Voluntários sadios	10	0,14	0,14	0,09 (0,02-0,48)	0,311
	Pacientes leucêmicos	20	0,27	0,26	0,23 (0,01-0,97)	<i>Mann-Whitney</i>
%M	Voluntários sadios	10	11,44	4,34	11,60 (4,70-18,0)	0,403
	Pacientes leucêmicos	20	9,78	5,37	10,55 (0,60-21,70)	<i>T-Students</i>
T_{LM}	Voluntários sadios	10	0,012	0,010	0,009 (0,001-0,027)	0,244
	Pacientes leucêmicos	20	0,061	0,115	0,019 (0,001-0,483)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

A seguir, foi realizada comparação do teste de permeabilidade intestinal entre os pacientes com leucemias agudas e os voluntários sadios (TAB. 5), e entre pacientes com LMA e voluntários sadios (TAB. 6). A mediana da taxa de excreção lactulose/manitol no grupo de pacientes com leucemias agudas foi de 0,034 e, quando comparada à mediana dos voluntários sadios ($T_{LM} = 0,009$), o valor de p foi de 0,069, como mostra a Tabela 5. Com relação à mediana da razão entre as taxas de excreção de lactulose e manitol dos pacientes com LMA ($T_{LM} = 0,042$), quando comparada à mediana aos voluntários sadios ($T_{LM} = 0,009$), não apresentou significância estatística ($p = 0,149$) (TAB. 6).

TABELA 5: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemias agudas e voluntários sadios.

	Teste da permeabilidade intestinal	N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Voluntários sadios	10	0,14	0,14	0,09 (0,02-0,48)	0,170
	Pacientes LA	16	0,31	0,27	0,26 (0,01-0,97)	<i>Mann-Whitney</i>
%M	Voluntários sadios	10	11,44	4,34	11,60 (4,70-18,0)	0,215
	Pacientes LA	16	8,97	5,07	8,75 (0,60-16,80)	<i>T-Students</i>
T_{LM}	Voluntários sadios	10	0,012	0,010	0,009 (0,001-0,027)	0,069
	Pacientes LA	16	0,074	0,126	0,034 (0,001-0,483)	<i>Mann-Whitney</i>

Legenda: LA: leucemias agudas

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

TABELA 6: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemia mielóide aguda e voluntários sadios.

Teste da permeabilidade intestinal		N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Voluntários sadios	10	0,14	0,14	0,09 (0,02-0,48)	0,204
	Pacientes LMA	11	0,33	0,30	0,29 (0,01-0,97)	<i>Mann-Whitney</i>
%M	Voluntários sadios	10	11,44	4,34	11,60 (4,70-18,0)	0,397
	Pacientes LMA	11	9,66	4,99	9,90 (0,60-16,80)	<i>T-Students</i>
T_{LM}	Voluntários sadios	10	0,012	0,010	0,009 (0,001-0,027)	0,149
	Pacientes LMA	11	0,077	0,138	0,042 (0,001-0,483)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

Também foi realizada a comparação do teste da permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemia aguda e pacientes com leucemia crônica. A mediana da taxa de lactulose/manitol dos pacientes com leucemia aguda foi de 0,034, enquanto os valores em pacientes com leucemia crônica foi de 0,007 ($p = 0,098$). Em relação às médias das taxas de excreção de lactulose, os valores também não apresentaram diferença estatística ($p = 0,275$), assim como as médias da taxa de excreção de manitol ($p = 0,187$) (TAB. 7).

TABELA 7: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemia aguda e leucemia crônica.

Teste da permeabilidade intestinal		N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Leucemia aguda	16	0,30	0,27	0,26 (0,01-0,97)	0,275
	Leucemia crônica	4	0,14	0,19	0,07 (0,01-0,42)	<i>T-Students</i>
%M	Leucemia aguda	16	8,97	5,07	8,75 (0,60-16,80)	0,187
	Leucemia crônica	4	13,0	6,09	11,40 (7,50-21,70)	<i>T-Students</i>
T_{LM}	Leucemia aguda	16	0,074	0,126	0,034 (0,001- 0,483)	0,098
	Leucemia crônica	4	0,008	0,008	0,007 (0,001-0,019)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

Quando foi comparada a mediana da relação entre as taxas de excreção da lactulose e do manitol dos pacientes com LMA e com leucemias crônicas, o primeiro grupo apresentou $T_{LM} = 0,042$, enquanto que a mediana do segundo grupo foi de 0,007 ($p = 0,192$). Também não houve significância estatística quando foram comparadas as taxas de excreção de lactulose entre os dois grupos ($p = 0,269$), e as taxas de excreção de manitol ($p = 0,297$), como mostra a Tabela 8.

TABELA 8: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemia mielóide aguda e leucemias crônicas.

Teste da permeabilidade intestinal		N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	LMA	11	0,33	0,30	0,29 (0,01-0,97)	0,269
	Leucemia crônica	4	0,14	0,19	0,07 (0,01-0,42)	<i>T-Students</i>
%M	LMA	11	9,66	4,99	9,90 (0,60-16,80)	0,297
	Leucemia crônica	4	13,0	6,09	11,40 (7,50-21,70)	<i>T-Students</i>
T_{LM}	LMA	11	0,077	0,139	0,042 (0,001- 0,483)	0,192
	Leucemia crônica	4	0,008	0,008	0,007 (0,001-0,019)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

Quando foram comparadas as medianas das taxas de excreção lactulose/manitol entre os pacientes leucêmicos que apresentavam e não apresentavam sintomas gastrointestinais, não houve associação estatística entre os dois grupos ($p = 0,396$). O mesmo aconteceu com os valores da taxa de excreção da lactulose e da taxa de excreção do manitol (TAB. 9).

TABELA 9: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes leucêmicos com e sem sintomas gastrointestinais.

Teste da permeabilidade intestinal		N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Não	12	0,28	0,22	0,28 (0,04-0,58)	0,261
	Sim	8	0,25	0,33	0,13 (0,01-0,97)	<i>Mann-Whitney</i>
%M	Não	12	10,10	5,62	10,55 (1,34-21,70)	0,749
	Sim	8	9,28	5,31	9,60 (0,60-16,80)	<i>T-Students</i>
T_{LM}	Não	12	0,048	0,072	0,019 (0,005-0,260)	0,396
	Sim	8	0,080	0,165	0,016 (0,001-0,483)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

A mesma comparação foi realizada entre as medianas das taxas de excreção lactulose/manitol dos pacientes que apresentavam febre e os pacientes que não apresentavam, e também não houve associação estatística ($p = 0,270$) (TAB. 10).

TABELA 10: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes leucêmicos com e sem febre.

Teste da permeabilidade intestinal		N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Não	11	0,27	0,23	0,23 (0,04-0,58)	0,401
	Sim	9	0,27	0,32	0,22 (0,01-0,97)	<i>Mann-Whitney</i>
%M	Não	11	8,52	4,52	7,50 (1,34-15,80)	0,259
	Sim	9	11,30	6,17	11,60 (0,60-21,70)	<i>T-Students</i>
TL/M	Não	11	0,053	0,074	0,039 (0,005-0,260)	0,270
	Sim	9	0,071	0,156	0,019 (0,001-0,483)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

O comportamento do teste de permeabilidade intestinal também foi estudado isoladamente nos pacientes com leucemias agudas, em relação à presença dos sintomas gastrointestinais e febre. A mediana das taxas de lactulose/manitol dos pacientes com leucemias agudas ($n = 16$) com sintomas gastrointestinais quando comparada com leucêmicos agudos que não apresentavam sintomas não foram diferentes ($p = 0,491$). De modo semelhante, as médias da taxa de excreção da lactulose e do manitol quando comparadas, isoladamente, não apresentaram associações estatisticamente significativas (TAB. 11).

TABELA 11: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemias agudas com e sem sintomas gastrointestinais.

Teste da permeabilidade intestinal		N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Não	9	0,32	0,23	0,35 (0,05-0,58)	0,841
	Sim	7	0,29	0,35	0,23 (0,01-0,97)	<i>T-Students</i>
%M	Não	9	8,98	4,92	9,90 (1,34-15,80)	0,993
	Sim	7	8,95	5,65	7,60 (0,60-16,80)	<i>T-Students</i>
T _{LM}	Não	9	0,060	0,080	0,039 (0,006-0,26)	0,491
	Sim	7	0,092	0,175	0,028 (0,001-0,483)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

A comparação entre as medianas da taxa de lactulose/manitol dos pacientes leucêmicos agudos com febre e sem febre não apresentou significância estatística ($p = 0,315$), assim como as médias entre as taxas da lactulose e do manitol (TAB. 12).

TABELA 12: Comparação do teste de permeabilidade intestinal entre pacientes com leucemias agudas com e sem febre.

Teste da permeabilidade intestinal		N	Média %	Desvio-padrão	Mediana % (amplitude)	<i>p</i>
%L	Não	9	0,32	0,23	0,35 (0,05-0,58)	0,827
	Sim	7	0,29	0,35	0,22 (0,01-0,97)	<i>T-Students</i>
%M	Não	9	8,34	4,95	6,20 (1,34-15,80)	0,588
	Sim	7	9,78	5,48	11,30 (0,60-16,80)	<i>T-Students</i>
$T_{L/M}$	Não	9	0,063	0,079	0,042 (0,006-0,260)	0,315
	Sim	7	0,088	0,176	0,019 (0,001-0,483)	<i>Mann-Whitney</i>

Fonte: Dados obtidos por meio da análise estatística.

Em relação à hemocultura, apenas 10 pacientes realizaram o exame e, em apenas dois pacientes foram encontrados resultados positivos, o que impossibilitou a realização de qualquer tratamento estatístico. A média da taxa lactulose/manitol nos pacientes com hemocultura negativa foi de 0,027, desvio padrão de 0,039 e mediana de 0,009, e a média da taxa lactulose/manitol dos pacientes com hemocultura positiva foi de 0,158, desvio padrão de 0,144 e mediana de 0,158. A média da taxa de excreção de manitol nos pacientes com hemocultura negativa foi de 8,83%, desvio padrão de 3,52 e mediana de 8,75%, enquanto que nos pacientes com hemocultura positiva a média do manitol foi de 3,77%, desvio padrão de 3,43 e mediana de 3,77%. Já em relação à lactulose, além do grupo dos pacientes com hemocultura positiva ser pequeno, os dois pacientes positivos apresentaram o mesmo valor de taxa de lactulose (0,35%), o que, além de impedir a comparação estatística, não permitiu variabilidade entre os resultados.

Quando realizada a análise das taxas de lactulose/manitol no que tange a presença e a ausência de sintomas gastrointestinais dos pacientes com leucemias crônicas, bem como a presença ou ausência de febre, e a hemocultura positiva ou negativa, não foi possível estabelecer comparação estatística, pois a casuística contava com apenas 4 pacientes com leucemia crônica.

6 DISCUSSÃO

As leucemias são doenças raras, mas potencialmente fatais. Considerando as estimativas do ano de 2010 do Instituto Nacional do Câncer (INCA), a incidência das leucemias no Brasil naquele ano foi de 0,005%⁴. Tendo por base esse dado, foi feito um exercício, apenas a título de balizamento, para definição do cálculo amostral e, para tal, utilizou-se o programa EpiInfo Versão 6.0. Foi hipotetizado uma casuística anual de 100 pacientes leucêmicos adultos atendidos no Hospital das Clínicas da UFMG, a qual superestima, e muito, o número real de pacientes (cerca de 37 casos anuais), para obtenção de um tamanho amostral mais satisfatório. Foi adotado, com base na literatura, frequências máximas de 25% e mínimas de 10% de alterações gastrointestinais, além de um nível de confiança de 95%. O resultado do tamanho amostral obtido foi de 24 pacientes⁶⁵. Por se tratar de um estudo com tempo de duração inferior a dois anos, associado ainda à impossibilidade de alguns pacientes com leucemias crônicas de participar da pesquisa por problemas logísticos, como o de transporte para realização do teste da permeabilidade intestinal, não foi possível obter o número amostral indicado pelo programa. O estudo foi concluído com o número total de 20 pacientes.

Inicialmente, fora postulado que o aumento da permeabilidade intestinal nos pacientes leucêmicos estava relacionado, apenas, aos efeitos da quimioterapia, pois, sabidamente, esta modalidade terapêutica afeta diretamente a divisão dos enterócitos⁶³. Tal hipótese justificaria as importantes alterações evidenciadas nos testes de permeabilidade intestinal após a terapia de indução e explicaria também a diferença entre estes e os valores obtidos antes do início da terapia⁵². No presente estudo, os pacientes leucêmicos apresentaram valores da mediana da relação entre as taxas de excreção de lactulose e manitol mais elevados ($T_{L/M} = 0,019$) quando comparados à mediana dos voluntários sadios ($T_{L/M} = 0,009$), mas não houve significância estatística ($p = 0,244$). Tal achado pode ser justificado pelo tamanho pequeno da amostra e pela grande amplitude dos resultados encontrados.

Blijlevens *et al.* (2004) estudaram a razão entre as taxas de excreção de lactulose e ramnose ($T_{L/R}$) em pacientes com leucemia mielóide aguda e com síndrome mielodiplásica antes e depois da indução quimioterápica e compararam esses resultados com os resultados obtidos no grupo controle. A média dos valores encontrada nos pacientes antes da quimioterapia de indução foi de 0,09, enquanto que a média da $T_{L/R}$ no grupo controle foi de 0,02 ($p < 0,001$)³⁹. Em 1998, Sundström *et al.* compararam o teste da permeabilidade

intestinal em pacientes com leucemia mielóide aguda antes do início da quimioterapia com resultados obtidos de voluntários sadios e observaram valores maiores no primeiro grupo. A mediana da razão entre as taxas de excreção de lactulose e manitol dos pacientes com leucemia mielóide aguda antes do início do tratamento ($T_{LM} = 0,043$) foi significativamente mais elevada ($p = 0,02$) quando comparada a mediana dos controles sadios ($T_{LM} = 0,025$)⁶³. Bow e Meddings (2006) também avaliaram a função de barreira intestinal em pacientes com LMA antes da quimioterapia de indução e constataram que a média da razão lactulose/manitol também se encontrava elevada nesses pacientes aguda antes do início da terapia ($T_{LM} = 0,03$), quando comparada com a média do valor normal considerado pelos autores ($T_{LM} < 0,028$)⁵².

No presente estudo, foi realizada a comparação entre o teste de permeabilidade intestinal nos pacientes com leucemias agudas e nos controles sadios. No primeiro grupo a mediana da razão entre as taxas de excreção de lactulose e manitol foi de 0,034, ao passo que no grupo controle, a mediana foi de 0,009 ($p = 0,069$). Apesar de não ter alcançado significância estatística, é possível que o comportamento da barreira intestinal entre os dois grupos tenha tendência a ser diferente. Esta mesma comparação foi feita exclusivamente com os pacientes com LMA. A mediana entre as taxas de excreção de lactulose e manitol no grupo de pacientes com LMA também apresentava valores mais elevados ($T_{LM} = 0,042$). Quando comparada ao grupo controle ($T_{LM} = 0,009$) o valor de p foi de 0,149. Ao analisar estes resultados, observou-se mais uma vez que a amplitude dos resultados nos dois grupos variou muito. Nos pacientes com LMA, os valores mínimo e máximo foram 0,001 e 0,483, respectivamente, e nos voluntários sadios estes valores variaram de 0,001 a 0,027. Além desta dispersão, é possível também afirmar que ocorreu sobreposição dos resultados, isto é, alguns pacientes com leucemia mielóide aguda apresentam, inicialmente, função de barreira intestinal semelhante aos controles sadios. Vale ainda ressaltar que, quando comparamos os resultados do nosso estudo, do estudo de Blijlevens *et al.* (2004) e do estudo de Bow e Meddings (2006) com os resultados do estudo de Sundström *et al.* (1998), o último autor utilizou uma solução hiperosmolar contendo 10 g de lactulose, o que, segundo Bjarnason *et al.*, poderia causar estresse da barreira da mucosa aumentando a permeação de macromoléculas, ao contrário dos três primeiros estudos que utilizaram solução isosmolar, que não afetaria as junções firmes⁴⁰. Uma mucosa com função de barreira comprometida pela leucemia estaria mais sensível a esse estresse hiperosmolar, o que contribuiria para resultados mais alterados neste estudo.

Segundo a literatura, as leucemias mielóides agudas são aquelas que mais causam lesão intestinal⁵⁰. Neste estudo a lesão de barreira intestinal avaliada pelo teste da

permeabilidade intestinal encontrou valores entre as taxas de excreção de lactulose e manitol maiores nos pacientes com leucemia aguda ($T_{L/M} = 0,034$). Quando comparado com a mediana do grupo de pacientes com leucemias crônicas ($T_{L/M} = 0,007$), o valor de p foi de 0,098, o que poderia ser justificado não apenas pelo pequeno número amostral dos leucêmicos agudos ($n = 16$) e leucêmicos crônicos ($n = 4$), como também pela grande dispersão dos resultados. É pertinente ainda relatar que o valor máximo da $T_{L/M}$ nos pacientes com leucemia crônica foi inferior ao valor máximo encontrado nos voluntários sadios. Em relação à leucemia mielóide aguda, a mediana das taxas de excreção entre a lactulose e manitol neste grupo de pacientes foi ainda maior ($T_{L/M} = 0,042$), mas não foi suficiente para que após tratamento estatístico pudesse se diferenciar dos resultados dos pacientes com leucemia crônica ($p = 0,192$).

As manifestações gastrointestinais estavam presentes em oito pacientes com leucemia. Quando foram comparadas as medianas das taxas de excreção lactulose/manitol entre os pacientes leucêmicos que apresentavam e não apresentavam sintomas gastrointestinais, não houve associação estatística entre os dois grupos ($p = 0,396$). De modo semelhante, os pacientes com leucemias agudas com sintomas gastrointestinais não apresentaram valores diferentes do teste de permeabilidade intestinal quando comparado com aqueles pacientes sem estes sintomas ($p = 0,491$). Isto significa que a presença das manifestações gastrointestinais não determinou valores mais elevados entre as taxas de excreção de lactulose e manitol, pelo menos neste estudo.

De acordo com a literatura, tanto a imunocitopenia como a deficiência imunológica secundária presentes nas leucemias, principalmente nas leucemias mielóides agudas, podem associar-se a invasão bacteriana, reconhecidamente, umas das causas de febre e infecção⁵⁰. Na casuística avaliada, nove pacientes apresentaram febre, mas a presença deste sintoma não se associou a maiores valores no teste da permeabilidade intestinal. Resultado semelhante foi observado no estudo de Sundström *et al.*, quando foi avaliado a relação entre as medianas do $T_{L/M}$ dos pacientes com LMA com febre e os pacientes com LMA sem febre⁶³.

O comportamento de cada açúcar também foi analisado separadamente. Em relação ao manitol, observou-se que as taxas de excreção deste açúcar foram muito semelhantes tanto nos pacientes com leucemias, quanto nos controles sadios, sugerindo que o processo absorptivo poderia estar preservado. Em relação à lactulose, a mediana no grupo de leucêmicos foi duas vezes maior que a mediana no grupo controle, mas a variabilidade destes resultados associada ainda ao número amostral pequeno não permitiram conclusões adicionais. Também foram analisados os resultados de cada açúcar, especificamente, nos pacientes com LMA e

comparado com o grupo controle. Foi constatado também que as taxas de excreção do manitol foram muito semelhantes entre si. Já a mediana das taxas de excreção de lactulose foi três vezes maior no grupo de pacientes com LMA em relação ao grupo controle, mas o valor de p não foi significativo. O fato é que o aumento na permeação da lactulose reflete uma perda da integridade da barreira da mucosa intestinal constituída pelas junções firmes entre as células epiteliais, ao passo que a menor permeação do manitol indica diminuição da área de superfície. É pertinente considerar a possibilidade da existência do infiltrado leucêmico no intestino ou mesmo de reação inflamatória secundária a mesma, justificando alterações da permeação à lactulose de alguns pacientes. Tais achados podem associar-se a desfechos piores, sobretudo sob o ponto de vista infeccioso.

Contudo, a análise separada de cada açúcar pode gerar vieses interpretativos. A associação de dois marcadores se não anula, pelo menos minimiza a interferência de fatores, tais como, tempo de trânsito intestinal, esvaziamento gástrico, degradação bacteriana e excreção tubular renal a que são submetidos estes açúcares. Tal conceito justifica a inclusão um paciente que se apresentava com escórias moderadamente elevadas.

Por fim, o teste de permeabilidade intestinal vem sendo utilizado em alguns centros da Europa e Estado Unidos desde a década de 1980. Contudo, é notória a disparidade dos resultados numéricos. Abaixo, segue tabela que explicita os resultados deste estudo em controles sadios e os compara com resultados de outros estudos também em pacientes sadios (TAB. 13). Isto se deve, em parte, a não uniformidade da técnica. Peters *et al.* (1994) afirmam que os trabalhos publicados sobre permeabilidade intestinal apresentam pouca uniformidade metodológica, tornando as comparações entre os estudos muito difíceis⁶⁶. Esta afirmação implica que, até que a uniformização ocorra, é importante que o pesquisador estabeleça seu próprio controle e o explicita adequadamente em seus métodos e resultados. Presume-se ainda que, pelo menos em parte, as diferenças observadas entre os resultados dos estudos brasileiros e aqueles da literatura possam ser explicadas por diferenças populacionais, bem como fatores ambientais e dietéticos, apesar de ser notória a proximidade dos resultados entre nosso estudo e os estudos de Juby *et al.*, Ukabam e Cooper *et al.* e Catassi *et al.* (TAB. 13).

TABELA 13: Comparação dos resultados do teste da permeabilidade intestinal dos controles sadios deste estudo com os controles sadios da literatura.

ESTUDOS	%L	%M	T _{L/M}	Tempo coleta
Presente estudo	0,09	11,44	0,009	5 horas
Maxton <i>et al.</i> (1986) ⁷⁰	0,39			5 horas
Secondulfo <i>et al.</i> (2001) ⁷¹		28,55		5 horas
Troncone <i>et al.</i> (1992) ⁷²		26,70		6 horas
Sundström <i>et al.</i> (1998) ⁶³			0,025	5 horas
Blijlevens <i>et al.</i> (2004) ³⁹			0,020	5 horas
D’Inca <i>et al.</i> (1999) ⁷³	0,90	25, 70	0,035	5 horas
Juby <i>et al.</i> (1989) ⁶⁷	0,25	16,70	0,015	5 horas
Ukabam e Cooper <i>et al.</i> (1984) ⁶⁸	0,25	16,70	0,015	5 horas
Catassi <i>et al.</i> (1997) ⁶⁹	0,18	18,50	0,014	5 horas

Fonte: Adaptado de Maxton *et al.* (1986)⁷⁰, Secondulfo *et al.* (2001)⁷¹, Troncone *et al.* (1992)⁷², Sundström *et al.* (1998)⁶³, Blijlevens *et al.* (2004)³⁹, D’Inca *et al.* (1999)⁷³, Juby *et al.* (1989)⁶⁷, Ukabam e Cooper *et al.* (1984)⁶⁸, Catassi *et al.* (1997)⁶⁹.

No Brasil, dois autores estudaram a permeabilidade intestinal através da utilização do ⁵¹Cr-EDTA, uma macromolécula que também utiliza a via paracelular como rota de permeação, tal como acontece com a lactulose^{74,75}. Os resultados obtidos também foram diferentes quando comparados aos estudos europeus utilizando o ⁵¹Cr-EDTA. Enquanto que nos dois estudos brasileiros a média da taxa de excreção do ⁵¹Cr-EDTA em urina de 24 horas foi de 3,14%, a média nos outros estudos foi de 1,63%^{43,70}.

Não foram encontrados na literatura artigos que comparassem o comportamento do teste da permeabilidade intestinal nas leucemias em geral, nas leucemias linfocíticas agudas em adultos e nas leucemias crônicas. Apesar de serem poucos os estudos encontrados na literatura que analisaram as alterações intestinais associadas às leucemias em adultos, antes do tratamento quimioterápico, utilizando o teste da permeabilidade intestinal, é possível inferir que os valores destes encontravam-se mais elevados nos leucêmicos quando comparados aos grupos controles. E, embora a maior parte dos estudos tenha buscado inferir sobre o dano causado pela quimioterapia, é possível que a função de barreira intestinal já se encontre diminuída ou, mais especificamente, permeável a antígenos antes da quimioterapia, e que tais alterações possam agir de modo somatório às lesões causadas pelos agentes quimioterápicos. Desse modo, a evidência de alterações de permeabilidade intestinal indicadoras de alteração da barreira mucosa intestinal em pacientes leucêmicos antes do tratamento permitirá avaliar possíveis correlações dessas alterações com o prognóstico e buscar desenvolver intervenções que as minimizem, com eventual impacto sobre os desfechos clínicos.

7 CONCLUSÕES

- A função da barreira intestinal medida por meio do teste da permeabilidade intestinal foi semelhante nos pacientes leucêmicos em geral e nos controles sadios;
- o teste da permeabilidade intestinal nos pacientes com leucemias agudas em geral e nos pacientes com leucemia mielóide aguda não diferiram do teste da permeabilidade intestinal em controles sadios, apesar de ter sido constatada uma tendência de comportamento diferente da barreira intestinal, sobretudo no grupo de leucêmicos agudos em geral;
- o teste da permeabilidade intestinal nos pacientes com leucemias agudas não diferiu do teste da permeabilidade intestinal em leucêmicos crônicos, ainda que a mediana tivesse sido cinco vezes maior no primeiro grupo;
- os sintomas gastrointestinais e a febre não interferiram nos valores do teste da permeabilidade intestinal em pacientes leucêmicos em geral e em pacientes com leucemias agudas;
- valores maiores da taxa de excreção da lactulose foram encontrados nos pacientes leucêmicos agudos e a taxa de excreção do manitol apresentou valores muito próximos em todos os grupos, sugerindo que resultados anormais possam ser secundários a maior comprometimento da função de barreira exercida pelas junções firmes, contudo, maior confiabilidade é garantida por meio da análise da relação entre as taxas de excreção dos dois açúcares, por minimizar a influência de fatores que possam afetar igualmente ambas as substâncias.

8 PROPOSTAS DE ESTUDO

- Dar continuidade ao estudo, no sentido de aumentar a casuística e trabalhar com uma amostra que tenha distribuição gaussiana;
- avaliar melhor a provável diminuição da função da barreira intestinal, sobretudo nos pacientes com leucemia mielóide aguda antes da quimioterapia de indução, no sentido de buscar ações que minimizem os efeitos indesejáveis provocados pela doença e pelo tratamento no trato gastrointestinal.

REFERÊNCIAS

1. Xavier SG, Paes CA, Carvalho TB. Investigação laboratorial do paciente com leucemia aguda. In: Erichsen ES, Viana LG, Faria RMD, Santos SME. Medicina Laboratorial para o Clínico. Belo Horizonte: Coopmed; 2009. p. 325-41.
2. Lorenzi TF. Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. Cap. 4. Patologia dos leucócitos; p. 295-498.
3. Hutchison RE, Davey FR. Distúrbios leucocitários. In: Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20. ed. São Paulo: Manole; 2008. p. 681-723.
4. Instituto Nacional do Câncer [homepage]. Brasil: Ministério da Saúde; c1997 [acesso em 15 jul. 2011]. Disponível em <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/definicao>.
5. Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 1999 Apr 29;340(17):1330-40.
6. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 1999 Jul 15;341(3):164-72.
7. Perrotti D, Jamieson C, Goldman J, Skorski T. Chronic myeloid leukemia: mechanisms of blastic transformation. J Clin Invest 2010 Jul 1;120(7):2254-64.
8. Lichtman MA, Liesveld JL. Chronic myelogenous leukemia and related disorders. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps, TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams Hematology. 7th ed. New York: Mc GrawHill; 2006. p. 1237-94.
9. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, *et al.* Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. Blood. 2007 Aug 15;110(4):1092-7.
10. Vardiman J, Harris N, Brunning R. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood 2002 Oct 1;100(7):2292-302.
11. Arlin ZA, Silver RT, Bennett JM. Blastic phase of chronic myeloid leukemia (bICLM): a proposal for standardization of diagnostics and response criteria. Leukemia 1990 Nov;4(11):755-7.
12. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, Kantarjian HM. Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy. Ann Intern Med 1999 Aug 3;131(3):207-19.
13. Rosenthal S, Canellos GP, Whang-Peng J, Gralnick HR. Blast crisis of chronic granulocytic leukemia: morphologic variants and therapeutic implications. Am J Med 1977 Oct;63(4):542-7.
14. Yen CC, Liu JH, Wang WS, Fan FS, Chiou TJ, Tai CJ, *et al.* Immunophenotypic and genotypic characteristics of chronic myelogenous leukemia in blast crisis. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei) 2000 Nov;63(11):785-91.
15. Hamerschlak N. Leucemia mielóide crônica. In: Hamerschlak N. Manual de Hematologia. 1. ed. São Paulo: Manole; 2010. p. 163-9.

16. Appelbaum FR. The acute leukemias. In: Goldman L, Ausiello D. Cecil Medicine. 23rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p. 1390-7.
17. Melo JV, Gordon DE, Cross NCP, Goldman JM. The ABL-BCR fusion gene is expressed in chronic myeloid leukemia. *Blood* 1993 Jan 1;81(1):158-65.
18. Lee SJ. Chronic Myelogenous Leukaemia. *Br J Haematol* 2000 Dec;111(4):993-1009.
19. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, *et al.* Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001 Apr 5;344(14):1031-7.
20. Lowenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999 Sep 30;341(14):1051-1062.
21. Liesveld JL, Lichtman MA. Acute Myelogenous Leukemia. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams Hematology. 7th ed. New York: Mc GrawHill; 2006. p. 1183-236.
22. Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, Hankey BF, Miller BA, Clegg L, *et al.* SEER Cancer statistics review, 1975-2000. MD National Cancer Institute. Bethesda: 2003 [acesso em 15 jul. 2011]. Disponível em: <http://seer.cancer.gov/csr/1975-2000>.
23. Rodrigues M, Miyaji SC. Leucemia Mielóide Aguda. In: Hamerschlak N. Manual de Hematologia. São Paulo: Manole; 2010. p. 171-95.
24. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, *et al.* Proposals for the classification of acute leukemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976 Aug;33(4):451-8.
25. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, *et al.* Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French American British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985 Oct 1;103(4):620-5.
26. Robak T, Wierzbowska A. Current and emerging therapies for acute myeloid leukemia. *Clin Ther* 2009;31(2):2349-70.
27. Pui CH. Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams Hematology. 7th ed. New York: Mc GrawHill; 2006. p. 1321-42.
28. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2004 Apr 8;350(15):1535-48.
29. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization classification of tumors: pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. *Ann Oncol* 2002 Mar;13(3):490-1.
30. Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2006 Jan 12;354(2):166-78.
31. Kipps TJ. Chronic Lymphocytic Leukemia. In: Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT. Williams Hematology. 7th ed. New York: Mc GrawHill; 2006. p. 1343-84.
32. Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, O'Brien S, Kantarjian H, Robertson L, Lerner S, *et al.* Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine. *Ann Intern Med* 1998 Oct 1;129(7):559-66.

33. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, *et al.* Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. *J Clin Pathol* 1989 Jun;42(6):567-84.
34. Frewin R, Turner D, Tighe M, Davis S, Rule S, Johnson S. Combination therapy with fludarabine and cyclophosphamide as salvage treatment in lymphoproliferative disorders. *Br J Haematol* 1999 Mar;104(3):612-3.
35. Faderl S, Thomas DA, O'Brien S, Garcia-Manero G, Kantarjian HM, Giles FJ, *et al.* Experience with alemtuzumab plus rituximab in patients with relapsed and refractory lymphoid malignancies. *Blood* 2003 May 1;101(9):3413-15.
36. Dreger P, Montserrat E. Autologous and allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2002 Jun;16(6):985-92.
37. Ferrari TCA. Manifestações multissistêmicas e trato gastrointestinal: reumatológicas, hematológicas, dermatológicas, endocrinológicas e alérgicas. In: Castro LP, Coelho LGV. *Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi; 2004. v. 2. p. 421-44.
38. Hunter TB, Bjelland JC. Gastrointestinal complications of leukemia and its treatment. *Am J Roentgenol* 1984 Mar 1;142(3):513-8.
39. Blijlevens NMA, V'ant Land B, Donnelly JP, M'Rabet L, Pauw BE. Measuring mucosal damage induced by cytotoxic therapy. *Support Care Cancer* 2004 Apr;12(4):227-33.
40. Bjarnason I, Macpherson A, Hollander D. Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 1995 May; 108(5):1566-81.
41. Fordtran JS, Rector FC, Locklear TW, Ewton MF. Water and solute movement in the small intestine of patients with sprue. *J Clin Invest* 1967 Mar; 46(3):287-98.
42. Menzies IS. Absorption of intact oligosaccharide in health and disease. *Biochem Soc Trans* 1974; 2:1040-1046.
43. Travis S, Menzies I. Intestinal permeability: functional assessment and significance. *Clin Sci* 1992 May;82(5):471-88.
44. Vilela EG, Ferrari MLA, Torres HOG, Cunha AS. Estudo da permeabilidade intestinal em afecções digestivas. In: Savassi-Rocha PR, Coelho LGV, Silva RG, Ferrari TCA. *Tópicos em Gastroenterologia. Avanços em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. v. 15. p. 27-47.
45. Derikx JPM, Luyer MDP, Heineman E, Buurman WA. Non-invasive markers of gut wall integrity in health and disease. *World J Gastroenterol* 2010 Nov 14;16(42):5272-9.
46. Vilela EG, Ferrari ML, Torres HOG, Martins FP, Goulart EMA, Lima AS, *et al.* Intestinal permeability and antigliadin antibody test for monitoring adult patients with celiac disease. *Dig Dis Sci* 2007 May;52(5):1304-9.
47. Davis GR, Santa Ana CA, Morawski SG, Fordtran JS. Permeability characteristics of human jejunum, ileum, proximal colon and distal colon: results of potential difference measurements and unidirectional fluxes. *Gastroenterology* 1982 Oct;83(4):844-50.
48. DeMeo MT, Mutlu EA, Keshavarzian A, Tobin MC. Intestinal permeation and gastrointestinal disease. *J Clin Gastroenterol* 2002 Apr;34(4):385-96.

49. Vilela EG, Torres HOG, Ferrari MLA, Lima AS, Cunha AS. Gut permeability to lactulose and mannitol differs in treated Crohn's disease and celiac disease patients and healthy subjects. *Braz J Med Biol Res* 2008 Dec;41(12):1105-9.
50. Weber JR, Ryan JC. Effects on the gut of systemic disease and other extraintestinal conditions. In: Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: pathophysiology, diagnosis and management*. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 1998. p. 411-38.
51. Melichar B, Kohout P, Brátová M, Solichová D, Králícková P, Zadák Z. Intestinal permeability in patients with chemotherapy-induced stomatitis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001 May;127(5):314-8.
52. Bow EJ, Meddings JB. Intestinal mucosal dysfunction and infection during remission-induction therapy for acute myeloid leukaemia. *Leukemia* 2006 Dec;20(12):2087-92.
53. Blijlevens NM, Donnelly JP, de Pauw BE. Prospective evaluation of gut mucosal barrier injury following various myeloablative regimens for haematopoietic stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant* 2005 Apr;35(7):707-11.
54. Daenen S, Muskiet FA, Marrink J, Halie MR. Aggressive chemotherapy for acute leukaemia frequently causes intestinal protein leakage. *Eur J Cancer* 1991 May;27(5):552-6.
55. Elting LS, Cooksley C, Chambers M, Cantor SB, Manzullo E, Rubenstein EB. The burdens of cancer therapy. Clinical and economic outcomes of chemotherapy-induced mucositis. *Cancer* 2003 Oct 1;98(7):1531-9.
56. Iwamoto M, Yamamoto H, Miyata T, Sunada K, Sugano K, Ozawa K. Leukemic cell infiltration into the large intestine in a patient with acute myelogenous leukemia. *Gastrointestinal Endoscopy* 2008 Feb;67(2):353-4.
57. Hernandez-Magro PM, Zavala MJ, Saenz EV, Morales EG, Rubio MB. Lower gastrointestinal bleeding secondary to colonic leukaemic infiltration as the first clinical manifestation of leukaemia. *Colorectal Dis* 2008 Jul;10(6):626-7.
58. Smith GM, Chesner IM, Asquith P, Leyland MJ. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *J Clin Pathol* 1990 Jan;43(1):57-9.
59. Thelml H, Ziegler-Heitbrock HW. Management of CLL and allied disorders with reference to their immunology and proliferation kinetics. *Recent Results Cancer Res*, 1984;93:240-58.
60. Prolla JC, Kirsner JB. The gastrointestinal lesions and complications of the leukemias. *Ann Intern Med* 1964 Dec 1;61(6):1084-103.
61. Cornes JS, Jones TG, Fisher GB. Leukaemic lesions of the gastrointestinal tract. *J Clin Pathol* 1962 Jul;15(4):305-13.
62. Bow EJ, Loewen R, Cheang MS, Shore TB, Rubinger M, Schacter B. Cytotoxic therapy-induced D-xylose malabsorption and invasive infection during remission-induction therapy for acute myeloid leukemia in adults. *J Clin Oncol* 1997 Jun;15(6):2254-61.
63. Sundström GM, Wahlin A, Nordin-Anderson I, Suhr OB. Intestinal permeability in patients with acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol* 1998 Oct;61(4):250-4.
64. Matthews JB, Smith JA, Tally KJ, Menconi MJ, Nguyen H, Fink MP. Chemical hypoxia increases junctional permeability and activates electrogenic ion transport in human intestinal epithelial monolayers. *Surgery* 1994 Aug;116(2):150-7.

65. Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, *et al.* Epi Info. Version 6: a word processing, database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers. Atlanta: Centers of Disease Control and Prevention; 1994.
66. Peeters M, Hiele M, Ghoois Y, Huysmans V, Geboes K, Vantrappen G, *et al.* Test conditions greatly influence permeation of water soluble molecules through the intestinal mucosa: need for standardization. *Gut* 1994 Oct;35(10):1404-8.
67. Juby LD, Rothwell J, Axon ATR. Lactulose/Mannitol test: na ideal screen for celiac disease. *Gastroenterology*, 1989;96(1):79-85.
68. Ukabam SO, Cooper BT. Small intestinal permeability to mannitol, lactulose and polyethylene glycol 400 in celiac disease. *Dig Dis Sci*, 1984;29(9):809-816.
69. Catassi C, Fabiani E, Räscht IM, Bonucci A, Dotti M, Coppa GV, *et al.* Is the sugar intestinal permeability test a reliable investigation for coeliac disease screening? *Gut* 1997 Feb; 40(2):215-7.
70. Maxton DG, Bjarnason I, Reynolds AP, Catt SD, Peters TJ, Menzies IS. Lactulose, ⁵¹Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate, L-rhamnose and polyethyleneglycol 400 [corrected] as probe markers for assessment in vivo of human intestinal permeability. *Clin Sci (Lond)*. 1986 Jul;71(1):71-80.
71. Secondulfo M, de Magistris L, Fiandra R, Caserta L, Belletta M, Tartaglione MT, *et al.* Intestinal permeability in Crohn's disease patients and their first degree relatives. *Dig Liver Dis*. 2001 Nov;33(8):680-5.
72. Troncone R, Starita A, Coletta S, Mayer M, Greco L. Antigliadin antibody, D-xylose, and cellobiose/mannitol permeability tests as indicators of mucosal damage in children with coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 1992 Aug;27(8):703-6.
73. D'Inca R, Di Leo V, Corrao G, Martines D, D'Odorico A, Mestriner C, *et al.* Intestinal permeability test as a predictor of clinical course in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 1999 Oct;94(10):2956-60.
74. Troncon LE, Pires CR, Kraus OA, Iazigi N. [Assessment of intestinal permeability using ⁵¹CrEDTA: clinical usefulness in the detection of small bowel epithelial structural abnormalities]. *Arq Gastroenterol*. 1996 Apr-Jun;33(2):66-73.
75. Torres HOG. Avaliação da permeabilidade intestinal em pacientes submetidos à quimioterapia para leucemia mielóide aguda do adulto através do ⁵¹Cr-EDTA. Belo Horizonte. Dissertação [Mestrado em Gastroenterologia] - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; 1997. 102p.

ANEXO III
Banco de dados dos pacientes leucêmicos

Paciente	Sexo	Raça	Idade	Leucemia	Global Hg	Plaqueta	Úrêia	Creatinina	AST	ALT	FA	GGT	BT/BD	Comorb.	Sint. Gastroint.	Febre no dia do teste	Hemocultura	Medicação em uso	Observações	Lactulose	Manitol	R L/M
1	M	Pardo	54	LLA	1600	7,8	29000	17	0,73	44	62	386	717	não	não	não	negativo	tiabendazol, mebendazol, alopurinol, SF0,9%	dor nas articulações	0,06%	5,0%	0,012
2	M	Pardo	29	LMC	178100	14,1	196000	39	1,46	53	64	101	73	0,8/0,4	HAS	não	negativo	hidroclorotiazida	Registro dos resultados laboratoriais: cinco dias após teste permeabilidade	0,09%	11,2%	0,008
3	F	Parda	37	LMA	11300	7,8	56000	17,9	0,58	24	45	190	307	0,6/0,5	não	fezes líquidas, sem edemas	sim	negativo, mas em uso de cefepime	Cefepime há uma semana, dipirona, meropenem, ondansetrona, anfotericina B, tramadosol, SF 0,9%	0,01%	14,4%	0,0007
4	M	Branco	28	LMC	432000	11	990000 (presença de macroplaquetas)	20	1,18	37	36	113	56	não	não	sim	Não realizada	Iniciou hydra no mesmo dia do teste	0,42%	21,7%	0,019	
5	F	Parda	28	LMC	134700	12,8	377000	21	0,73	32	50	83	214	0,2/0,1	não	náuseas, vômitos ocasionais, diarreia pastosa, fadiga após ingestão medicação. Abdome doloroso à palpação	sim	Não realizada	dipirona, onobussetrona	0,01%	11,6%	0,0008
6	M	Pardo	18	LMA	1200	7,4	40000	25,2	0,78	14,7	12,5	135	13	0,2/0,1	retardo desenvolvimento puberal, cirurgia otorrinolaringológica recente, PNM de repetição	fadiga, desconforto abdominal	sim	negativo, mas em uso de cefepime	Cefepime, uso há dois dias, alopurinol	0,97%	11,8%	0,082
7	F	Parda	69	LLA	74400	7,2	7000	38	0,63	26	25	143	125	previamente hipertensa	não	não	positiva para Klebsiella pneumoniae	uso de prednisona 40 mg na admissão devido leucocitose	Registro dos resultados laboratoriais: um dia após teste permeabilidade	0,35%	1,34%	0,26
8	F	Parda	42	LLA	5900	6,6	18000	10	0,69	31	32	54	103	0,7/0,5	não	não	sim	não realizada	Cefepime, uso há dois dias, alopurinol, mebendazol, tiabendazol, sulfametoxazol-trimetoprim	0,22%	11,3%	0,019

Paciente	Sexo	Raça	Idade	Leucemia Global	Hg	Plaqueta	Uréia	Creatinina	AST	ALT	FA	GGT	BT/BD	Comorb.	Sint. Gastroint.	Febre no dia do teste	Hemocultura	Medicação em uso	Observações	Lactulose	Manitol	R L/M	
9	M	Branco	55	LMA	47090	6,5	27000	27,7	0,82	18	31,5	152,5	88,4	0,4/0,1	mielofibrose há 19 anos	esplenomegalia volumosa, desconforto abdominal	não	não realizada	Hydrea há uma semana, tramadol, alopurinol		0,23%	5,5%	0,042
10	M	Pardo	27	LMA	76020	12,2	27000	19	0,97	24	40	72	20	0,6/0,2	não	não	Staphylococcus epidermidis (em duas amostras)	iniciou QT (Ara-C) na noite anterior ao teste permeabilidade		0,35%	6,2%	0,056	
11	F	Parda	51	LMA	1290	9,3	276000	20	0,57	42	73	96	72	0,4/0,3	não	abdome globoso, difícil palpação	febre na admissão, em uso de cefepime há sete dias	não realizada	Cefepime, medendazol, ivermectina, alopurinol.		0,47%	16,8%	0,028
12	M	Pardo	65	LMA	7690	7,1	25000	134	2,36	109	163	285	430	0,5/0,4	IRA	dor lombar, massa abdominal. Paciente não evacua há vários dias	febre na admissão, mas em uso de meropenem e vancomicina há seis dias	negativa	meropenem, vancomicina, enalapril, morfina(2 dias antes do teste), iniciou QT na noite anterior ao teste de permeabilidade		0,29%	0,6%	0,483
13	F	Parda	67	LMA	2250	6,5	34000	23	0,65	26	16,7	158,5	18,7	1,1/0,1	não	não	não	não realizada	não, somente hidratação (mas fez uso de alopurinol do dia 31/03 a 04/04)		0,58%	11,7%	0,049
14	M	Pardo	52	LMA	14340	7,9	366000	14	0,77	18,4	26,7	92	111,5	0,2/0,1	etilista e tabagista frequente, mas sem uso na última semana	diarréia, mal estar em geral	sim	negativo	Vancomicina, Meropenem, Cefepime há dois dias		0,01%	6,0%	0,0016
15	F	Negra	81	LLC	150300	9,3	165000	58,7	1,16	28	30,3	85,3		não	não	não	não realizada	não		0,04%	7,5%	0,0053	
16	F	Branca	62	LMA	135700	6,3	77000	42,7	1,11	22,6	26,9	70,8	54,4		HAS e DM II	não	não	negativa	enalapril, propranolol, glibenclâmida, metformina, alopurinol, ondansetrona		0,58%	9,9%	0,098
17	F	Branca	55	LLA	119700	6,7	12000	44,5	1,04	33	38,5	67,6	40,6	1,0/0,1	HAS	não	não	não realizada	Propranolol, enalapril, metoclopramida, alopurinol, omeprazol, perdisona (devido leucocitose), atrovent, clorexidina bucal		0,58%	14,8%	0,039
18	F	Branca	46	LMA	7000	6,5	224000	32	0,7	13,4	24,6		48,5	0,2/0,1	DM II	não	não	não realizada	não		0,09%	15,8%	0,0056
19	M	Branco	27	LMA	1400	9	54000	84,8	1,48	88,3	278	197,6	246,7	1,0/0,6	suspeita de cirrose aguda, mas resultado negativo	desconforto abdominal	sim	negativo	antibiótico		0,04%	7,6%	0,0052
20	F	Branca	50	LLA	64000	10,3	24000	31,3	0,74	26,5	33,8	59		não	não	não	negativo	cefepime, clindamicina, alopurinol		0,05%	4,8%	0,01	

ANEXO IV
Banco de dados dos controles sadio

Paciente	Lactulose	Manitol	R L/M
1	0,48%	18,0%	0,026
2	0,016%	13,6%	0,0011
3	0,08%	13,2%	0,006
4	0,024%	14,8%	0,0016
5	0,14%	16,1%	0,0087
6	0,08%	9,0%	0,0089
7	0,27%	10,0%	0,027
8	0,04%	4,7%	0,0085
9	0,19%	8,2%	0,0231
10	0,09%	6,8%	0,0132

ANEXO V**Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP)**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

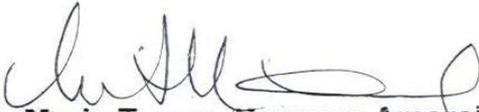
Parecer nº. ETIC 0079.0.203.000-11

**Interessado(a): Prof. Eduardo Garcia Vilela
Departamento de Clínica Médica
Faculdade de Medicina - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 06 de maio de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Estudo da permeabilidade intestinal em pacientes leucêmicos antes da quimioterapia de indução"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


**Prof. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

ANEXO VI

Folha de aprovação da defesa da dissertação



**FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, composta pelos Professores Doutores Eduardo Garcia Vilela, Henrique Oswaldo Gama Torres, Benigna Maria de Oliveira e José Otávio do Amaral Corrêa, aprovou a defesa da dissertação intitulada: **“ESTUDO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL EM PACIENTES LEUCÊMICOS ANTES DA QUIMIOTERAPIA”**, apresentada pela mestranda **JULIANA BROVINI LEITE**, para obtenção do título de Mestre em Saúde do Adulto, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto – área de concentração em Ciências Aplicadas ao Aparelho Digestivo, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 16 de fevereiro de 2012.

Prof. Eduardo Garcia Vilela
Orientador

Prof. Henrique Oswaldo Gama Torres
Coorientador

Profa. Benigna Maria de Oliveira

Prof. José Otávio do Amaral Corrêa

ANEXO VII

Ata da defesa da dissertação



FACULDADE DE MEDICINA
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO
 Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533
 Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100
 Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de **JULIANA BROVINI LEITE**, nº de registro 2010656053. Às oito horas do dia **dezesseis de fevereiro de 2012**, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG a Comissão Examinadora de dissertação aprovada pelo Colegiado do Programa para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: **“ESTUDO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL EM PACIENTES LEUCÊMICOS ANTES DA QUIMIOTERAPIA”**, requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto – área de concentração em Ciências Aplicadas ao Aparelho Digestivo, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Eduardo Garcia Vilela, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do trabalho final, passou a palavra à candidata para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público para julgamento e expedição do resultado definitivo. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Eduardo Garcia Vilela / orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Prof. Henrique Oswaldo Gama Torres / coorientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Profa. Benigna Maria de Oliveira	Instituição: UFMG	Indicação: <u>APROVADA</u>
Prof. José Otávio do Amaral Corrêa	Instituição: UFJF	Indicação: <u>APROVADA</u>

Pelas indicações, a candidata foi considerada APROVADA

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 16 de fevereiro de 2012.

Prof. Eduardo Garcia Vilela / orientador [Assinatura]

Prof. Henrique Oswaldo Gama / coorientador [Assinatura]

Profa. Benigna Maria de Oliveira [Assinatura]

Prof. José Otávio do Amaral Corrêa [Assinatura]

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari/Coordenadora [Assinatura]

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador

Profª Teresa Cristina de Abreu Ferrari
 Coord. PG. em Ciências Aplicadas
 à Saúde do Adulto
 Faculdade de Medicina / UFMG