

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

**ESTUDO DA MEDIDA DO VOLUME DE FLUXO DA ARTÉRIA
MESENTÉRICA SUPERIOR PELO DOPPLER E DO TESTE DA
PERMEABILIDADE INTESTINAL NA AVALIAÇÃO DA DOENÇA DE
CROHN EM ATIVIDADE E REMISSÃO**

FABIANA PAIVA MARTINS

BELO HORIZONTE

2010

FABIANA PAIVA MARTINS

**ESTUDO DA MEDIDA DO VOLUME DE FLUXO DA ARTÉRIA
MESENTÉRICA SUPERIOR PELO DOPPLER E DO TESTE DA
PERMEABILIDADE INTESTINAL NA AVALIAÇÃO DA DOENÇA DE
CROHN EM ATIVIDADE E REMISSÃO**

Dissertação apresentada ao 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 UFMG, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Aloísio Sales da Cunha
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo Garcia Vilela

**FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
BELO HORIZONTE**

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR: Prof. Ronaldo Tadêu Pena

VICE-REITOR: Prof^ª. Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitoria de Pós-Graduação

Prof^ª. Elisabeth Ribeiro da Silva

Pró-Reitoria de Pesquisa

Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

FACULDADE DE MEDICINA

DIRETOR: Prof. Francisco José Penna

VICE-DIRETOR: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Centro de Pós-Graduação:

COORDENADOR: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

SUBCOORDENADOR: Prof. Joel Alves Lamounier

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA: Prof. José Carlos Bruno da Silveira

Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

COORDENADOR: Prof^ª. Teresa Cristina Abreu Ferrari

SUBCOORDENADOR: Prof^ª. Valéria Maria de Azeredo Passos

Colegiado de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto**REPRESENTANTES DOCENTES**

Prof. Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Prof. Nilton Alves de Rezende

Prof^ª. Suely Meireles Rezende

Prof^ª. Valéria Maria de Azeredo Passos

REPRESENTANTE DISCENTE

Elizabete Rosária de Miranda

TRABALHO REALIZADO COM O SUPORTE FINANCEIRO DAS INSTITUIÇÕES

- CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior

- FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação ao meu pai, pelo exemplo;

À minha mãe, pelo amor e dedicação;

Ao meu marido, pelo carinho e apoio incondicionais

E aos meus filhos, por serem fonte de inspiração e
motivação para seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Aloísio Sales da Cunha, orientador e mestre, pela oportunidade de me iniciar nos caminhos da pesquisa, pelo apoio e incentivo e pelas inestimáveis contribuições que em muito enriqueceram o trabalho.

Ao Prof. Eduardo Garcia Vilela, que me ajudou a desvendar os mistérios da permeabilidade intestinal.

À Prof^a. Maria de Lourdes Abreu Ferrari e demais médicos do Ambulatório de Intestino do HCUFG, que gentilmente me acolheram, ajudando no recrutamento dos pacientes para o estudo e aumentando o meu conhecimento sobre doença de Crohn.

Aos pacientes do Ambulatório de Intestino do HCUFG, que contribuíram com o seu tempo e suas histórias para que esse trabalho fosse possível.

Aos membros do Grupo de Estudos da Barreira Gastrointestinal, em especial à bioquímica Juliana Brovini Leite às acadêmicas Marcela Menezes Andrade e Paloma Maciel Araújo, pela disponibilidade e dedicação na realização dos testes de permeabilidade intestinal.

Ao Instituto Hermes Pardini, por tão prontamente ceder espaço e equipamento para a realização dos exames de Doppler da artéria mesentérica superior.

Aos professores do programa de pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto, em especial à Prof^a. Teresa Cristina de Abreu Ferrari, por sua contribuição para minha formação acadêmica e ensinamentos essenciais para a realização desse trabalho.

Ao Prof. Eugênio Goulart Andrade, por sua disponibilidade e valiosas orientações para a análise estatística dos resultados do estudo.

A todos os amigos que estiveram ao meu lado neste período, em especial à minha irmã, Gabriela Paiva Martins, por seu incentivo, apoio e disponibilidade, que tanto contribuíram para que eu pudesse me dedicar a esse trabalho.

EPÍGRAFE

“Todo caminho da gente é resvaloso.
Mas também, cair não prejudica demais –
A gente levanta, a gente sobe, a gente volta ...
O correr da vida embrulha tudo, a vida é assim:
esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa,
sossega e depois inquieta.
O que ela quer da gente é coragem.”

João Guimarães Rosa

RESUMO

A doença de Crohn (DC) é caracterizada por inflamação crônica, de caráter recorrente, na qual períodos de atividade se interpõem a períodos de remissão. A diminuição da integridade da barreira mucosa intestinal faz parte da etiopatogênese da doença, permitindo a apresentação de antígenos ao sistema imune e determinando o início ou a manutenção do processo inflamatório. Além disso, alterações vasculares caracterizadas por neovascularização, congestão e diminuição da resistência ao fluxo sanguíneo também são evidentes. A detecção de atividade inflamatória, fundamental para o tratamento, é muitas vezes difícil. O objetivo desse estudo é avaliar a medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior (AMS) pelo Doppler e o teste da permeabilidade intestinal em pacientes com DC em atividade e remissão. Foram incluídos 40 pacientes, que se submeteram aos dois testes e foram divididos, de acordo com os critérios do Índice de Atividade da Doença de Crohn (CDAI), em dois grupos: grupo 1 – 28 pacientes com DC em remissão e grupo 2 – 12 pacientes com DC em atividade. As médias do volume de fluxo da AMS foram significativamente maiores nos pacientes com DC em atividade quando comparados aos pacientes em remissão (626ml/min e 376ml/min, respectivamente; $p=0,001$), assim como as médias da relação entre as taxas de excreção urinária de lactulose e manitol ($T_{L/M}$) (0,083 e 0,027, respectivamente; $p=0,02$). A medida do volume de fluxo da AMS apresentou sensibilidade de 83% e especificidade de 82%, para o teste da permeabilidade intestinal, esses índices foram de 100% e 39%, respectivamente. O índice de concordância entre os dois exames foi de 0,37. Assim, pode-se concluir que pacientes com DC em atividade apresentaram aumento do volume de fluxo da AMS e da $T_{L/M}$ quando comparados aos pacientes em remissão; resultados

alterados da medida de fluxo da AMS pelo Doppler e do teste da permeabilidade intestinal se associaram com a atividade da DC; a medida do volume de fluxo da AMS pelo Doppler apresentou bom desempenho na avaliação da atividade inflamatória e o teste da permeabilidade intestinal apresentou alta sensibilidade, mas baixa especificidade para o diagnóstico de atividade em pacientes com DC, tomando-se por base a avaliação pelo CDAI.

ABSTRACT

Crohn's disease (CD) is a condition characterized by chronic relapsing inflammation, with remission periods disrupted by periods of disease activity. Increased gut permeability plays an important role in disease etiopathogenesis, allowing antigen presentation to immune system and thus triggering or maintaining inflammatory process. Vascular changes are also evident, including neovascularization, congestion and reduced vascular resistance to blood flow. Assessment of disease activity is a major clinical problem, which has implications for the treatment and the patient. The aim of this study is to evaluate measurement of superior mesenteric artery (SMA) blood flow with Doppler ultrasound (US) and permeability intestinal test in CD patients in activity and remission. Forty patients were submitted to both tests and separated in two groups, according Crohn's Disease Activity Index (CDAI): 28 patients with quiescent disease made up group 1 and 12 patients with active disease made up group 2. In group 2, the flow volume values were significantly higher than those in group 1 (626ml/min *versus* 376ml/min; $p=0,001$) as were lactulose to manitol urinary excretion ratio (L/MR) (0,083 *versus* 0,27; $p=0,02$). SMA flow volume has a sensitivity of 83% and a specificity of 82% for the diagnosis of disease activity. For intestinal permeability test, these indexes were 100% and 39%, respectively. The Kappa agreement index of both exams were 0,37. Our results suggest that patients with active CD had increased SMA flow volume and L/MR than patients in remission; abnormal results of SMA flow volume and intestinal permeability test were associated with CD activity; SMA flow volume had a good performance in assessment of disease activity and intestinal permeability test had high sensibility but low specificity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A – idade

A1 – idade inferior a 40 anos

A2 – idade superior a 40 anos

AMS – artéria mesentérica superior.

B – comportamento

B1 – não penetrante, não estenosante

B2 – estenosante

B3 – penetrante

CDAI – índice de atividade da doença de Crohn

Da – Dáltons

DC – doença de Crohn

⁵¹Cr-EDTA – etilenodiaminotetraacetato marcado com cromo radioativo

HCUFMG – Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

HPLC – cromatografia líquida de alta performance

L – localização

L1 – íleo terminal

L2 – cólon

L3 – íleo e cólon

L4 – trato gastrointestinal superior

PCR – proteína C reativa

PEG – Polietilenoglicol

RM – ressonância magnética

TC – tomografia computadorizada

⁹⁹Tc-DTPA – ⁹⁹tecnécio-dietilenetriaminopente-acetato

T_{L/M} – relação entre as taxas de excreção urinária da lactulose e do manitol

US – ultrassom

VHS – velocidade de hemossedimentação

LISTA DE TABELAS

<u>Tabela 1.</u> Índice de Atividade da Doença de Crohn (CDAI).....	21
<u>Tabela 2.</u> Medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior pelo Doppler em indivíduos saudáveis.....	26
<u>Tabela 3.</u> Marcadores de permeabilidade intestinal, seus pesos moleculares e taxas de permeação intestinal em indivíduos sadios em amostras de urina de 5 horas.....	34
<u>Tabela 4.</u> Classificação de Viena da Doença de Crohn.....	42
<u>Tabela 5.</u> Resultados da avaliação da classificação de Viena nos grupos de pacientes com doença de Crohn em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2).....	52
<u>Tabela 6.</u> Resultados da avaliação do PCR e do ultrassom abdominal nos grupos de pacientes com doença de Crohn em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2).....	53
<u>Tabela 7.</u> Resultados da comparação do volume de fluxo da artéria mesentérica superior nos pacientes com DC em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2).....	53
<u>Tabela 8.</u> Resultados da comparação do teste da permeabilidade intestinal nos pacientes com doença de Crohn em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2).....	55
<u>Tabela 9.</u> Desempenho da medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior quando comparada ao CDAI.....	57
<u>Tabela 10.</u> Desempenho do teste da permeabilidade intestinal quando comparado ao CDAI.....	58

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura 1.</u> Desenho esquemático que ilustra a teoria de vias de permeação diferentes e a via única de permeação utilizando as junções firmes.....	31
<u>Figura 2.</u> Fluxograma do processo de inclusão dos pacientes no estudo.....	44
<u>Figura 3.</u> Espectro de fluxo da artéria mesentérica superior em paciente com volume de fluxo normal.....	46
<u>Figura 4.</u> Espectro de fluxo da artéria mesentérica superior em paciente com volume de fluxo aumentado.....	47
<u>Figura 5.</u> Cromatograma representando a curva correspondente às taxas de excreção urinária da lactulose e do manitol.....	49
<u>Figura 6.</u> Boxplot da comparação do volume de fluxo da artéria mesentérica superior nos pacientes com DC em remissão e em atividade.....	54
<u>Figura 7.</u> Boxplot da comparação do teste da permeabilidade intestinal nos pacientes com doença de Crohn em remissão e em atividade.....	55
<u>Figura 8.</u> Curva ROC da medida do volume de fluxo da artéria mesentérica Superior.....	56
<u>Figura 9.</u> Curva ROC do teste da permeabilidade intestinal.....	57

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	16
1.1 – Doença de Crohn: conceito e epidemiologia.....	16
1.2 – Etiologia e patogênese.....	17
1.3 – Diagnóstico e determinação da atividade da doença.....	18
2 – REVISÃO DA LITERATURA.....	23
2.1 – Medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior pelo Doppler.....	23
2.1.1 – O efeito Doppler.....	23
2.1.2 – Doppler da artéria mesentérica superior.....	24
2.1.3 – Doppler da artéria mesentérica superior e doença de Crohn.....	27
2.2 – Permeabilidade intestinal.....	29
2.2.1 – Conceito e rotas de permeação.....	29
2.2.2 – Avaliação da permeabilidade intestinal.....	32
2.2.3 – Aplicações clínicas.....	35
2.2.4 – Permeabilidade intestinal e doença de Crohn.....	37
3 – OBJETIVOS.....	40
4 – PACIENTES E MÉTODOS.....	41
4.1 – Pacientes.....	41
4.2 – Padrão de referência.....	43
4.3 – Estudo Doppler da artéria mesentérica superior.....	45
4.4 – Teste da permeabilidade intestinal.....	47
4.5 – Análise estatística.....	50
4.6 – Aspectos éticos.....	50

5 – RESULTADOS.....	51
6 – DISCUSSÃO.....	59
6.1 – Avaliação da necessidade dos testes e definição do padrão de referência.....	60
6.2 – Características dos grupos estudados.....	61
6.3 – Determinação do tamanho da amostra.....	62
6.4 – Avaliação dos resultados da proteína C reativa e do ultrassom abdominal.....	63
6.5 – Avaliação do desempenho da medida do volume de fluxo da AMS pelo Doppler.....	64
6.6 – Avaliação do desempenho do teste da permeabilidade intestinal.....	68
6.7 – Avaliação da concordância entre os testes estudados.....	72
6.8 – Determinação da utilidade dos testes.....	72
7 – CONCLUSÕES.....	74
8 – PROPOSTAS DE ESTUDO.....	75
REFERÊNCIAS.....	76
ANEXOS.....	89

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Doença de Crohn: conceito e epidemiologia

A doença de Crohn (DC) é uma afecção caracterizada por inflamação crônica, que pode acometer qualquer parte do tubo digestivo, desde a boca até o ânus, porém com predisposição pela porção final do intestino delgado e porção proximal do intestino grosso. A inflamação geralmente envolve todas as camadas do tubo digestivo, da mucosa à serosa, e apresenta distribuição assimétrica, segmentar e descontínua, com áreas acometidas intercaladas a áreas preservadas e pode ou não ser acompanhada por formação de granulomas. A doença tem caráter recorrente e manifesta-se, mais comumente, por diarreia e dor abdominal, acompanhadas de emagrecimento. Pode estar associada, ainda, a manifestações extra-intestinais, tais como artralgia, esclerite e eritema nodoso. Estenoses e fístulas são complicações frequentes, que não raro demandam tratamento cirúrgico. O tratamento medicamentoso possibilita, na maioria dos casos, o controle da atividade da doença e o alívio dos sintomas, mas não é curativo.

A incidência e a prevalência da DC variam consideravelmente com a localização geográfica, sendo maiores no nordeste da Europa e na América do Norte, com taxas entre 1 e 6 por 100.000 habitantes e 10 e 100 por 100.000 habitantes respectivamente. As taxas são menores na Europa central e sudeste. Na América do Sul, Ásia e África a doença ainda é incomum, mas sua incidência parece estar aumentando. Existem ainda variações étnicas e raciais dentro da mesma área geográfica, sendo que, nos Estados Unidos, a DC é três a oito vezes mais frequente em pessoas de origem judaica quando comparados aos não judeus e duas a cinco vezes mais frequente em pacientes caucasianos quando comparados a afroamericanos¹. No Brasil, a escassez de estudos epidemiológicos dificulta a determinação

da incidência e da prevalência da DC no nosso meio. No entanto, estudos de séries de casos relatando manifestações clínicas da doença mostram que a entidade não é tão pouco frequente quanto se acreditava há alguns anos^{2, 3, 4, 5}.

1.2 – Etiologia e patogênese

Apesar dos grandes avanços observados em diversos aspectos do conhecimento científico sobre a DC, sua etiologia ainda não é completamente compreendida. A doença apresenta uma base genética bem estabelecida e a história familiar talvez seja o maior fator de risco para seu desenvolvimento; a incidência de DC entre parentes de primeiro grau de pacientes é 30 a 100 vezes maior que na população em geral¹. Contudo, a herança genética não está relacionada a desordens genéticas complexas ou traço mendeliano simples. Acredita-se que existem segmentos cromossômicos que são compartilhados por membros de uma mesma família^{6, 7, 8}.

Inúmeras evidências apontam para a hipótese de que um dos principais fatores implicados na patogênese da DC seja a quebra da integridade da mucosa do trato digestivo, permitindo a permeação de antígenos luminiais^{9, 10}. Baseado nos achados histopatológicos da DC, acredita-se que a doença seja resultante de uma resposta imunológica sustentada. Questiona-se, no entanto, se existe um patógeno não reconhecido que causa uma resposta inflamatória considerada apropriada ou se há uma resposta inapropriada a um estímulo que, inicialmente seja inócuo.

A luz intestinal é composta por uma diversidade de substâncias e bactérias mas, apesar disso, o intestino não se encontra inflamado em pessoas saudáveis. Um mecanismo de tolerância imunológica representado por reação inflamatória de menor intensidade pode justificar achados histológicos considerados normais na mucosa intestinal desses indivíduos. Essa tolerância é mediada por linfócitos T, que secretam citocinas regulatórias. Em modelos

animais, foi constatada uma resposta anormal das células T à flora intestinal, na presença de doença inflamatória intestinal¹¹. Quando ocorre estímulo inflamatório e a imunotolerância é quebrada, células T auxiliares secretam citocinas pró-inflamatórias, dando início à resposta inflamatória sustentada que ocorre na DC¹².

Os fatores ambientais também participam de modo importante na patogênese da doença. Entre esses fatores, estão incluídos: classe sócio-econômica mais alta, possivelmente associada a menor exposição a antígenos durante a infância; a utilização de antiinflamatórios não esteroides, por aumentar a permeabilidade intestinal; o aumento da ingestão de açúcares refinados, dieta pobre em vegetais e o tabagismo. Sabe-se que a DC é mais prevalente entre fumantes e que estes apresentam maior risco de recaída da doença após ressecções cirúrgicas¹³.

Ainda que os fatores genéticos e ambientais tenham sido objeto de vários estudos, a conexão entre os mesmos e a expressão fenotípica da doença ainda é pouco compreendida. Acredita-se que alterações na integridade da mucosa possam justificar o elo entre esses dois fatores. O fato é que a presença de um estímulo antigênico luminal, associada ao aumento da permeabilidade intestinal e à resposta imunológica anormal, representam elementos essenciais no processo patogênico da doença. O que ainda não está definido é se a quebra da integridade do epitélio intestinal é evento primário ou secundário às alterações imunológicas que favorecem o processo inflamatório na DC. Contudo, reconhece-se que o aumento da permeabilidade intestinal permite o acesso de antígenos ao tecido intestinal, possibilitando o início ou a manutenção da doença¹⁴.

1.3 – Diagnóstico e determinação da atividade da doença

Não há nenhum sintoma, sinal ou teste diagnóstico patognomônico para DC. Usualmente, o diagnóstico é estabelecido através de uma avaliação completa da história

clínica, associada a achados característicos em exames radiológicos, endoscópicos e histopatológicos.

Os exames radiológicos contrastados do trato gastrointestinal definem de forma acurada a localização anatômica da doença e podem mostrar evidências de inflamação ativa. O trânsito intestinal é a modalidade de escolha na suspeita de doença com acometimento do intestino delgado¹⁵. A tomografia computadorizada (TC) é muito útil na demonstração de alterações extraluminais relacionadas à doença, bem como de complicações supurativas, tais como abscessos interalças e retroperitoneais¹⁶. Recentemente, a enterografia por TC tem mostrado resultados promissores também na determinação da atividade inflamatória e na diferenciação entre áreas de estenose de origem inflamatória e cicatricial^{17, 18}.

O ultrassom (US) é utilizado para excluir outras causas de dor abdominal, mas pode, eventualmente, revelar achados sugestivos da doença tais como espessamento da parede de alças e coleções e é útil em casos selecionados para guiar drenagens percutâneas de abscessos^{19, 20}. A ressonância magnética (RM) permite a avaliação da complexa anatomia das fístulas perianais²¹ e pode fornecer imagens do abdome comparáveis às da TC, sem exposição à radiação ionizante²².

Devido a sua habilidade de visualizar diretamente a mucosa e permitir a realização de biópsias para avaliação histopatológica, os exames endoscópicos complementam os métodos de imagem. Além disso, as alterações discretas da mucosa, presentes na doença inicial ou com atividade leve, são muito mais facilmente reconhecidas à endoscopia²³.

Como mencionado anteriormente, a DC caracteriza-se por seu curso crônico recorrente, com períodos de inatividade intercalados a surtos de reativação. A determinação da presença de atividade da doença é fundamental e apresenta conseqüências importantes para o paciente. O atraso na instituição do tratamento adequado pode levar a exacerbação dos sintomas e complicações como fístulas, abscessos e estenoses. Por outro lado, o tratamento

desnecessário com corticoides e imunossupressores pode apresentar efeitos colaterais indesejáveis.

Apesar de sua importância, não há um método de referência absoluto para avaliação da atividade da doença. Na prática clínica diária, muitas vezes o acompanhamento dos sinais e sintomas do paciente e sua resposta ao tratamento é suficiente para a tomada de decisões. Outras vezes, se faz necessário submeter o paciente a exames radiográficos ou endoscópicos, principalmente quando há uma alteração significativa dos sintomas ou suspeita de que os mesmos se relacionem a outras causas que não a inflamação crônica, como complicações ou infecções¹³.

Em algumas situações, especialmente em pesquisas clínicas, avaliações quantitativas são desejáveis. Com esse objetivo, vários índices de atividade da doença foram desenvolvidos. Esses índices são compostos por itens que integram vários aspectos possíveis da doença, classificados em um escore de pontuação. Os achados incluídos no escore variam de um índice para outro, mas a maioria deles utiliza uma combinação de sintomas subjetivos, achados objetivos ao exame físico e testes laboratoriais.

Dentre os índices descritos, o mais comumente utilizado é o Índice de Atividade da Doença de Crohn (CAI), descrito em 1976 por Best et al²⁴ (Tabela 1). No CAI, os três primeiros itens avaliados (diarreia, dor abdominal e bem estar geral) são subjetivos, mas foram incluídos por fazerem parte da avaliação clínica da gravidade da doença e da resposta a terapia; estes itens são anotados diariamente pelo paciente no cartão do CAI. Os demais itens são objetivos e avaliados pelo médico.

Tabela 1. Índice de Atividade da Doença de Crohn (CAI)

Variável	Fator multiplicador	Subtotal
1) Número de fezes líquidas ou líquido-pastosas nos últimos 7 dias	2	= _____
2) Classificação da dor/cólicas abdominais nos últimos 7 dias (0 = sem dor, 1 = dor leve, 2 = dor moderada, 3 = dor intensa)	5	= _____
	7	= _____
3) Sensação de bem-estar nos últimos 7 dias (0= bem, 1= regular, 2= mal, 3= muito mal, 4= péssimo)	20	= _____
4) Afecções relacionadas com a DC		
artrite ou artralgia		
irite/uveíte		
eritema nodoso ou pioderma gangrenoso ou estomatite aftóide		
fissura ou fístula ou abscesso perianal	30	= _____
outras fístulas	10	= _____
febre acima de 37,8°C durante os 7 últimos dias	6	= _____
5) Terapia antidiarréica (0 = nenhuma, 1 = sim)		Somar ou subtrair
6) Massa abdominal (0 = nenhuma, 2 = questionável, 5 = indubitável)	1	= _____ Somar ou subtrair
7) Hematócrito		
Sexo masculino: 47 – Hct		
Sexo feminino: 42 – Hct		
8) Peso		
Peso padrão – peso corporal real x 100/ peso padrão		
		Total =

No entanto, a utilização de critérios subjetivos diminui a reprodutibilidade do escore e causa grande variabilidade interobservador²⁵. Além disso, na doença com apresentação fibroestenotante, o índice não reflete a relação da atividade inflamatória como causa dos sintomas²⁶.

A medida de marcadores bioquímicos de inflamação no sangue, como velocidade de hemossedimentação (VHS) e proteína C reativa (PCR), pode ser útil na detecção de atividade, mas apresenta baixa especificidade. A quantificação de leucócitos marcados nas fezes parece ser um indicador sensível e relativamente específico de inflamação mucosa, mas sua

realização é complicada e envolve a exposição do paciente a radiação. Mais recentemente, a excreção fecal de calprotectina tem se mostrado um marcador sensível de inflamação intestinal e pode se correlacionar com reativação da doença em remissão²⁷.

Do exposto acima, pode-se concluir que, dada a importância de se caracterizar a atividade inflamatória na DC, a utilização de métodos diagnósticos não invasivos, como a medida de fluxo da artéria mesentérica superior e o teste da permeabilidade intestinal, poderia fornecer dados adicionais acerca da presença ou não de atividade inflamatória, direcionando a abordagem destes pacientes.

2 – REVISÃO DA LITERATURA

2.1 – Medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior pelo Doppler

2.1.1 – O efeito Doppler

O efeito Doppler é a alteração da frequência de uma onda sonora após sua reflexão por um alvo móvel. Pode ser percebido em uma grande variedade de situações, sempre que a distância efetiva entre o observador e a fonte da onda sonora se altera com o tempo, e pode ser entendido considerando-se a compressão ou expansão da onda transmitida, de acordo com a compressão ou expansão do espaço de transmissão da mesma.

As aplicações clínicas do efeito Doppler baseiam-se na transmissão de ondas de US pelo transdutor, sua reflexão por alvos móveis (nesse caso, o sangue) gerando o efeito e recepção das ondas com nova frequência pelo transdutor. Os sinais Doppler são separados de acordo com a direção do movimento dos alvos: aqueles que se aproximam do transdutor determinam um desvio superior da frequência em relação à frequência transmitida e os alvos que se afastam determinam um desvio inferior, permitindo a definição da direção do fluxo sanguíneo²⁸. Nas aplicações clínicas do US, o sinal Doppler é consequência do movimento do sangue e a alteração da frequência da onda depende da velocidade deste movimento e da direção do fluxo sanguíneo²⁹.

Embora o sinal Doppler seja sonoro, os resultados do exame Doppler são apresentados e gravados na forma de imagens, coloridas ou como espectro de fluxo vascular. A imagem colorida é útil na demonstração da distribuição anatômica do fluxo, enquanto a análise espectral permite a representação gráfica dos fatores hemodinâmicos que contribuem para determinado sinal Doppler específico de cada vaso e é essencial para análises quantitativas, como, por exemplo, as estimativas de velocidade de fluxo.

O grande valor do estudo Doppler advém do fato de possibilitar a avaliação simples, reprodutível e não invasiva do fluxo sanguíneo. As aplicações qualitativas do Doppler, mais simples, permitem determinar a presença, direção e localização do fluxo sanguíneo e a distribuição aproximada das velocidades de fluxo em determinado território vascular. A análise quantitativa, hoje disponível de forma rotineira nos equipamentos de US, pode estimar o volume de fluxo em determinado vaso a partir das medidas do diâmetro luminal do mesmo e de sua velocidade de fluxo³⁰.

Atualmente, o método é amplamente aceito como uma ferramenta confiável e de uso corrente para avaliação de vários leitos vasculares, tais como carotídeo, aorto-ilíaco, renal e, devido ao seu tamanho e sua posição anatômica, a artéria mesentérica superior (AMS) também é acessível ao Doppler³¹.

2.1.2 – Doppler da artéria mesentérica superior

A AMS é o segundo ramo visceral da aorta abdominal, originando-se de sua parede anterior cerca de 1cm abaixo da emergência do tronco celíaco, e apresenta um segmento curto com trajeto anterior e outro segmento longo com trajeto inferior, sendo usualmente bem visibilizada ao US até alguns centímetros abaixo de sua origem. É responsável pela irrigação do duodeno, de todo o intestino delgado e do cólon direito e apresenta extensa rede de anastomoses com ramos do tronco celíaco, artéria mesentérica inferior e artérias ilíacas internas^{32,33}.

O fluxo sanguíneo para o intestino delgado é influenciado por fatores metabólicos locais, pelo sistema nervoso simpático e por agentes vasoativos circulantes³⁴ e diversos autores mostram alterações significativas no padrão de fluxo da AMS ao Doppler em resposta a esses estímulos^{35,36,37}.

De especial interesse é a variação do padrão espectral de fluxo da AMS, dependendo da presença ou não de jejum, adequando-se às necessidades fisiológicas do processo de absorção de nutrientes que ocorre no intestino delgado. Nos indivíduos em jejum, a AMS apresenta padrão de fluxo de alta resistência, caracterizado por onda trifásica com pequeno fluxo retrógrado no início da fase diastólica e velocidade diastólica final declinando a zero. Após alimentação, no indivíduo normal, as velocidades de pico sistólica e diastólica aumentam acentuadamente, o fluxo reverso desaparece e surge a seguir um padrão de baixa resistência, com alargamento espectral ³⁸.

Devido à sua localização anatômica, a AMS é melhor visibilizada com transdutores de frequência entre 2MHz e 5MHz, ao contrário das artérias superficiais, usualmente avaliadas com transdutores de alta frequência (7MHz a 10MHz). Alimentos produtores de gás devem ser evitados no dia anterior ao exame. Jejum de oito horas melhora as imagens das estruturas abdominais profundas, reduz artefatos de movimentação intestinal e possibilita a utilização de valores de referência para avaliação de alterações nos parâmetros Doppler.

A estimativa do volume de fluxo da AMS pelo Doppler baseia-se na medida da velocidade média de fluxo no interior do vaso e na estimativa da área de corte do mesmo, calculada a partir da medida de seu diâmetro e da premissa de que o vaso é circular. Dessa forma, incorpora eventuais erros inerentes às duas medidas, os quais devem ser evitados ou minimizados.

A medida da velocidade deve ser realizada com o volume de amostra Doppler posicionado cerca de 2cm a 3cm abaixo da origem da AMS, antes do surgimento de qualquer artéria jejunal, e ajustado para compreender o máximo possível do lúmen vascular, porém sem tocar suas paredes³⁹. Recomenda-se ainda usar um filtro para eliminar frequências baixas decorrentes do movimento das paredes do vaso. O ângulo entre o feixe sonoro e a AMS deve

ser medido e mantido abaixo de 60°, para garantir a precisão da estimativa da velocidade ⁴⁰. A velocidade média é então obtida através da análise eletrônica do espectro Doppler obtido.

A baixa resolução das imagens do modo B aumenta o risco de imprecisão devido ao erro de medida da distância. Para aumentar a acurácia da medida, a imagem no modo B deve ser ampliada, para permitir o posicionamento preciso dos *calipers*, que devem ser colocados ao longo do eixo do feixe de US, que apresenta maior resolução ³¹. Outra causa de imprecisão é a diferença no diâmetro da AMS nas fases sistólica e diastólica do ciclo cardíaco, que pode chegar a 2mm. Nesse caso, a padronização do método de exame é essencial, com a realização da medida sempre na fase diastólica, permitindo a redução da variabilidade intra-observador para cerca de 0,3mm. Com a avaliação do diâmetro da AMS sempre na mesma fase do ciclo cardíaco e a repetição das medidas, é possível aumentar a confiabilidade da estimativa do volume de fluxo da AMS em 25% ⁴¹.

Em indivíduos normais, a estimativa do volume de fluxo da AMS pelo Doppler é comparável aos resultados obtidos com angiografia ⁴² e corresponde a cerca de 500 ml/min ⁴³,
35, 37, 44, 45, 46

Tabela 2. Medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior pelo Doppler em indivíduos saudáveis.

Autor	Sexo e idade	Volume de fluxo (ml/min)
Sieber ³⁵	M, 21-27	433 +/- 38 (EP)
Moneta ³⁶	MF, 28-38	538 +/- 37 (EP)
Ray-C ³⁷	MF, 22-66	517 +/- 140 (DP)
Cooper ⁴³	MF, 20-43	513 +/- 29 (EP)
Sato ⁴⁴	MF, 29-69	383 +/- 90 (EP)
Qamar ⁴⁵	MF, 22-88	517 +/- 19 (EP)
Nakamura ⁴⁶	MF, ~37	478 +/- 166 (DP)

M: masculino; F: feminino; EP: erro-padrão; DP: desvio-padrão.

2.1.3 – Doppler da artéria mesentérica superior e doença de Crohn

Lesões vasculares e alterações microvasculares são bem documentadas na DC, possivelmente envolvidas na patogênese da doença; estão presentes em peças ressecadas de intestino com doença macroscopicamente identificável e variam com a intensidade da reação inflamatória. Nos pacientes com doença grave, a vascularização aumentada é evidente em áreas com úlceras profundas e fistulas, infiltrado inflamatório celular e edema extenso; nestes casos há um aumento no número de arteríolas retas irrigando a área acometida. Na DC leve a moderada, com apenas alguma úlceras e edema moderado, as alterações são menos acentuadas, demonstrando que o grau de vascularização está relacionado à intensidade da reação inflamatória ⁴⁷.

A avaliação de peças ressecadas de intestino delgado e cólon de pacientes com DC revela uma seqüência de eventos que inclui injúria vascular, arterite focal, deposição de fibrina e oclusão arterial, principalmente na camada muscular própria, seguida por infarto tissular e neovascularização, achados estes restritos aos segmentos intestinais afetados pela DC ⁴⁸. A neovascularização pôde ser verificada também em estudos angiográficos, que evidenciaram arteríolas dilatadas, com ramos periféricos de distribuição bizarra e irregularidade luminal, bem como vênulas dilatadas, com enchimento precoce pelo meio de contraste ^{49,50}.

Embora o papel dessas alterações na fisiopatologia da DC ainda não esteja completamente definido, elas poderiam ser interpretadas como indício de aumento do fluxo sanguíneo para o tecido inflamado. No início da década de 90, após o surgimento de estudos registrando a viabilidade do Doppler para a avaliação do fluxo da AMS ^{51, 36, 44}, houve um interesse crescente na avaliação da hemodinâmica esplâncnica na DC através do estudo Doppler, baseado no fato de tratar-se de método não invasivo, seguro, quantitativo, de boa reprodutibilidade e baixo custo.

Em 1992, Bolondi et al⁵² observaram que as alterações hemodinâmicas existentes na doença inflamatória intestinal (DC e retocolite ulcerativa) podem ser demonstradas, de forma não invasiva, através do estudo Doppler. Ao avaliar 45 pacientes com doença inflamatória intestinal e 45 controles normais, estes autores demonstraram a existência de aumento do volume de fluxo na veia porta e redução no índice de resistência na AMS nos pacientes com doença em atividade, quando comparados aos controles normais. Observou-se ainda normalização das variáveis hemodinâmicas em sete de dez pacientes nos quais houve remissão clínica e laboratorial⁵². Tais achados abriram caminho para outros estudos que procuravam correlacionar alterações de variáveis hemodinâmicas na AMS medidas ao Doppler e presença de atividade inflamatória em pacientes com DC, com resultados por vezes contraditórios.

Van Oostayen, um entusiasta das aplicações do US Doppler em pacientes com DC, demonstrou boa reprodutibilidade interobservador da medida do volume de fluxo da AMS, bem como aumento deste volume em pacientes com DC que apresentavam critérios clínicos e laboratoriais de atividade, quando comparados a pacientes com DC em remissão e controles normais^{53, 54, 55}.

Alterações de outros parâmetros hemodinâmicos da AMS ao Doppler, tais como índice de resistência, velocidade de pico sistólico, velocidade diastólica final e velocidade média de fluxo, também foram avaliados como possíveis marcadores de atividade inflamatória na DC e seus valores apresentaram diferenças estatisticamente significativas em pacientes em atividade, porém de forma menos consistente que o volume de fluxo^{53, 56, 57, 58}.

No entanto, Maconi et al⁵⁹, ao avaliar 79 pacientes com DC e 40 controles normais, concluíram que a circulação hiperdinâmica encontrada na DC não reflete a atividade clínica ou laboratorial da doença, estando mais relacionada a fatores anatômicos e/ou patológicos, como a presença de espessamento da parede intestinal. Além disso, redução do volume de

fluxo da AMS foi encontrada em pacientes com história de ressecção intestinal e em tratamento com corticosteroides.

Embora os pacientes com DC em atividade apresentem aumento do volume de fluxo da AMS quando comparados a pacientes em remissão e aos controles normais, ocorre sobreposição entre as médias encontradas em grupos de pacientes com doença em remissão e naqueles com atividade inflamatória leve^{54, 55, 60}, em uma faixa de valores entre 450ml/min e 600ml/min, denominada “zona cinza”.

2.2 – Permeabilidade intestinal

2.2.1 – Conceito e rotas de permeação

O epitélio intestinal apresenta diferentes propriedades em relação às substâncias existentes na luz intestinal, promovendo tanto a função de barreira quanto a função de transporte das mesmas. O termo permeabilidade intestinal se refere à função de barreira exercida pelo epitélio, caracterizada por sua propriedade de permitir a passagem de moléculas por mecanismo de difusão não mediada, através de gradiente de concentração ou de pressão, sem a assistência de um sistema carreador bioquímico passivo ou ativo. No contexto clínico, o conceito se aplica a substâncias com peso molecular maior que 150 Dáltons (Da), visto que moléculas menores como sódio ou cloro utilizam-se de sistemas carreadores para seu transporte⁶¹.

A função de barreira exercida pelo epitélio intestinal pode ser considerada dinâmica, apresentando alterações transitórias reversíveis após estresse hiperosmolar e sendo afetada também por doenças, drogas, dieta, citocinas, hormônios e fatores ambientais. A principal consequência dessas alterações é a maior permeação de antígenos à mucosa intestinal, que pode iniciar ou perpetuar processos inflamatórios. 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 terapêuticas ⁶¹.

O citoesqueleto é uma estrutura de sustentação do epitélio intestinal, que se estende através das porções látero-apicais das células e forma as junções firmes ou zônulas ocludentes, que representam uma interrupção natural à continuidade da membrana celular, tornando-se potencial via de acesso de macromoléculas e permitindo ou não a passagem bidirecional de várias substâncias, incluindo células inflamatórias. Essa característica dá origem à base racional do teste de permeabilidade intestinal, utilizado para avaliar a função de barreira exercida pelo epitélio ⁶².

Atualmente, acredita-se na existência de duas rotas de permeação através da mucosa intestinal. Na primeira rota, denominada de transcelular, as moléculas menores que 0,4 nm, como o manitol e a ranose, atravessam as membranas celulares através de pequenos poros aquosos (0,4nm a 0,7nm de raio), de alta incidência, presentes na membrana dos enterócitos. Na segunda, denominada de paracelular, a passagem de moléculas maiores que 0,5nm, tais como a lactulose, a celobiose e o etilenodiaminotetraacetato marcado com cromo radioativo (⁵¹Cr-EDTA), ocorre através de canais aquosos maiores (6,5nm de raio) existentes nas junções firmes, de baixa incidência e susceptíveis ao estresse hiperosmolar ⁶¹. Essa teoria é denominada teoria das duas vias de permeação.

Contudo, ainda persistem incertezas acerca de qual rota é utilizada por alguns marcadores. Quando se utilizam marcadores com pesos moleculares variados, em diferentes gradientes osmóticos, constata-se a presença tanto de poros eletroneutros maiores (6,5nm), quanto de poros menores (0,7 nm), cátion-seletivos, localizados entre as células epiteliais. Nesse modelo, denominado teoria da via única, as moléculas maiores passariam exclusivamente pelos poros maiores através da via paracelular, enquanto as moléculas

menores passariam pelos poros maiores e menores, utilizando as vias paracelular e transcelular, embora a contribuição da via paracelular para a permeação total das moléculas menores seja pequena^{63, 64}.

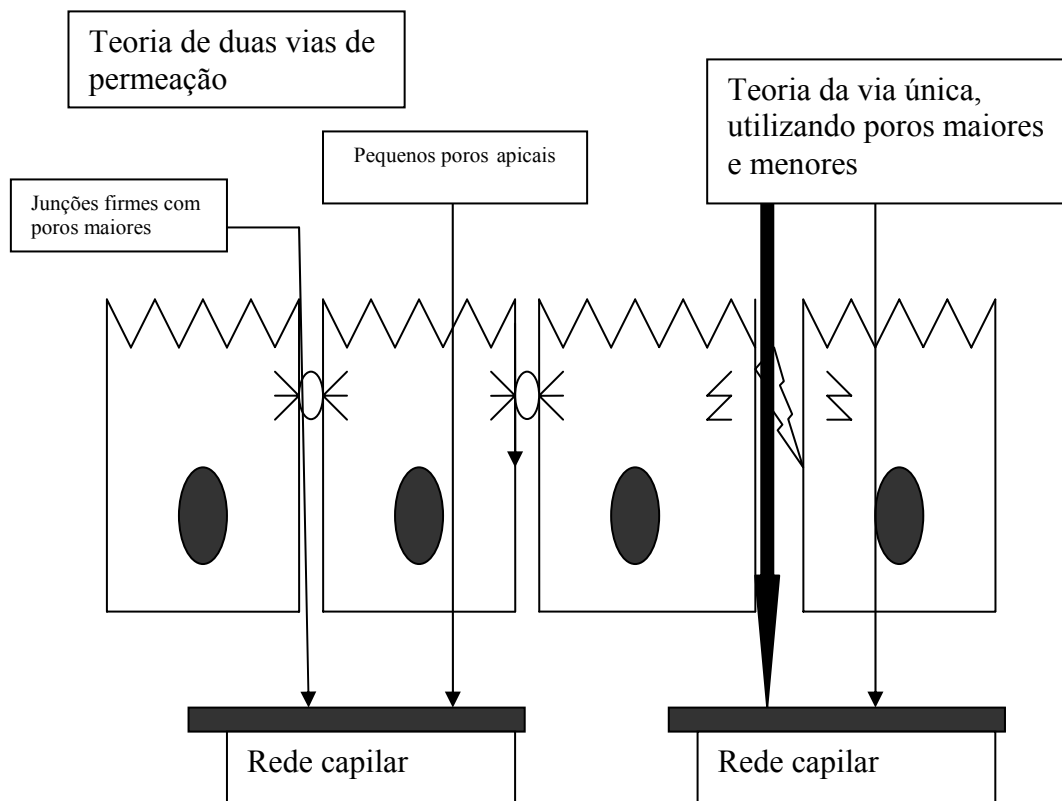


Figura 1. Desenho esquemático que ilustra a teoria de vias de permeação diferentes e a via única de permeação utilizando as junções firmes.

Outra teoria, sugerida por Hollander⁶⁵ para explicar a permeação de macro e micromoléculas, é baseada na presença de resistência elétrica transepitelial e postula que as junções firmes são responsáveis pela permeação de todas as substâncias. A evidência de que a taxa de permeação do manitol relaciona-se de maneira inversa à resistência elétrica transepitelial explica sua alta porcentagem de permeação pela via paracelular. Devido à heterogeneidade morfológica existente entre as junções intercelulares do intestino delgado, com poder de selamento progressivamente maior à medida que os enterócitos migram das

criptas para as vilosidades, pode-se afirmar que a permeação de macromoléculas como a lactulose e o $^{51}\text{Cr-EDTA}$ fica restrita às junções firmes das criptas, enquanto os monossacarídeos, devido ao seu diâmetro seccional menor, apresentam permeação livre através do eixo cripta-vilosidade.

Embora não haja consenso para explicar as vias de permeação, é fato que a permeação a macromoléculas aumenta em processos que causam reação inflamatória na mucosa intestinal, favorecida por afrouxamento nas junções intercelulares, enquanto a permeação dos monossacarídeos retrata a área absorptiva da mucosa, caracterizada pela estrutura vilositária do epitélio intestinal.

2.2.2 – Avaliação da permeabilidade intestinal

A permeabilidade intestinal é avaliada de forma não invasiva através da mensuração da excreção urinária de substratos administrados por via oral. Inicialmente, substratos únicos (lactulose, polímeros de polietilenoglicol - PEG, $^{51}\text{Cr-EDTA}$ e dietilenetriaminopente-acetato marcado com tecnécio radioativo - $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$) foram utilizados, mas os resultados dos testes eram influenciados por vários fatores além da permeabilidade intestinal, tais como esvaziamento gástrico, trânsito intestinal e diluição por secreções, filtração renal diminuída ou mesmo coleta incompleta de urina. Esse fato levou à formulação do princípio da excreção urinária diferencial de duas substâncias, que fornece um índice específico da permeabilidade intestinal ⁶⁶.

Os testes utilizados para a avaliação da permeabilidade intestinal podem ser divididos em três grupos, de acordo com o tipo de substrato utilizado: 1) açúcares, 2) isótopos e 3) PEG. O marcador ideal deve ser biologicamente inerte e capaz de atravessar o epitélio intestinal por difusão não mediada, através de uma via conhecida ⁶¹.

Os testes com açúcares têm sido os mais utilizados, principalmente os que empregam as combinações de lactulose e manitol e celobiose e manitol. A primeira apresenta alguma vantagem, pois as dissacaridasas intestinais humanas têm efeito, ainda que pequeno, sobre a celobiose. Embora ainda existam dúvidas acerca da via de permeação do manitol, sabe-se que esta diminui na presença de atrofia vilositária ^{67, 68}. A lactulose, no entanto, tem a sua permeação aumentada na presença de qualquer processo inflamatório, em consequência do afrouxamento das junções firmes.

As soluções de açúcares utilizadas devem ser, preferencialmente, isosmolares, pois permitem o estudo da barreira mucosa sem causar alterações da mesma, ao contrário do que ocorre quando se utilizam soluções mais concentradas, que determinam estresse hiperosmolar sobre a barreira mucosa e aumentam a permeação dos marcadores. No entanto, para triagem diagnóstica de doenças intestinais, as soluções hiperosmolares podem ser úteis, porque aumentam a sensibilidade do teste ⁶⁸. A excreção destes açúcares pode ser medida através da cromatografia líquida de alta performance, cromatografia líquido-gasosa ou por ensaios enzimáticos ^{69, 70, 71}.

Os testes que utilizam isótopos são mais facilmente mensurados, mas apresentam como desvantagem o fato de utilizarem marcadores radioativos. Destes, o mais usado é o ⁵¹Cr-EDTA que, por ser resistente à degradação bacteriana, torna-se útil também para avaliação da permeabilidade colônica. Contudo, apresenta meia-vida relativamente curta (27 dias), não permitindo maior viabilidade das amostras para análise posterior e apresenta ampla variação de seus valores de excreção renal nos controles. O ^{99m}Tc-DTPA é um substituto pouco menos radioativo do que o ⁵¹Cr-EDTA, porém apresenta meia vida ainda menor (6 horas) ⁶⁶.

A permeabilidade intestinal pode, ainda, ser avaliada utilizando-se moléculas de PEG de diferentes tamanhos como substrato (PEG 400, PEG 600, PEG 1000, PEG 4000) e

avaliando-se sua excreção urinária por meio da cromatografia líquida ou gasosa. No entanto, a suposta vantagem de se avaliar concomitantemente moléculas de tamanhos diferentes não foi constatada na prática, pois houve ampla variação de seus níveis em indivíduos normais ⁶⁶.

Tabela 3. Marcadores de permeabilidade intestinal, seus pesos moleculares e taxas de permeação intestinal em indivíduos sadios em amostras de urina de 5 horas.

Marcador	Peso molecular Dáltons	Permeação	
		% excreção da dose oral/ 5horas	
		Isosmolar	Hiperosmolar
		200-300mosmol/kg	1350-1500mosmol/kg
L-Arabinose	150	17,5	-
L-ranose	164	10,1	11,7
D-manitol	182	16,8	20,6
Lactulose	342	0,25	0,41
Celobiose	342	-	0,38
⁵¹ Cr-EDTA	359	0,64	0,70
Rafinose	504	0,26	-
PEG 400	194-502	18,2	20,3
^{99m} TcDTPA	549	2,8	-
Dextran	3000	0,04	0,12

Travis S, Menzies ⁶¹

2.2.3 – Aplicações clínicas

O interesse clínico pelas medidas da permeabilidade intestinal baseia-se no fato de permitir a avaliação funcional da barreira mucosa intestinal de forma não invasiva, tornando-se, sob esse aspecto, mais vantajosa quando comparada ao método reconhecido como padrão-ouro para avaliação morfológica das lesões da mucosa intestinal, a biópsia jejunal peroral⁷².

A medida da permeabilidade intestinal parece ter valor como teste de rastreamento para determinar a necessidade de métodos diagnósticos adicionais, possivelmente mais invasivos e para avaliar a progressão clínica da doença e sua resposta ao tratamento⁶¹. Entretanto, ainda que represente uma medida útil e reconhecida do grau de lesão da barreira exercida pela mucosa intestinal, o potencial dos testes de permeabilidade intestinal para diagnóstico de doenças do trato digestivo necessita ser melhor determinado.

A capacidade das medidas de permeabilidade intestinal de indicar a presença de anormalidade histológica na mucosa tem sido amplamente discutida. Aqueles que defendem essa aplicação, acreditam que os testes de permeabilidade intestinal possam ser utilizados em situações especiais, como em pacientes com sintomatologia pouco característica do trato digestivo, em crianças e jovens com distúrbios do crescimento, nos quais a doença celíaca e a doença de Crohn permanecem como suspeita diagnóstica e, finalmente, como forma de confirmar a indicação da biópsia intestinal peroral ou outra avaliação funcional⁷³. Entretanto, é necessário ressaltar que um exame normal não afasta a possibilidade de lesões da mucosa em grau leve, não eliminando, portanto, a necessidade de avaliação diagnóstica adicional.

Assim sendo, se por um lado a medida da permeabilidade intestinal é tratada como um teste diagnóstico, por outro lado é apontada como um método adjuvante, que não elimina a possibilidade de lesão mucosa. É possível que essa ambigüidade se deva ao conhecimento incompleto das reais potencialidades do teste, caracterizadas pelos parâmetros amplamente

aceitos de avaliação do desempenho de testes diagnósticos, ou seja, sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e razão de verossimilhança⁶⁹.

A quebra da integridade da barreira mucosa intestinal e consequente permeação aumentada de macromoléculas, tem sido associada a mecanismos etiopatogênicos comuns a várias doenças de caráter inflamatório do trato digestivo, bem como a doenças extra-intestinais de caráter auto-imune, como o diabetes *mellitus* e a dermatite atópica^{72, 74}. Nas doenças intestinais, a permeabilidade intestinal localmente aumentada levaria a um desequilíbrio da interação normal entre fatores de agressão no lúmen intestinal e a defesa mucosa, resultando em inflamação⁶⁶.

Na doença celíaca, a alteração da permeabilidade intestinal não é um defeito primário, pois apresenta-se normal em pacientes com dieta isenta de glúten⁶⁶. Por outro lado, em pacientes não tratados, a permeabilidade intestinal está caracteristicamente alterada, com sensibilidade de 96% quando medida pela técnica de dois açúcares e 100% em alguns estudos utilizando o ⁵¹Cr-EDTA^{75, 76}. Nesses pacientes, a redução da absorção das moléculas de menor tamanho, como o manitol e a ranose, parece ser consequência da atrofia da mucosa intestinal, com perda da área absorptiva enquanto o aumento da passagem de macromoléculas, como a lactulose e o ⁵¹Cr-EDTA, podem indicar maior exposição das vias paracelulares das criptas ou alterações de funcionamento das junções firmes relacionadas ao processo inflamatório. Isto posto, verifica-se que o teste da permeabilidade intestinal permite uma correlação clínica-fisiopatológica precisa e o monitoramento da resposta terapêutica⁷⁷.

Acredita-se ainda que alterações na permeabilidade intestinal estejam relacionadas à alergia alimentar, onde alterações na maturação da barreira poderiam ocasionar aumento na exposição a antígenos ingeridos por via oral, determinando resposta inflamatória⁷⁸, bem como à manutenção da resposta inflamatória em doentes críticos, mesmo após a erradicação de infecções e focos de inflamação, com possível evolução para a síndrome da falência de

múltiplos órgãos e eventualmente para o óbito⁷⁹. Entretanto, o excesso de antígenos e bactérias que atingem o organismo através da luz intestinal associa-se também a fenômenos de ordem imunológica e não apenas do trato digestivo.

2.2.4 – Permeabilidade intestinal e doença de Crohn

Embora a etiologia da DC seja ainda desconhecida, postula-se a existência de uma resposta alterada ou exagerada do sistema imune da mucosa intestinal a antígenos luminais¹³. Admitindo-se essa hipótese como verdadeira, o desenvolvimento da doença se daria em três etapas. A primeira seria a predisposição para reagir a um antígeno luminal de forma acentuada ou uma redução nos mecanismos de tolerância imunológica, normalmente desenvolvidos pelo sistema imune da mucosa. A segunda seria a presença do antígeno que provoca a resposta imune ou do estímulo inflamatório. E a terceira etapa seria o envio ou a apresentação do agente ao sistema imunológico da mucosa de uma maneira que resulte em inflamação, quando normalmente resultaria em tolerância. Tal evento pode ser o resultado da passagem deste agente por via paracelular, o que pode determinar reação inflamatória mais intensa⁶⁹.

Dessa forma, o aumento da permeabilidade intestinal é visto como o mecanismo que permite a apresentação de antígenos luminais ou compostos pró-inflamatórios ao sistema imune da mucosa intestinal, o que pode determinar o início da inflamação⁸⁰ e a medida da permeabilidade intestinal poderia retratar a quebra da barreira mucosa.

Considerando-se o curso clínico da DC, caracterizado por períodos de atividade e remissão, a terceira etapa do desenvolvimento da doença parece ser a única passível de variação fisiológica, já que a predisposição genética não varia e a dieta tende a ser relativamente constante. Para confirmar a existência dessa relação, as seguintes afirmações precisariam ser verificadas: 1) os indivíduos susceptíveis a desenvolver a DC apresentam um aumento da permeabilidade intestinal; 2) a permeabilidade intestinal diminui durante os

períodos de remissão; 3) os eventos que precipitam ou antecedem a atividade da doença devem aumentar a permeabilidade intestinal⁸⁰.

A primeira questão relaciona-se ao aumento da permeabilidade intestinal como fator de risco para o desenvolvimento da DC e tem sido abordada por estudos que avaliam a permeabilidade intestinal em parentes e esposas de pacientes portadores de DC. Embora ainda existam divergências quanto aos resultados desses estudos, concorda-se que cerca de 10% dos parentes de portadores de DC apresentam aumento da permeabilidade intestinal^{81, 82, 83, 84}. Este aumento foi verificado também em 13% das esposas de portadores da doença⁸⁵. Dessa forma, é razoável supor que a alteração na permeabilidade intestinal, de origem genética ou ambiental (alimentar), pode ser fator predisponente ou desencadeante para o desenvolvimento da doença⁸³.

Embora as flutuações da permeabilidade intestinal possam ocorrer de forma espontânea, postula-se que indivíduos com risco de desenvolver a DC também possam ser excessivamente sensíveis a agentes que provocam o aumento da permeabilidade intestinal. Essa hipótese foi testada através da avaliação das alterações da permeabilidade intestinal em resposta ao ácido acetilsalicílico, quando se observou resposta exagerada da permeabilidade intestinal em um subgrupo de parentes de primeiro grau de pacientes portadores de DC, sugerindo uma alteração familiar da permeabilidade intestinal na DC, que no entanto, não está presente em todas as famílias estudadas⁸⁶.

A tendência à redução das medidas de permeabilidade intestinal durante as fases de remissão da DC foi demonstrada em diversos estudos, tanto em pacientes adultos quanto na população pediátrica^{87, 88, 89}, assim como a correlação entre o teste de permeabilidade e o CDAI⁸⁸. Estes elementos transformam o teste da permeabilidade em importante instrumento para acompanhar a atividade da doença e monitorizar a resposta ao tratamento.

Como a permeabilidade intestinal diminui no paciente em remissão e aumenta durante a atividade da doença, pode-se supor que seja possível prever uma recaída através da monitorização do aumento da permeabilidade intestinal que a precede. Estudos que avaliaram prospectivamente a permeabilidade intestinal de pacientes com DC em remissão demonstraram uma incidência até cinco vezes maior de recaídas nos pacientes que apresentavam permeabilidade alterada quando comparados àqueles com permeabilidade normal^{90, 91}.

Em resumo, o aumento da permeabilidade intestinal em subgrupos de pacientes com DC, sugere fortemente seu papel como fator predisponente ou desencadeante da doença. O que necessita maior esclarecimento é a ordem dos acontecimentos no processo etiopatogênico da doença, ou seja, se a perda da integridade da mucosa constituiria o evento primário ou seria secundária a fenômenos imunológicos que acarretariam a resposta inflamatória, com consequente aumento da permeabilidade intestinal⁶⁹.

Pode-se concluir, portanto, que o teste da permeabilidade intestinal é útil na avaliação dos processos etiopatogênicos associados a várias doenças intestinais, no monitoramento da resposta terapêutica e eventualmente como exame de triagem diagnóstica inicial. É provável que sua aplicação se estenda também à avaliação da atividade inflamatória na DC.

3 – OBJETIVOS

3.1 – Geral

Avaliar a medida de fluxo da AMS pelo Doppler e o teste da permeabilidade intestinal em pacientes com DC em atividade e remissão.

3.2 – Específicos

3.2.1 – Avaliar o volume de fluxo da AMS pelo Doppler nos pacientes com DC em atividade e remissão definidas pelos critérios do CDAI.

3.2.3 – Avaliar o teste da permeabilidade intestinal nos mesmos pacientes.

3.2.3 – Comparar os valores obtidos nos dois grupos.

3.3.4 – Avaliar o desempenho dos testes, mediante o cálculo da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e razão de verossimilhança.

4 – PACIENTES E MÉTODOS

4.1 – Pacientes

O estudo incluiu uma amostra intencional de 40 pacientes provenientes do Ambulatório de Intestino do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, entre outubro de 2006 e novembro de 2009, com diagnóstico prévio de DC do intestino delgado, baseado em critérios clínicos, endoscópicos, radiológicos, cirúrgicos e histopatológicos⁹², que incluem pelo menos dois dos seguintes elementos:

- 1 – história de dor abdominal, perda de peso, mal estar, sangramento retal e/ou diarreia, durante pelo menos seis meses;
- 2 – achados característicos à endoscopia de ulcerações descontínuas, *cobblestoning*, fístulas e/ou doença perianal grave;
- 3 – achados radiológicos de estenose, fístula e/ou evidência de *cobblestoning* ou ulceração da mucosa;
- 4 – aparência macroscópica à laparotomia de espessamento da parede intestinal, linfadenopatia mesentérica e envolvimento da serosa, com projeções digitiformes da gordura mesentérica em direção à borda anti-mesentérica das alças intestinais, ou outras alterações inflamatórias;
- 5 – histopatologia mostrando infiltrado de células inflamatórias transmural e/ou granulomas epitelióides, sem agentes infecciosos identificáveis.

Durante o atendimento no Ambulatório de Intestino, os pacientes elegíveis para o estudo foram informados sobre a existência do protocolo de pesquisa e convidados a participar; aqueles que demonstraram interesse, receberam as explicações necessárias sobre o estudo e sobre os testes a que seriam submetidos (Doppler da AMS e teste da permeabilidade intestinal). O consentimento em participar da pesquisa foi manifestado por escrito com a

assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) pelo paciente/responsável (no caso de pacientes com idade inferior a 18 anos).

Os pacientes foram avaliados clinicamente segundo a rotina do Ambulatório de Intestino e submetidos aos testes em estudo, com diferença máxima de sete dias entre sua realização e sem que nenhuma conduta médica fosse modificada nesse período, objetivando minimizar eventuais interferências nos resultados de um ou outro exame. Os testes foram realizados de forma “cega”, isto é, sem que o examinador soubesse da história clínica/classificação do paciente.

Após a realização dos testes, os prontuários dos pacientes foram revisados pelo pesquisador para coleta sistemática de dados clínicos e laboratoriais que pudessem eventualmente ser úteis na avaliação e discussão dos resultados, conforme protocolo elaborado para o estudo (*Anexo 1*). Os pacientes foram classificados segundo a idade ao diagnóstico, localização da doença e sua forma de apresentação, de acordo com a classificação de Viena ⁹³.

Tabela 4. Classificação de Viena da Doença de Crohn.

Idade ao diagnóstico (A)	A1: < 40 anos A2: > 40 anos
Localização (L)	L1: íleo terminal L2: cólon L3: ileocolon L4: trato gastrintestinal superior
Comportamento (B)	B1: não estenosante, não penetrante B2: estenosante B3: penetrante

Foram considerados critérios de exclusão à participação no estudo: idade inferior a 14 anos, pacientes gestantes, não comparecimento a qualquer um dos testes em avaliação e ausência de condições técnicas para realização do Doppler da AMS, como, por exemplo, sobreposição gasosa excessiva, impossibilitando a delimitação precisa do vaso.

4.2 – Padrão de referência

Durante o atendimento no Ambulatório de Intestino, o paciente recebia o cartão do CDAI e as instruções para preenchê-lo e devolvê-lo na consulta subsequente; o peso e a altura dos pacientes eram auferidos e anotados. Era solicitado ainda o hemograma de todos os pacientes que não possuíam resultados recentes do mesmo (consideramos aceitáveis os hemogramas realizados até quinze dias antes da consulta).

Após avaliação do score do CDAI, os pacientes selecionados foram divididos em dois grupos, utilizando-se o mesmo como padrão de referência, de acordo com Best et al²⁴:

Grupo 1 – DC em remissão: CDAI menor que 150;

Grupo 2 – DC em atividade: CDAI maior que 150.

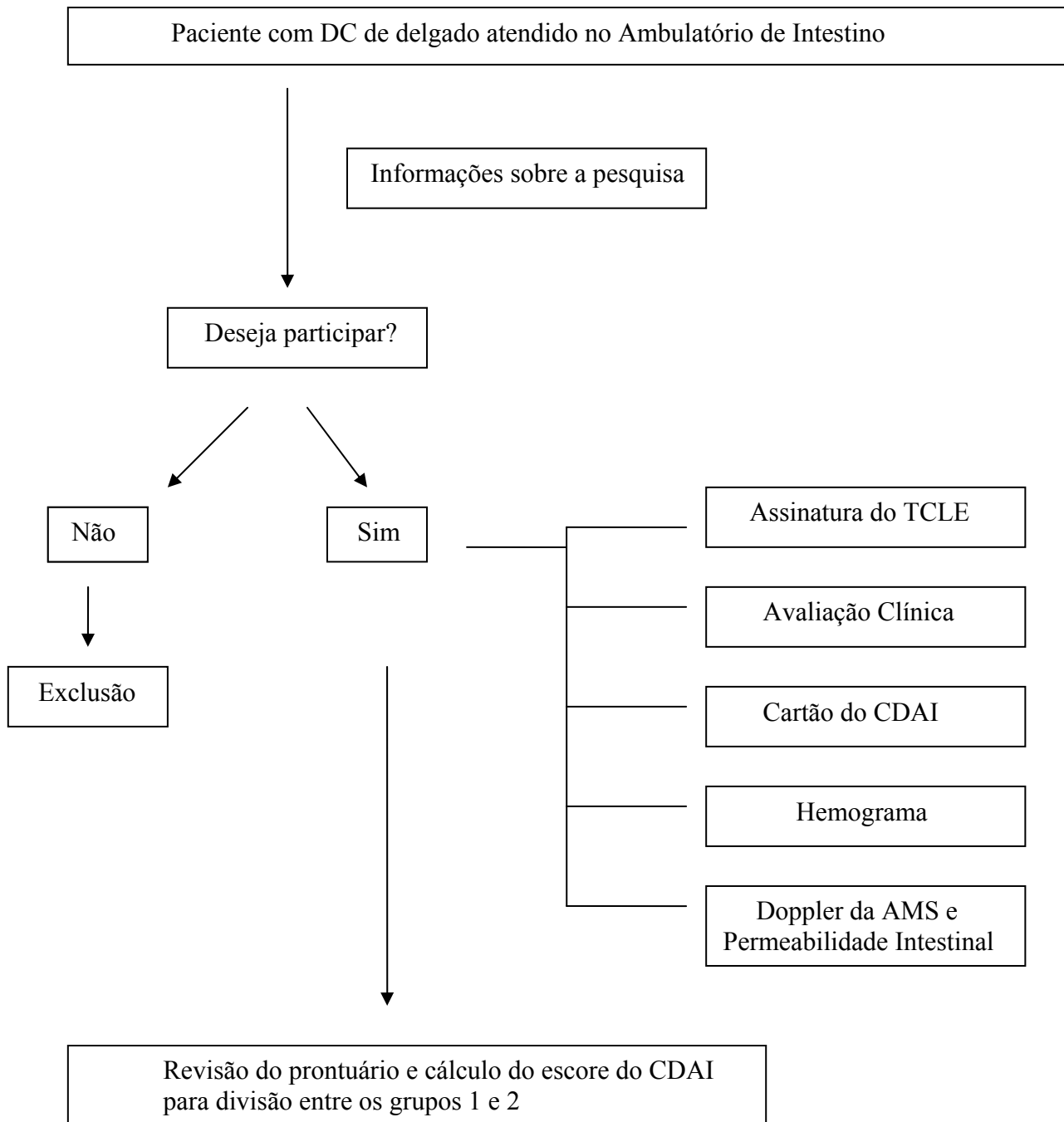


Figura 2. Fluxograma do processo de inclusão dos pacientes no estudo

4.3 – Estudo Doppler da artéria mesentérica superior

Os exames de Doppler da AMS foram realizados no Departamento de Diagnóstico por Imagem do Instituto Hermes Pardini, utilizando equipamento de ultrassom ATL 5000 Sono CT (Philips), com transdutor multifrequencial de 2-5 MHz.

A título de preparo para o exame, os pacientes foram orientados evitar a ingestão de alimentos produtores de gás no dia anterior ao exame e comparecer para a sua realização em jejum de oito horas.

Os exames eram realizados com os pacientes posicionados em decúbito dorsal, com leve elevação da cabeça para relaxar a musculatura abdominal e facilitar a visualização da artéria. Inicialmente, o transdutor era posicionado imediatamente abaixo do apêndice xifóide, com leve inclinação caudal, para permitir a identificação da aorta abdominal e da artéria mesentérica superior no plano sagital, usualmente bem visibilizada em uma extensão de quatro a cinco centímetros a partir de sua origem. Durante a realização do exame, o pesquisador solicitava a interrupção transitória da respiração em inspiração moderada, necessária para reduzir artefatos de movimento e garantir amostras de Doppler de qualidade adequada.

Após a identificação da AMS, a imagem era ampliada utilizando-se *zoom* de alta definição, para facilitar a delimitação precisa das paredes do vaso e o correto posicionamento dos *calipers*. A amostra de volume Doppler era colocada nos primeiros dois a três centímetros do mesmo, a partir de sua origem na aorta. Utilizou-se o maior volume de amostra necessário para cobrir toda a secção transversa do vaso, sem contudo, tocar suas paredes. O ângulo de insonação utilizado durante a amostragem Doppler foi sempre inferior a 60°, sendo preferencialmente mantido entre 30° e 45°, visto que ângulos maiores aumentariam o risco de imprecisões.

Após colocação do cursor da amostra, um espectro de pelo menos cinco ciclos cardíacos era obtido durante apneia transitória, utilizando-se uma frequência de repetição de pulsos de 5kHz. A medida do diâmetro transverso do vaso foi feita sempre durante a diástole, para reduzir a variação de sua área transversa durante as fases do ciclo cardíaco; utilizou-se ainda um filtro de alta frequência para evitar interferências decorrentes do movimento das paredes do vaso.

O equipamento escolhido para a realização do exame dispõe de pacote de *software* que realiza a determinação da velocidade média de fluxo em tempo real, a determinação automática da área transversal do vaso a partir da medida do diâmetro linear do mesmo e o cálculo do volume de fluxo sanguíneo.

Com o objetivo de reduzir a variabilidade dos resultados, as medidas foram repetidas três vezes em cada paciente e considerou-se como resultado final a média entre elas.

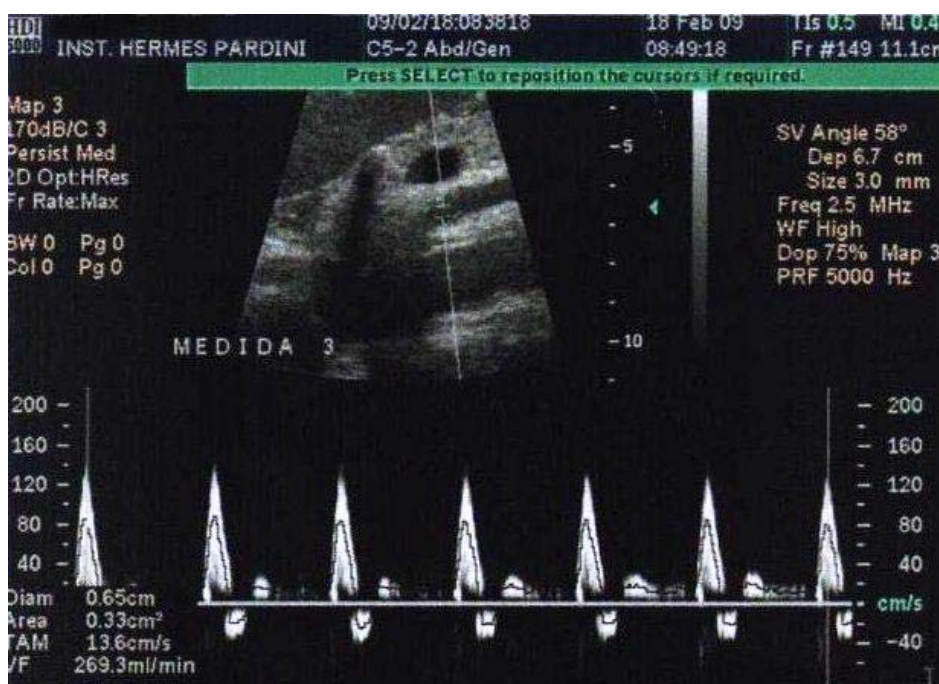


Figura 3. Espectro de fluxo da artéria mesentérica superior em paciente com volume de fluxo normal.

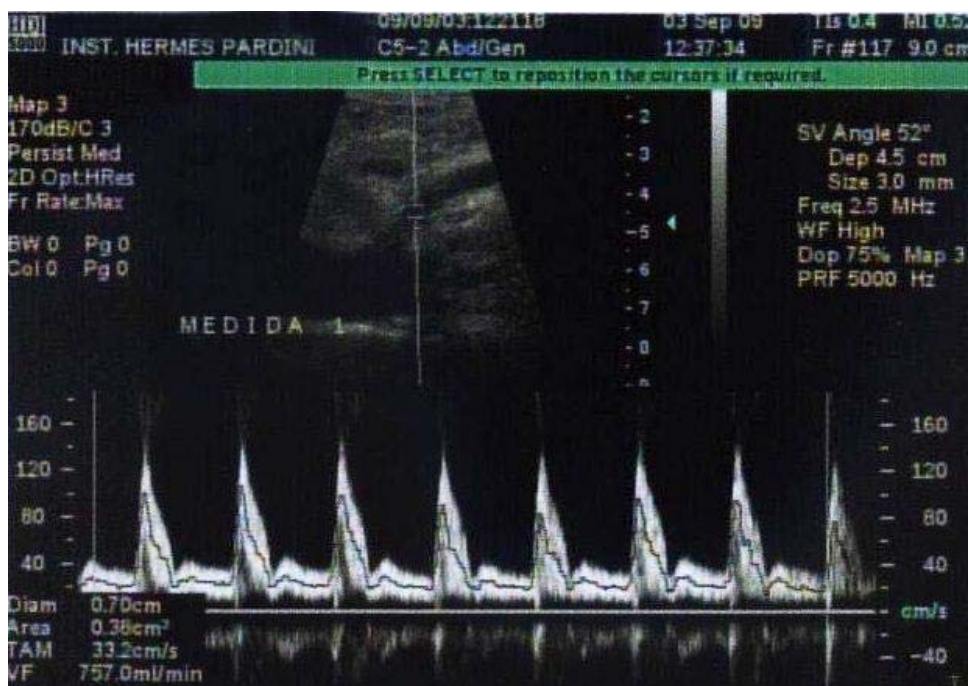


Figura 4. Espectro de fluxo da artéria mesentérica superior em paciente com volume de fluxo aumentado.

Após a realização do estudo Doppler da AMS, foi feita a avaliação ecográfica do abdome segundo o padrão consagrado na literatura e eventuais alterações foram registradas no laudo do exame, com especial interesse para as alças do intestino delgado, determinando-se espessamento da parede intestinal (espessura maior que 3mm), seu aspecto ecográfico (hipoecogênico ou estratificado) e presença ou não de fístulas e/ou coleções.

4.4 – Teste da Permeabilidade Intestinal

Os testes da permeabilidade intestinal foram realizados no laboratório de pesquisa do Grupo de Estudos da Barreira Gastrointestinal na Faculdade de Medicina da UFMG, segundo técnica padronizada por Vilela et al⁷⁷, utilizando lactulose e manitol como substratos e quantificando-se a taxa de excreção dos mesmos na urina.

Os pacientes compareciam ao HCUFMG pela manhã, em jejum de dez horas e, após eliminar qualquer eventual resíduo urinário, eram orientados a ingerir 120ml de solução

padrão contendo 6,25g de lactulose a 95%, Sigma-Aldrich e 3,0g de manitol PA, Sigma-Aldrich. A osmolaridade desta solução é semelhante à plasmática, a fim de se evitar dano ao epitélio estudado.

Durante as cinco horas subsequentes, a urina do paciente era coletada em frasco vedado para evitar perda e evaporação das substâncias contidas na mesma. Ao final desse período, uma alíquota de 50ml de urina era separada em um segundo frasco menor e a ela se adicionava 10mg de timerosal, para impedir o crescimento bacteriano. Tais amostras eram rotuladas e estocadas em botijão de nitrogênio líquido com temperatura de -180°C , permitindo sua utilização futura.

Para a dosagem das substâncias na amostra de urina foi utilizado o aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) da marca Shimadzu®. Pequena quantidade de urina, depois de filtrada em filtro micropore e passada por uma resina de troca iônica, era introduzida no aparelho através de um auto-injetor; lactulose e manitol são então separados pela pré-coluna Supelcogel 33H® e pela coluna Supelcogel C-610H®. Simultaneamente e de maneira contínua, uma solução de ácido fosfórico a 0,1% era utilizada na fase móvel, a um fluxo pré-determinado de 0,5ml/min, servindo como elemento padrão a partir do qual, pelo princípio físico da refração, se diferenciavam a lactulose e o manitol.

No módulo que operava por refração, diferentes amplitudes de ondas geradas pela solução contendo a lactulose e o manitol eram captadas e interpretadas pela *workstation* em tempos diferentes, determinados pela separação ocorrida na pré-coluna e coluna, chamados de tempos de retenção. Tais leituras de amplitude de onda eram então transformadas em elementos gráficos (curvas).

Para padronização do teste, soluções com quantidades conhecidas de lactulose e manitol foram avaliadas separada e repetidamente no HPLC, permitindo a determinação da equação da reta das mesmas e a obtenção dos números que representavam as áreas sob as

curvas. A área sob a curva de cada molécula obtida pela *workstation* corresponde à concentração da substância na urina em g/l.

Em seguida, calculava-se a taxa de excreção da lactulose e do manitol através das seguintes fórmulas:

Lactulose:
$$\frac{L \times \text{vol}(u)/1000}{6} \times 100$$

Sendo L a concentração de lactulose na urina em g/l; vol(u) o volume urinário obtido em 5 horas e o denominador 6 representando a quantidade total de lactulose ingerida.

Manitol:
$$\frac{M \times \text{vol}(u)/1000}{3} \times 100$$

Sendo M a concentração de manitol na urina em g/l; vol(u) o volume urinário obtido em 5 horas e o denominador 3 representando a quantidade total de manitol ingerida.

Finalmente, a relação entre a taxa de excreção urinária das duas substâncias era obtida dividindo-se a taxa de excreção da lactulose pela taxa de excreção do manitol.

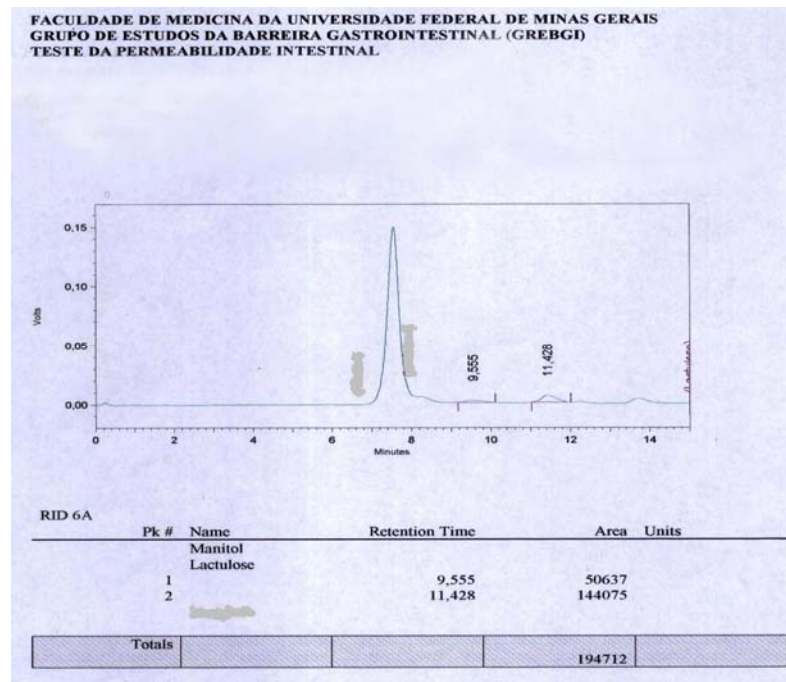


Figura 5. Cromatograma representando a curva correspondente às taxas de excreção urinária da lactulose e do manitol

4.5 – Análise estatística

Os dados coletados foram armazenados em um banco de dados criado no programa EpiData 3.1 e analisados utilizando-se o programa SPSS versão 17.0. A comparação entre os dois grupos foi realizada utilizando-se os testes de qui-quadrado e exato de Fisher para as variáveis dicotômicas e o teste *t* de Student para as variáveis contínuas.

A avaliação do desempenho dos testes em estudo para a caracterização da atividade inflamatória na DC foi realizada através da obtenção da curva ROC e seleção de pontos de corte, com determinação da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e razão de verossimilhança dos mesmos em relação ao padrão de referência.

4.6 – Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais, juntamente com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, parecer número ETIC 87/08 (*Anexo 2*). Todos os pacientes leram e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

5 – RESULTADOS

De início, foram incluídos no estudo 44 pacientes com diagnóstico de DC do intestino delgado, avaliados em um período de três anos e um mês, de outubro de 2006 a novembro de 2009. No entanto, quatro pacientes foram excluídos, dois deles por não apresentarem condições técnicas satisfatórias para o estudo Doppler da AMS e dois por não terem realizado o teste da permeabilidade intestinal.

Assim, nosso grupo de estudo contou com 40 pacientes, que foram divididos em dois grupos, de acordo com o escore de pontos do CDAI; o grupo 1 era composto de 28 pacientes (70%) com doença em remissão (CDAI < 150) e o grupo 2 de 12 pacientes (30%) que apresentavam doença em atividade (CDAI > 150). O banco de dados relativo aos pacientes estudados encontra-se no *Anexo 3*.

Dos 40 pacientes, 18 eram do sexo masculino (45%) e 22 do sexo feminino (55%). A idade variou entre 14 e 65 anos, com média de 38,25 anos. Baseado na classificação de Viena, o íleo terminal (L1) estava acometido, isoladamente, em 18 pacientes (45%) e, em 22 pacientes (55%), o íleo terminal e o cólon (L3) estavam acometidos de forma concomitante. A doença apresentava comportamento não estenosante, não penetrante (B1) em 11 pacientes (27,5%), forma estenosante (B2) em 12 pacientes (30%) e forma penetrante (B3) em sete pacientes (17,5%); 10 pacientes (25%) apresentavam as formas estenosante e penetrante concomitantemente. Intervenções cirúrgicas foram realizadas em sete pacientes (17,5%); a enterectomia com ressecção parcial do íleo terminal foi o procedimento de escolha em quatro e enterectomia ileocólica também parcial em três pacientes. Os dois grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa quanto à distribuição destas variáveis.

Tabela 5. Resultados da avaliação da classificação de Viena nos grupos de pacientes com doença de Crohn em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2)

Classificação de Viena (%)	Grupo 1 N	Grupo 2 N	Teste estatístico	P
Idade A1 (82,5%)	24	9	Exato de Fisher	0,41
A2 (17,5%)	4	3		
Localização L1 (45%)	12	6	Exato de Fisher	0,74
L3 (55%)	16	6		
Comportamento B1 (27,5%)	10	1	Exato de Fisher	0,118
B2 (30%)	6	6		
B3 (17,5%)	6	1		
B2/3 (25%)	6	4		

O PCR estava elevado em 15 pacientes (37,5%) e o US abdominal mostrava alterações em 16 pacientes (40%), alterações estas caracterizadas por espessamento da parede ileal (superior a 4 mm) em 14 pacientes (35%), fístula entero-entérica em um paciente (2,5%) e coleção interalças também em um paciente (2,5%). Na comparação entre os dois grupos, tanto o aumento do PCR quanto as alterações ao US foram mais frequentes no grupo de pacientes com doença em atividade (Tabela 6).

Tabela 6. Resultados da avaliação do PCR e do ultrassom abdominal nos grupos de pacientes com doença de Crohn em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2)

Exame	Grupo 1 N (%)	Grupo 2 N (%)	Teste estatístico	P
PCR normal	22 (88%)	3 (12%)	Exato de Fisher	0,003
PCR elevado	6 (40%)	9 (60%)		
US normal	20 (83,3%)	4 (16,7%)	Exato de Fisher	0,037
US alterado	8 (50%)	8 (50%)		

O volume de fluxo da AMS variou entre 122ml/min e 1150ml/min, com média de 451ml/min. As médias do volume de fluxo da AMS foram comparadas entre os dois grupos, apresentando valores significativamente maiores nos pacientes com DC em atividade (Tabela 7 e Figura 6).

Tabela 7. Resultados da comparação do volume de fluxo da artéria mesentérica superior nos pacientes com DC em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2)

	Volume de fluxo (ml/min)	Desvio-padrão	Diferença entre as médias	Intervalo de confiança (95%)	P
Grupo 1 (n = 28)	376	190	250	106 a 393	0,001
Grupo 1 (n=12)	626	236			

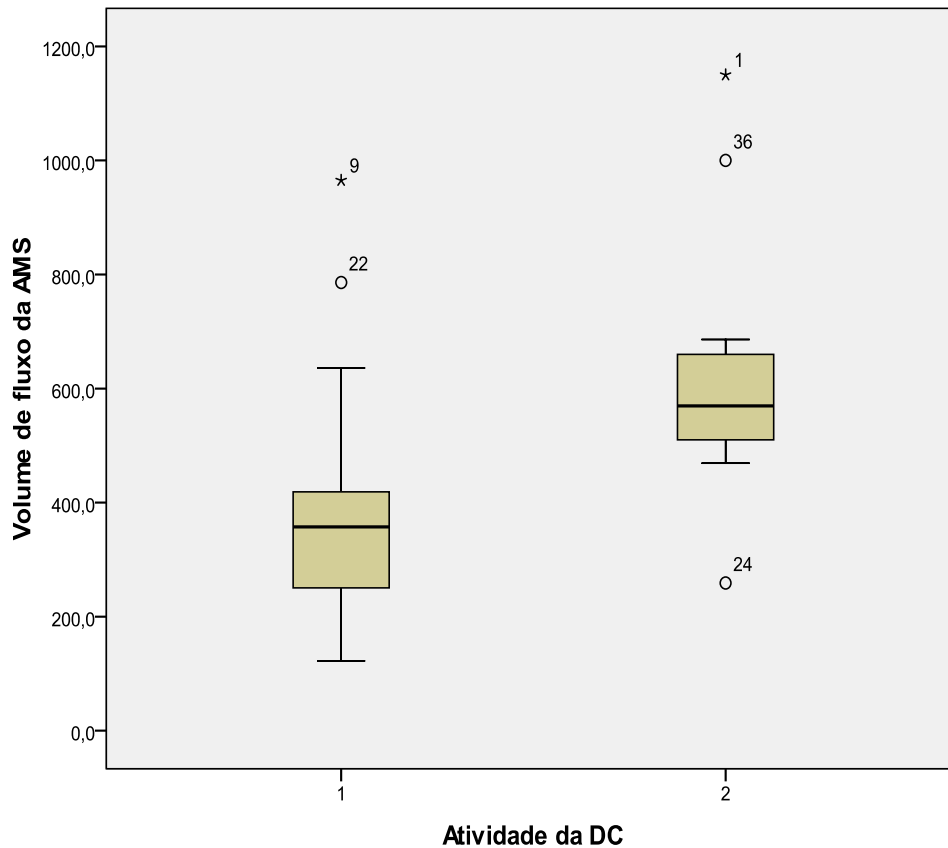


Figura 6. Boxplot da comparação do volume de fluxo da artéria mesentérica superior nos pacientes com DC em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2)

Os resultados do teste de permeabilidade intestinal foram analisados, comparando-se a diferença entre médias da relação entre as taxas de excreção urinária da lactulose e do manitol (T_{LM}) nos grupos de pacientes com DC em remissão e em atividade. A T_{LM} variou entre 0,0004 e 0,2929, com média de 0,0435. Assim como aconteceu com o volume de fluxo da AMS, os valores foram significativamente maiores no grupo com DC em atividade (Tabela 8 e Figura 7).

Tabela 8. Resultados da comparação do teste da permeabilidade intestinal nos pacientes com doença de Crohn em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2)

	$T_{L/M}$	Desvio-padrão	Diferença entre as médias	Intervalo de confiança (95%)	P
Grupo 1 (n = 28)	0,027	0,024	0,056	0,021 a 0,090	0,02
Grupo 2 (n=12)	0,083	0,083			

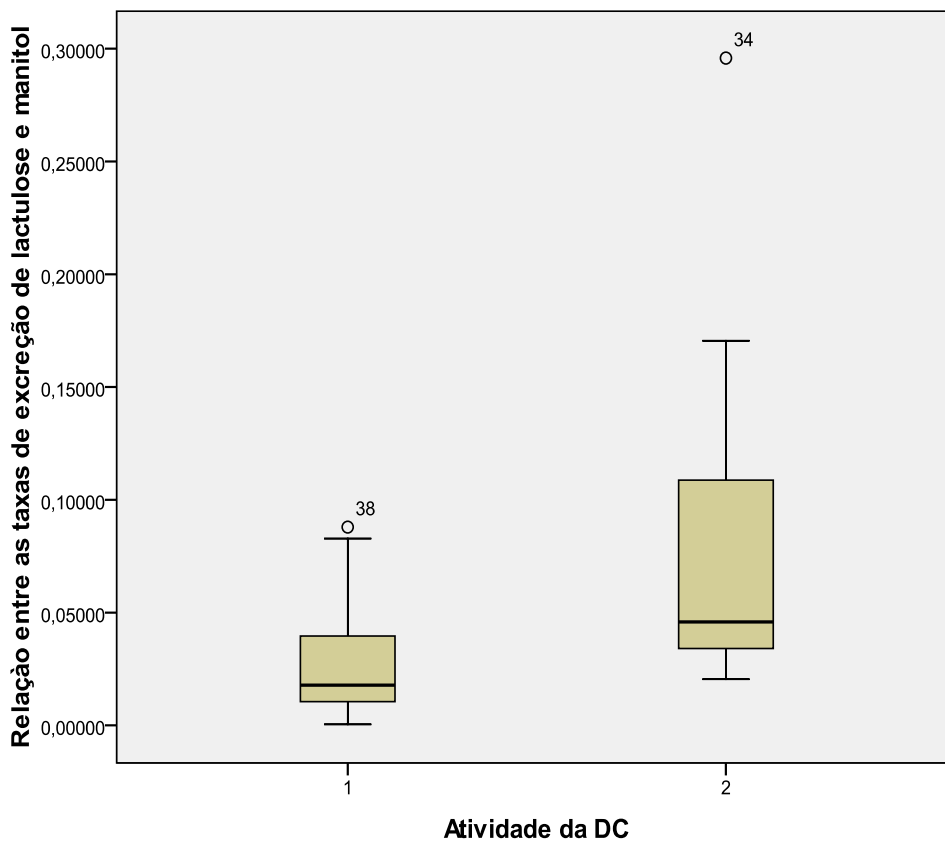


Figura 7. Boxplot da comparação do teste da permeabilidade intestinal nos pacientes com doença de Crohn em remissão (grupo 1) e em atividade (grupo 2)

A curva ROC para o volume de fluxo da AMS apresentou área sob a curva de 0,833 (IC 95%: 0,697 – 0,970), com $p = 0,001$ (Figura 8).

Curva ROC para a medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior

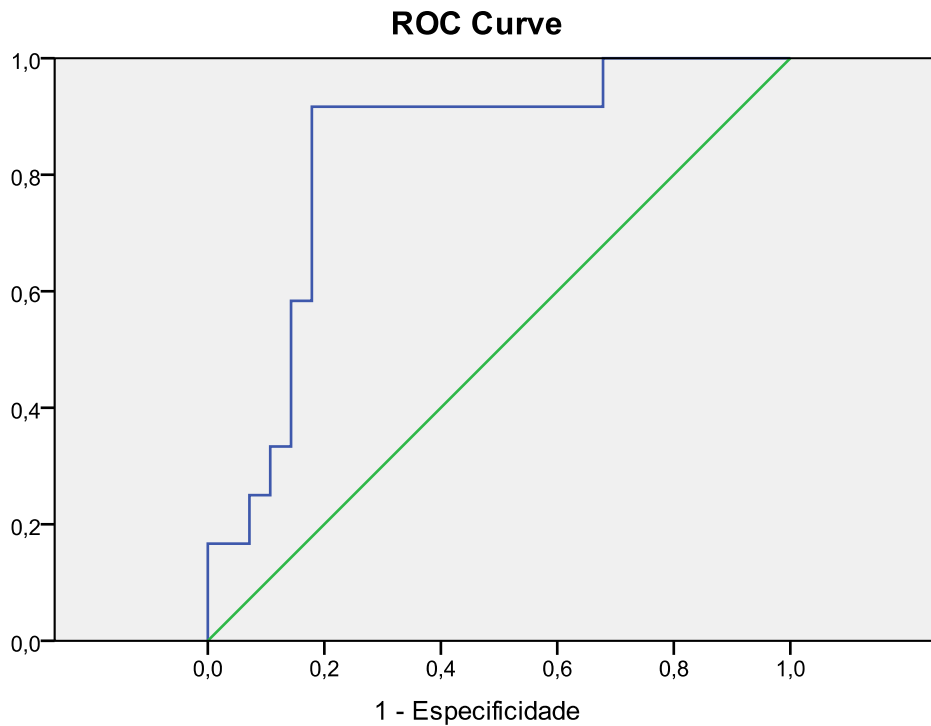


Figura 8. Curva ROC da medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior

O ponto de corte escolhido foi de 500ml/min, considerado pela literatura como o valor limite superior da normalidade para os indivíduos saudáveis e utilizado para o cálculo dos índices de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e razão de verossimilhança (Tabela 9). O resultado alterado da medida do volume de fluxo da AMS associou-se de forma estatisticamente significativa à atividade da DC ($p=0,0001$)

Tabela 9. Desempenho da medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior quando comparada ao CDAI

Sensibilidade (intervalo de confiança a 95%)	Especificidade (intervalo de confiança a 95%)	Valor preditivo positivo (intervalo de confiança a 95%)	Valor preditivo negativo (intervalo de confiança a 95%)	Razão de verossimilhança (intervalo de confiança a 95%)
0,83 (0,51 – 0,97)	0,82 (0,62 – 0,93)	0,67 (0,39 – 0,87)	0,92 (0,72 – 0,99)	4,63 (2,02 – 10,74)

A curva ROC para o teste da permeabilidade intestinal apresentou área sob a curva de 0,81 (IC 95%: 0,677 – 0,942), com $p = 0,002$ (Figura 9).

Curva ROC para o teste da permeabilidade intestinal

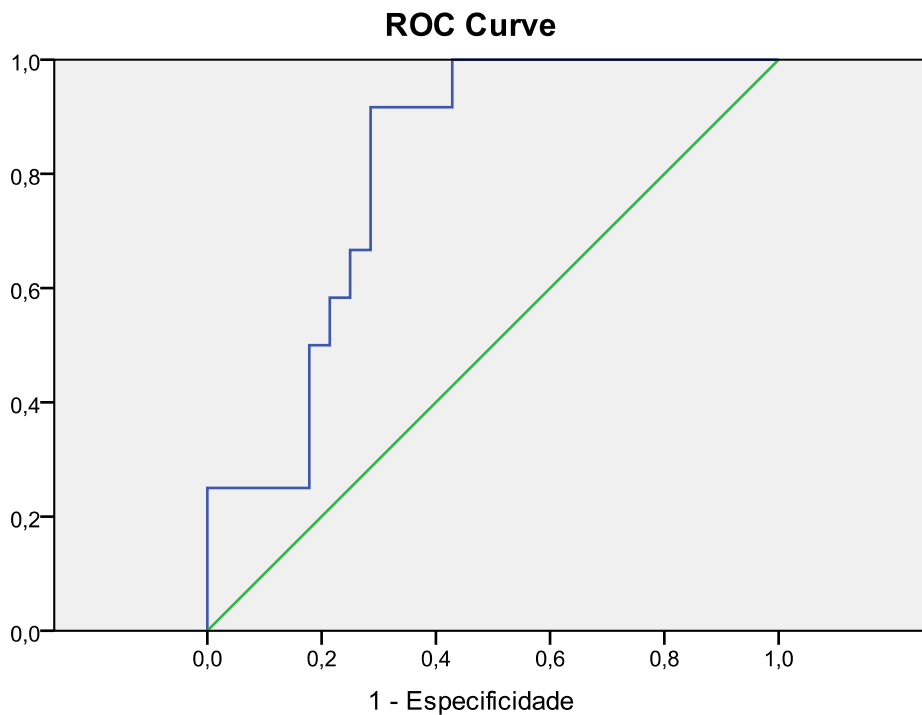


Figura 9. Curva ROC do teste da permeabilidade intestinal

O ponto de corte escolhido para a relação entre as taxas de excreção da lactulose e do manitol foi de 0,015, adotado pela literatura corrente e utilizado para o cálculo dos índices de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e razão de verossimilhança (Tabela 10). O resultado alterado do teste de permeabilidade intestinal também associou-se de forma estatisticamente significativa à atividade da DC ($p=0,017$)

Tabela 10. Desempenho do teste da permeabilidade intestinal quando comparado ao CDAI.

Sensibilidade (intervalo de confiança a 95%)	Especificidade (intervalo de confiança a 95%)	Valor preditivo positivo (intervalo de confiança a 95%)	Valor preditivo negativo (intervalo de confiança a 95%)	Razão de verossimilhança (intervalo de confiança a 95%)
1,0 (0,70 – 1,00)	0,39 (0,22 – 0,59)	0,41 (0,24 – 0,61)	1,00 (0,68 – 1,00)	1,65 (1,22 – 2,21)

Foi realizada ainda a avaliação da concordância entre a medida do volume de fluxo da AMS e o teste de permeabilidade intestinal, sendo obtido índice de Kappa igual a 0,371, indicando concordância fraca.

6 – DISCUSSÃO:

De modo geral, os estudos para avaliação de testes diagnósticos apresentam delineamento análogo a estudos transversais ou de caso-controle, nos quais os testes são avaliados em dois grupos diferentes, um apresentando a condição em estudo e o outro sem a mesma, de acordo com o padrão de referência. Nesses estudos, as seguintes etapas devem, idealmente, ser cumpridas:

- 1 – Avaliação da necessidade de um novo teste diagnóstico: constatação de deficiências nos testes disponíveis.
- 2 – Definição de dois grupos: com e sem a condição em estudo, de acordo com o padrão de referência.
- 3 – Determinação do tamanho da amostra.
- 4 – Aplicação do padrão de referência e do teste em estudo de forma “cega” e independente.
- 5 – Descrição do teste a fim de permitir sua reprodução
- 6 – Avaliação do desempenho do teste em estudo através da comparação com o padrão de referência, definição do ponto de corte e cálculo dos índices de sensibilidade, especificidade, valores preditivos e razões de verossimilhança.
- 7 – Determinação da utilidade do teste.

Dentre as etapas supracitadas, a definição dos grupos de estudo (etapa 2), a aplicação dos testes (etapa 4) e a descrição detalhada dos mesmos (etapa 5), foram previamente abordadas, em Pacientes e Métodos. As demais etapas e a caracterização da amostra estudada serão discutidas a seguir.

6.1 – Avaliação da necessidade dos testes e definição do padrão de referência

Se a avaliação da atividade inflamatória na DC é, por um lado, essencial para a correta abordagem do paciente, por outro, é muitas vezes difícil e subjetiva. Apesar da multiplicidade de métodos propostos para essa avaliação, cujas limitações foram previamente abordadas na introdução, a dúvida quanto à presença ou não de atividade inflamatória em determinado paciente pode ainda persistir.

No Ambulatório de Intestino do HCUFMG, à semelhança do que é relatado na literatura¹³, o diagnóstico de atividade da doença é usualmente baseado na presença de sinais e sintomas dos pacientes e na realização testes laboratoriais simples, como o PCR e o hemograma, este último indispensável para o cálculo do CDAI. Em alguns pacientes, exames endoscópicos ou radiológicos, em especial o trânsito intestinal, são utilizados como métodos adicionais. Outros exames como a avaliação de leucócitos marcados nas fezes e a medida da excreção fecal de calprotectina são pouco disponíveis e muito raramente utilizados, além de apresentar limitações inerentes de sensibilidade e especificidade.

A medida do volume de fluxo da AMS pelo Doppler e o teste da permeabilidade intestinal são exames com reconhecida capacidade de detectar atividade inflamatória na DC, mas de utilidade limitada, no primeiro caso, por tratar-se de exame operador-dependente e tecnicamente difícil em pacientes obesos ou com excesso de gases intestinais e, no segundo caso, por se tratar de um exame pouco disponível e fora do âmbito da prática clínica⁹⁴.

Sandborn et al⁹⁵, após revisão dos índices de atividade da DC, concluíram que o CDAI, por ter sido rigorosamente desenvolvido e amplamente validado, é o padrão de referência ideal para caracterização da atividade da doença. No Brasil, a Portaria SAS/MS nº 858, de 04 de novembro de 2002, que regulamenta o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas sobre DC do Ministério da Saúde, adota o escore de pontos do CDAI para diferenciação entre atividade e remissão da DC⁹⁶. Tais referências, aliadas ao fato do CDAI

ser o índice mais utilizado no Ambulatório de Intestino do HCUFG, justificaram a escolha do CDAI como padrão de referência do estudo, apesar das limitações conhecidas do mesmo^{25,26} quanto à sensibilidade e especificidade.

6.2 – Características dos grupos estudados

Pacientes com acometimento isolado do trato gastrointestinal superior ou do intestino grosso não foram incluídos na casuística, por não apresentarem irrigação sanguínea proveniente da AMS, inviabilizando a utilização da medida do volume de fluxo para detecção de atividade inflamatória nesses pacientes. De acordo com a Classificação de Viena, amplamente aceita como método de definição de subgrupos de pacientes com características distintas da DC¹³, predominaram na amostra estudada o acometimento simultâneo do íleo terminal e cólon (55%), a forma estenosante da doença (30%) e a idade ao diagnóstico inferior a 40 anos (82,5%).

Dorn et al⁹⁷, ao avaliar série de 522 pacientes com DC, encontraram idade ao diagnóstico inferior a 40 anos em 78,9% dos pacientes, acometimento isolado do íleo terminal em 26,3% e do íleo e cólon em 21,9% e predomínio da forma penetrante da doença em 62,8% dos casos, com a forma estenosante sendo identificada em 9,3%. Faria et al⁹⁸, estudou as características clínicas e epidemiológicas da DC em 100 pacientes com DC atendidos no Ambulatório de Intestino do HCUFG e encontrou acometimento isolado do íleo em 44% dos pacientes e acometimento simultâneo do íleo e cólon em 38%; em relação à forma de apresentação clínica da doença, 34% dos pacientes apresentaram forma inflamatória, 35% forma estenosante e 34% forma penetrante.

As diferenças observadas entre a casuística estudada e as relatadas pela literatura, quanto à localização e comportamento da doença no primeiro caso e apenas quanto à localização quando a comparação é feita com dados obtidos em nosso meio, podem decorrer,

pelo menos em parte, ao menor tamanho da amostra do nosso estudo e à triagem inicial dos pacientes realizada para atender aos critérios de inclusão. Após a análise estatística, pode-se observar que as características da DC não apresentaram diferença significativa entre os dois grupos estudados (pacientes em remissão e em atividade).

Dos quatro pacientes inicialmente selecionados e posteriormente excluídos do estudo, dois não compareceram para a realização do teste de permeabilidade intestinal. Os outros dois, que não apresentaram condições técnicas adequadas para realização do Doppler, evidenciavam sobreposição gasosa excessiva, secundária a quadro de semi-obstrução intestinal, limitação esta verificada também em outros estudos^{52, 56, 69, 94}.

6.3 – Determinação do tamanho da amostra

Não encontramos, na literatura pesquisada (MEDLINE, LILACS, SCIELO), nenhum trabalho que avaliou, de forma concomitante, a medida do volume de fluxo da AMS e o teste da permeabilidade intestinal em pacientes com DC, o que dificultou a determinação prévia do tamanho da amostra necessária para avaliação do desempenho dos testes. Assim, optamos por trabalhar com uma amostra de conveniência de 40 pacientes, atendidos no Ambulatório de Intestino do HCUFG no período da coleta de dados para a pesquisa e que satisfizeram os critérios de inclusão.

Após a compilação dos dados e sua análise estatística, utilizamos a diferença entre as médias do volume de fluxo da AMS e a diferença entre as médias da relação entre as taxas de excreção de lactulose e manitol nos grupos em remissão e em atividade da DC para calcular o poder estatístico dos resultados obtidos, empregando-se o programa PS – Power and Sample Size Calculation⁹⁹. Adotando-se nível de significância de 0,05, a amostra estudada apresentou poder estatístico de 1 na avaliação dos dois testes, mostrando-se, portanto, suficiente para demonstrar a diferença entre as médias (*Anexo 4*).

Por outro lado, ao avaliarmos os resultados obtidos na avaliação da curva ROC e dos índices de desempenho dos testes utilizados (sensibilidade, especificidade, valores preditivos e razão de verossimilhança), encontramos, em todos eles, intervalos de confiança a 95% com amplitude superior a 10% do valor do respectivo índice, o que evidencia que o pequeno tamanho da amostra pode, nesse caso, reduzir a precisão da estimativa dos índices¹⁰⁰.

6.4 – Avaliação dos resultados da dosagem de proteína C reativa e do ultrassom abdominal

A elevação do PCR foi mais frequente nos pacientes com doença em atividade ($p=0,003$), refletindo sua utilidade na detecção de inflamação intestinal ativa⁹⁴. No entanto, a mesma estava alterada também em seis pacientes com doença em remissão e dentro dos valores de referência em três pacientes com DC em atividade, retratando o baixo desempenho dessa dosagem, notadamente sua baixa especificidade, como previamente relatado na literatura¹³.

As alterações ao US abdominal também apresentaram, na nossa casuística, associação estatisticamente significativa com a atividade da doença ($p=0,037$). Maconi et al¹⁰¹, em estudo de revisão sobre o papel do US na DC, enfatizam sua importância na avaliação da localização e extensão do segmento intestinal acometido e na detecção precoce de complicações como abscessos e estenoses, porém, questionam a correlação entre alterações ecográficas e atividade da doença. Nesse ponto, os achados da literatura são conflitantes, havendo autores que ressaltam o valor preditivo da medida do diâmetro da parede intestinal para detecção de atividade¹⁰² e estudos que colocam em dúvida esta associação¹⁰³. Na análise dos resultados de nossa casuística, observamos que, entre os 16 pacientes que apresentavam alterações ecográficas, oito apresentavam DC em atividade e oito estavam em remissão e, portanto,

nesse caso, a associação pode ter sido decorrente principalmente do pequeno número de pacientes com alterações ecográficas no grupo 1 (quatro, versus 20 no grupo 2).

6.5 – Avaliação do desempenho da medida do volume de fluxo da artéria mesentérica superior pelo Doppler

A medida do volume de fluxo da AMS apresentou resultados diferentes nos pacientes com doença em remissão e em atividade, com média significativamente maior no grupo 2 ($p=0,001$). Tal achado é compatível com a existência de alterações hemodinâmicas na circulação esplâncnica de pacientes com DC em atividade, caracterizadas por estado hiperdinâmico, provavelmente decorrente de neovascularização e alterações vasculares, tais como dilatação de arteríolas e vênulas, congestão e estase vascular. Fenômenos relacionados à resposta inflamatória aguda inespecífica, como secreção de metabólitos (tromboxane e prostaglandinas) e de outros agentes vasoativos (histamina, bradicinina, serotonina etc.), provavelmente envolvidos na patogênese das alterações circulatórias, estão alterados em pacientes com a doença mal controlada. Apesar dos estudos já realizados sobre as alterações vasculares e circulatórias na DC, os mecanismos subjacentes a essas alterações, seu significado funcional e seu possível papel na patogênese da doença ainda permanecem, em grande parte, desconhecidos. Até o momento, conclusões mais claras e definitivas acerca das alterações vasculares associadas à DC e seu papel na determinação e manutenção de alterações morfológicas na parede intestinal tem sido limitadas, pelo caráter invasivo e complexidade dos instrumentos de investigação⁵².

Embora alguns autores afirmem que os resultados da literatura são conflitantes no que se refere à associação entre as alterações observadas no estudo Doppler da AMS e a presença de atividade inflamatória em pacientes com DC^{59, 103}, acreditamos que tais discrepâncias se devam, primariamente, a diferenças cruciais na metodologia utilizada, notadamente nos

parâmetros empregados para a avaliação Doppler da AMS (velocidade de fluxo, volume de fluxo, índice de resistência e pulsatilidade, velocidade de pico sistólico e velocidade diastólica final) e nos critérios para definição da presença de atividade inflamatória na DC (CDAI, avaliação clínica e laboratorial, métodos endoscópicos, radiológicos ou combinações variáveis dos anteriores).

Van Ostayen et al^{53, 54, 55, 104} publicaram quatro estudos sobre a relação entre as alterações no Doppler da AMS e a presença de atividade inflamatória na DC, utilizando diferentes parâmetros do Doppler e critérios variados para determinação da atividade da doença, embora em nenhum deles o CDAI tenha sido empregado como critério isolado. Em todos esses estudos, os autores encontraram associação entre atividade inflamatória, detectada através de avaliação clínica e laboratorial, eventualmente associada ao escore do CDAI, clearance fecal de α 1-antitripsina, achados endoscópicos e alterações à enteróclise, e aumento do volume de fluxo na AMS, embora a relação não tenha sido consistente para os demais parâmetros Doppler avaliados. Além disso, considerando-se o valor de 500ml/min como ponto de corte para a medida do volume de fluxo da AMS pelo Doppler, esses autores encontraram sensibilidade entre 80% e 83% e especificidade de 87% para o diagnóstico de atividade inflamatória. Erden et al⁵⁶ ao avaliar a associação entre a alteração de parâmetros Doppler da AMS e alterações inflamatórias da região ileocecal, incluindo DC em atividade, também encontraram associação significativa com o aumento do volume de fluxo da AMS.

Os resultados observados em nossa casuística (sensibilidade de 83% e especificidade de 82%) e aqueles relatados por esses autores são bastante semelhantes, tanto na presença de diferença significativa entre as médias do volume de fluxo da AMS pelo Doppler, quanto no desempenho deste teste para o diagnóstico de atividade inflamatória da DC, ainda que a grande amplitude dos intervalos de confiança a 95%, decorrente do reduzido tamanho de nossa amostra, deva ser considerada como fator limitante.

Dentre os estudos que confirmam a associação entre atividade inflamatória e alterações hemodinâmicas, vale destacar aquele realizado por Bolondi et al⁵² que evidenciou associação entre atividade inflamatória e redução do índice de resistência na AMS, caracterizando vasodilatação arterial. Além disso, o estudo Doppler foi repetido em dez pacientes entre sete e 25 dias após o início do tratamento. Em sete casos, nos quais houve resposta clínica e laboratorial ao tratamento, observou-se normalização do índice de resistência da AMS ($p < 0,05$). Os demais três pacientes não apresentaram resposta clínica e mantiveram o índice de resistência alterado.

Entre os autores que questionam o emprego do Doppler para avaliação da atividade inflamatória na DC, Maconi et al¹⁰³ não encontraram associação significativa entre o índice de resistência da AMS e a presença de atividade inflamatória avaliada pelo escore do CDAI; neste caso, o volume de fluxo na AMS, considerado o parâmetro Doppler mais consistente para a avaliação da atividade da doença, não foi estudado. Em outro estudo, Maconi et al⁵⁹ avaliaram a relação entre o volume de fluxo da AMS e múltiplos fatores que pudessem influenciar as alterações hemodinâmicas na DC, incluindo escore do CDAI, localização anatômica e extensão das lesões, espessura da parede intestinal, cirurgias prévias e tipo de tratamento utilizado pelo paciente. Desta vez, a medida do volume de fluxo da AMS apresentou relação com a espessura da parede intestinal no segmento acometido ($p = 0,03$), com cirurgia prévia ($p = 0,02$) e com tratamento com corticoides ($p = 0,06$), mas não se observou associação da mesma com o escore do CDAI ($p = 0,4$). Pode-se supor que o menor volume de fluxo na AMS nos pacientes submetidos a cirurgias e em tratamento com corticoides observado no estudo, seja decorrente da redução da extensão do leito vascular no primeiro caso e da menor atividade inflamatória no segundo. No entanto, não encontramos explicações possíveis para os resultados encontrados nas outras duas variáveis.

Byrne et al⁵⁸ e Sjekavica et al⁶⁰, por outro lado, questionaram a utilidade da medida do volume de fluxo da AMS para caracterização da atividade inflamatória na DC, mesmo após encontrar associação significativa entre aumento do volume de fluxo, CDAI e avaliação clínica da atividade da doença. Tal questionamento baseou-se na constatação da existência de uma faixa de sobreposição de valores das médias de volume de fluxo da AMS entre os grupos de pacientes com DC em remissão e em atividade, próxima ao ponto de corte de 500ml/min. Essa faixa de sobreposição de valores já havia sido observada e comentada por van Ostayen et al^{54, 55, 104}. Na opinião desses autores, seria razoável definir uma “zona cinza” de valores entre 450ml/min e 600ml/min, na qual o teste seria menos útil para caracterizar a atividade inflamatória, devido à presença de pacientes com doença em remissão, mas com volume de fluxo naturalmente mais alto na AMS e pacientes com atividade inflamatória leve, que não apresentariam aumento significativo do volume de fluxo.

A análise dos resultados de nossa casuística mostra a existência de sete pacientes com volume de fluxo da AMS dentro da “faixa cinza”, de valores entre 450ml/min e 600ml/min, onde o exame seria menos útil na avaliação da atividade da DC. Além disso, observamos dois resultados falso-negativos para o estudo Doppler da AMS, caracterizados por CDAI aumentado e volume de fluxo menor que 500ml/min. Destes, um apresentou escore do CDAI de 180 e volume de fluxo da AMS de 469ml/min (se enquadrando, portanto, na “faixa cinza”), mas tratava-se de paciente submetido a enterectomia ileocólica parcial, o que pode explicar a ausência de aumento do fluxo na AMS. O outro paciente apresentava escore do CDAI de 206 e volume de fluxo de 259ml/min. Apesar de não encontrarmos explicação para tal discrepância, o fato do paciente apresentar PCR normal permite a suposição de que talvez o aumento do CDAI, neste caso, se deva a sintomas subjetivos e não relacionados a atividade da doença, influência esta reconhecida pela literatura¹³.

A amostra estudada apresentou ainda cinco resultados falso-positivos para a avaliação Doppler, caracterizados pela presença de volume de fluxo aumentado e CDAI normal. Um destes pacientes apresentava volume de fluxo de 551ml/min (dentro da “faixa cinza”) e escore do CDAI de 143, ambos os valores próximos do limite para definição entre os grupos em remissão e em atividade. Para os demais, não encontramos uma explicação plausível para a discrepância entre o teste e o padrão de referência, mas há que se ressaltar, por outro lado, a necessidade de se buscar métodos melhores que o CDAI para avaliação da atividade da doença.

6.6 – Avaliação do desempenho do teste da permeabilidade intestinal

O teste da permeabilidade intestinal, representado pela $T_{L/M}$, apresentou resultados diferentes nos pacientes com doença em remissão e em atividade, com média significativamente maior no grupo 2 ($p=0,02$). Tal achado é compatível com o conceito de que, em pacientes com DC, a permeabilidade intestinal aumentada se correlaciona com a presença de alterações inflamatórias na mucosa intestinal⁹⁴.

O trato gastrintestinal não é apenas o órgão primário de digestão e absorção, mas constitui também o maior sítio de exposição ao meio externo do corpo humano, sendo local da relação simbiótica entre a microbiota do lúmen intestinal e o hospedeiro. A manutenção da integridade do hospedeiro impedindo a permeação de agressores potenciais, como toxinas, bactérias ou outros antígenos, constitui outra importante função do tubo digestivo e é denominada, genericamente, de barreira gastrintestinal⁶².

O trato gastrintestinal apresenta várias linhas de defesa contra toxinas, antígenos e microrganismos, que incluem mecanismos protetores inespecíficos do lúmen, as células intestinais epiteliais e a resposta imunológica aos agentes invasores. De especial importância para nosso estudo é a proteção oferecida pelas células epiteliais, que constituem a principal

barreira física entre o lúmen do tubo digestivo e o hospedeiro. A rápida renovação celular epitelial, combinada ao peristaltismo, contribui para a função de barreira através da eliminação de antígenos que aderem à superfície mucosa. Contudo é o citoesqueleto, através das junções firmes, que atua como barreira dinâmica, permitindo a passagem bidirecional de várias substâncias, possivelmente incluindo células inflamatórias. Uma vez ocorrida a transposição da barreira epitelial, antígenos presente no lúmen ativam a resposta imunológica⁶², terceira linha de defesa do trato gastrointestinal, que, quando inapropriada, pode desencadear o quadro de resposta inflamatória sustentada característico da DC¹².

Fendas na integridade da barreira epitelial têm sido associadas a várias doenças inflamatórias do trato gastrointestinal, levando à formulação da hipótese do “intestino permeável”. Segundo essa hipótese, o intestino permeável seria decorrente de uma fraqueza primária de origem genética na função de barreira, associada a fatores de estresse para a mesma, como a ingestão de álcool ou antiinflamatórios não esteroides. Em seguida, antígenos ou bactérias do lúmen penetrariam no hospedeiro, iniciando a resposta inflamatória deletéria que origina ou perpetua a doença⁶².

A despeito da existência de diferentes teorias para explicar os mecanismos e vias da permeabilidade intestinal, sabe-se que a excreção de moléculas menores, como o manitol, é relacionada à integridade estrutural da barreira, estando reduzida em situações de atrofia vilositária. Por outro lado, a permeabilidade intestinal a macromoléculas como a lactulose pode ser afetada por células inflamatórias e mediadores intracelulares, tais como citocinas, interferon- γ e fator de necrose tumoral, que fazem parte da patogênese da inflamação tecidual nos pacientes com DC e aumentam a permeabilidade intestinal através da redução da resistência das junções firmes¹⁰⁵.

Considerando-se os achados histopatológicos da DC, acredita-se que a doença resulte de uma resposta imunológica sustentada. Como comentado anteriormente, a penetração de

antígenos causada pela quebra da barreira mucosa é um dos principais fatores implicados na patogênese da DC, mas ainda não se sabe se esse é um evento primário ou secundário às alterações imunes que favorecem o processo inflamatório na doença^{62, 66}.

Em pacientes com DC, a permeabilidade intestinal aumenta com o grau de dano tecidual e tende a retornar para a faixa normal nos pacientes que apresentam sucesso terapêutico, sugerindo correlação entre a atividade da DC e a permeabilidade intestinal⁸⁰. Andre et al¹⁰⁶, estudaram a permeabilidade intestinal, avaliada pelas taxas de excreção de lactulose e manitol e a relação entre as mesmas em 100 indivíduos saudáveis e 47 pacientes com DC, graduando a atividade inflamatória através do índice de Harvey-Bradshaw. Os autores concluíram que os pacientes com DC apresentavam permeabilidade intestinal aumentada em comparação com os indivíduos normais e que a magnitude da alteração era proporcional ao aumento da atividade da doença. Pironi et al¹⁰⁷ também avaliaram a relação entre permeabilidade intestinal, utilizando o ⁵¹Cr-EDTA como substrato, e atividade da DC, avaliada pela mensuração de níveis séricos de proteínas de fase aguda, e encontraram aumento da permeabilidade nos pacientes com DC em atividade, quando comparados aos pacientes em remissão, a pacientes com colite ulcerativa e a controles normais. Nossa casuística apresentou resultados semelhantes, com diferença estatisticamente significativa entre as médias da relação entre as taxas de excreção da lactulose e do manitol nos grupos com doença em remissão e em atividade (p=0,017).

Considerando-se o valor de 0,015 como ponto de corte para a relação entre as taxas de excreção da lactulose e do manitol, obtivemos sensibilidade de 100% e especificidade de 39% para o desempenho do teste da permeabilidade intestinal na detecção de atividade na DC, quando comparado ao escore do CDAI. Pironi et al¹⁰⁷ encontraram sensibilidade de 97% e especificidade de 54% utilizando o ⁵¹Cr-EDTA. Torna-se necessário ressaltar que a ausência de uniformidade metodológica nos trabalhos publicados sobre permeabilidade intestinal e as

diferenças populacionais, além de fatores ambientais e dietéticos que facilitaríamos a exposição da mucosa a antígenos luminais⁶⁹, poderiam ser responsáveis, pelo menos em parte, pelas diferenças observadas.

A análise dos dados obtidos de nossa amostra não evidencia nenhum resultado falso-negativo para o teste da permeabilidade intestinal quando comparado ao escore do CDAI e todos os pacientes do grupo 2, com doença em atividade, apresentaram permeabilidade intestinal alterada. No entanto, obtivemos 17 resultados falso-positivos, ou seja, pacientes com permeabilidade alterada a despeito do CDAI normal. Esses números parecem refletir, à primeira vista, a baixa especificidade do teste da permeabilidade intestinal para caracterização da atividade inflamatória quando comparado ao CDAI e podem estar relacionados, basicamente, a duas causas. A primeira seria o conceito, já difundido na literatura, de que o teste da permeabilidade intestinal tem implicações prognósticas, sendo útil como indicador de recidiva iminente em pacientes com doença em remissão^{94, 108}. Vários estudos^{27, 90, 91, 109} mostram que, em pacientes com DC em remissão, o aumento da permeabilidade intestinal está associado ao aumento do risco de recidiva da atividade inflamatória, sugerindo que a disfunção da barreira mucosa seja um fator para a perpetuação da doença. A segunda seria a capacidade que o teste de permeabilidade intestinal apresenta de refletir alterações funcionais na mucosa intestinal, que resultam de atividade inflamatória subclínica, não detectada por outros critérios de menor sensibilidade, como o CDAI. Esta hipótese fundamenta a utilização do teste da permeabilidade intestinal para monitorização dessas alterações funcionais, em uma linha de pesquisa recente e promissora em DC, que avalia o tratamento da doença não apenas para alívio dos sintomas, mas também com o objetivo de cicatrização da mucosa e alteração da história natural da doença^{110, 111}.

6.7 – Avaliação da concordância entre os testes estudados

Do exposto acima, pode-se concluir que a fraca concordância (0,317) entre a medida do volume de fluxo da AMS e o teste da permeabilidade intestinal na detecção da atividade inflamatória na DC, provavelmente decorre da diferença de intensidade dos mecanismos fisiopatológicos da DC responsáveis pelas alterações dos mesmos.

Certamente, o grande número de resultados falso-positivos do teste da permeabilidade intestinal influenciou negativamente o resultado do índice de Kappa.

6.8 – Determinação da utilidade dos testes

A determinação da utilidade de um teste diagnóstico envolve a resposta de perguntas um tanto quanto subjetivas como em que grau o teste diminuirá a incerteza relacionada ao diagnóstico e como essa redução da incerteza beneficiará o paciente e o médico.

A medida do volume de fluxo da AMS pelo Doppler é exame não invasivo, bem tolerado pelos pacientes, amplamente disponível, de baixo custo e rápido, acrescentando apenas cerca de 15 minutos ao US abdominal, ao qual é usualmente associado e que muitas vezes faz parte da propedêutica solicitada aos pacientes com DC. Embora este teste tenha apresentado uma razão de verossimilhança baixa/intermediária na nossa casuística (4,6, com amplo intervalo de confiança em razão do tamanho reduzido da amostra), acreditamos que, em situações de dúvida no aspecto clínico, a realização do teste possa trazer benefícios ao diagnóstico.

O teste da permeabilidade intestinal, por outro lado, não é exame disponível na prática clínica, fora de centros de pesquisa, embora seu caráter não invasivo e sua boa tolerabilidade pelo paciente favoreçam a sua utilização. Em nosso estudo, mostrou-se mais útil na exclusão de atividade inflamatória, devido ao seu alto valor preditivo negativo (1,0). No entanto, os

dados disponíveis na literatura demonstram o seu potencial para avaliação do risco de recorrência da atividade inflamatória e na monitorização da resposta terapêutica.

7 – CONCLUSÕES

- a) As médias do volume de fluxo da AMS avaliado pelo Doppler foram maiores nos pacientes com DC em atividade.
- b) Os pacientes com DC em atividade apresentaram médias da $T_{L/M}$ maiores que os pacientes em remissão.
- c) Os resultados alterados da medida de fluxo da AMS pelo Doppler e do teste da permeabilidade intestinal se associaram com a atividade da DC, avaliada pela contagem de pontos do CDAI.
- d) A medida do volume de fluxo da AMS pelo Doppler apresentou bom desempenho na avaliação da atividade inflamatória em pacientes com DC.
- e) O teste da permeabilidade intestinal apresentou grande sensibilidade, mas baixa especificidade para o diagnóstico de atividade em pacientes com DC, tomando-se por base a avaliação pelos critérios do CDAI.

8 – PROPOSTAS DE ESTUDO

- a) Como foi demonstrada diferença significativa entre as médias do volume de fluxo da AMS pelo Doppler e da $T_{L/M}$ em pacientes com DC em atividade e em remissão, torna-se necessária a inclusão de novos pacientes, pois o aumento do tamanho da amostra tornará mais fidedigna a avaliação do desempenho dos testes, reduzindo a amplitude dos intervalos de confiança a 95% e, eventualmente, permitindo o cálculo das razões de verossimilhança por faixas de valores, o que aumentaria o conhecimento sobre a capacidade diagnóstica dos testes.
- b) Uma vez reconhecida a utilidade do teste da permeabilidade intestinal para a detecção de pacientes em remissão com maior risco de recidiva da atividade inflamatória, seria útil acompanhar os pacientes estudados de forma prospectiva, no intuito de se avaliar melhor essa característica do exame e sua utilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

1. Stenson WF, Hanauer SB, Cohen RD. Inflammatory bowel disease. In: Yamada T ed. *Textbook of Gastroenterology*. Hong Kong: Wiley-Blackwell, 2009: 1386-72.
2. Souza MH, Troncon LE, Rodrigues CM, Viana CFG, Onofre PHC, Monteiro RA, *et al.* Trends in the occurrence (1980-1999) and clinical features of Crohn's disease and ulcerative colitis in university hospital in southeastern Brazil. *Arq Gastroenterol* 2002; 39 (2): 98-105.
3. Gaburri PD, Chebli JM, de Castro LE, Ferreira JO, Lopes MH, Ribeiro AM, *et al.* Epidemiology, clinical features and evolution of Crohn's disease: a study of 60 cases. *Arq Gastroenterol* 1998; 35 (4): 240-6.
4. Steinwurz F, Scheinberg MA. Serologic diagnosis of inflammatory bowel disease (ASCA and ANCA): evaluation of 70 cases. *GED* 2001; 20 (2): 41-2.
5. Faria LC, Ferrari MLA, Cunha AS. Aspectos clínicos da doença de Crohn em um centro de referência para doenças intestinais. *GED* 2004; 23 (15): 151-164.
6. Hugot JP, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Olson JM, Lee JC, Beaugere L, *et al.* Mapping of a susceptibility locus for Crohn's disease on chromosome 16. *Nature* 1996; 379 (6568): 821-3.
7. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, *et al.* A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411 (6837): 603-6.

* Referências em conformidade com as normas internacionais recomendadas por: ICJE – International Committee of Medical Journals Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Vancouver: ICMJE, 2001. Disponível em: <http://www.icmje.org>.

8. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesaje S, Cezerd JP, Belaiche J, *et al.* Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411 (6837): 599-603.
9. Hollander D, Vadheim CM, Brettholz E, Petersen GM, Delahunty T, Rotter JI. Increased intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their relatives: a possible etiologic factor. *Ann Intern Med* 1986; 105 (6): 883-5.
10. Katz KD, Hollander D, Vadheim C, McElrie C, Delahunty T, Dadufalza UD, *et al.* Intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their relatives. *Gastroenterology* 1989; 97 (4): 927-31.
11. Duchmann R, May E, Heike M, Knolle P, Neutath M, Meyerzum Bushenfelle KH. T cell specificity and cross reactivity towards enterobacteria, bacteroides, bifidobacterim, and antigens from resident intestinal flora in humans. *Gut* 1999; 44 (6): 812-8.
12. Strober W, Ludviksson BR, Fuss IJ. The pathogenesis of mucosal inflammation in murine models of inflammatory bowel disease and Crohn disease. *Ann Intern Med* 1998; 128 (10): 848-56.
13. Sands BE. Crohn's disease. *In*: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH eds. *Gastrointestinal and liver disease. Pathophysiology/Diagnosis/Management*. Philadelphia: WB Saunders Company, 2002: 2005-38.
14. Hollander D. Crohn's disease, TNF- α , and the leaky gut. The chicken or the egg? *Am J Gastroenterol* 2002; 97 (8): 1867-8.
15. Scotinotis I, Rubesin SE, Ginsberg GG. Imaging modalities in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28 (2): 391-421.
16. Gore RM, Balthazar EJ, Ghahremani GG, Miller FH. CT features of ulcerative colitis and Crohn's disease. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 167 (1): 3-15.

17. Hara AK, Alam S, Heigh RI, Gurudu SR, Hentz JG, Leighton JA. Using CT enterography to monitor Crohn's disease activity: a preliminary study. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190 (6): 1512-6.
18. Higgins PD, Caoili E, Zimmermann M, Bhuket TP, Sonda LP, Manoogian B, et al. Computed tomographic enterography adds information to clinical management in small bowel Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13 (3): 262-8.
19. Gasche C, Moser G, Turetschek K, Schober E, Moesh P, Oberhuber G. Transabdominal bowel sonography for the detection of intestinal complications in Crohn's disease. *Gut* 1999; 44 (1):112-117.
20. Sahai A, Belair M, Gianfelice D, Cote S, Gratton J, Lahaie R. Percutaneous drainage of intraabdominal abscesses in Crohn's disease: short and long-term outcome. *Am J Gastroenterol* 1997; 92 (2): 275-8.
21. Hussain SM, Outwater EK, Joekes EC, Ulrich F, Delemarre HB, Bemelman WA et al. Clinical and MR imaging features of cryptoglandular and Crohn's fistulas and abscesses. *Abdom Imag* 2000; 25 (1): 67-74.
22. Low RN, Francis IR, Politoske D, Bennett M. Crohn's disease evaluation: comparison of contrast-enhanced MR imaging and single-phase helical CT scanning. *J Magn Reson Imag* 2000; 11 (2):127-35.
23. Marshall JK, Hewak J, Farrow R, Wright C, Riddell RH, Somers S. Terminal ileal imaging with ileoscopy versus small bowel meal with pneumocolon. *J Clin Gastroenterol* 1998, 27 (3): 217-22.
24. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, Kern Jr F. Development of Crohn's disease activity index. *Gastroenterology* 1976; 70(3): 439-44.
25. de Dombal FT, Softley A. IOIBD report no 1: observer variation in calculating indices of severity and activity in Crohn's disease. *International Organisation for the Study of Inflammatory Bowel Disease. Gut* 1987; 28 (4): 474-81.

26. Papi B, Ciaco A, Bianchi M, Montani S, Koch M, Capurso L. Correlation of various Crohn's disease activity indexes in subgroups of patients with primarily inflammatory or fibrostenosing clinical characteristics. *J Clin Gastroenterol* 1996; 23 (1): 40-3.
27. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2000; 119 (1): 15-22.
28. Wells PNT. Basic principles and Doppler physics. *In: Taylor KJW, Burns PN, Wells PNT eds. Clinical applications of Doppler ultrasound.* Philadelphia: Lippincott-Raven, 1995: 1-1
29. Burns PN. Instrumentation including color flow imaging. *In: Taylor KJW, Burns PN, Wells PNT eds. Clinical applications of Doppler ultrasound.* Philadelphia: Lippincott-Raven, 1995: 19-34.
30. Burns PN. Interpreting and analyzing the Doppler examination. *In: Taylor KJW, Burns PN, Wells PNT eds. Clinical applications of Doppler ultrasound.* Philadelphia: Lippincott-Raven, 1995: 34-98.
31. Perko MJ. Duplex Ultrasound for Assessment of Superior Mesenteric Artery Blood Flow. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2001; 21 (2): 106-117.
32. Bianco C, Moraes PLO. Doença dos vasos viscerais. *In: Nectoux Filho JL, Cunha SS, Paglioli SA, et al eds. Ultra-sonografia vascular.* Rio de Janeiro: Revinter, 2000: 229-238.
33. Cerri GG, Mólnar LJ, Vezozzo DCP. Avaliação dúplex do fígado, sistema portal e vasos viscerais. *In: Cerri GG, Mólnar LJ, Vezozzo DCP eds. Doppler.* São Paulo: Sarvier, 1998:91-130.
34. Granger DN, Richardson PDI, Kvietys PR, Mortillaro NA. Intestinal blood flow. *Gastroenterology* 1980; 78 (4): 837-863.

35. Sieber C, Beglinger C, Jaeger K, Hildebrand P, Stalder GA. Regulation of postprandial mesenteric blood flow in humans: evidence for a cholinergic nervous reflex. *Gut* 1991 (4); 32: 361-6.
36. Moneta GL, Taylor DC, Helton WS, Mulholland MW, Standness DE, Jr. Duplex ultrasound measurement of postprandial intestinal blood flow: effect of meal composition. *Gastroenterology* 1988; 95 (5): 1294-1301.
37. Ray-Chaudhuri K, Ryder SA, Thomaidis T, Mathias CJ. The relationship between blood flow and pulsatility index in the superior mesenteric artery at rest and during constrictor stimuli in normal subjects. *J Clin Ultrasound* 1994 (3); 22: 149-160.
38. Downey DB. The retroperitoneum and great vessels. *In: Rumack CM, Wilson SR, Charboneau JW eds. Diagnostic ultrasound*. St. Louis: Mosby, 1998: 453-86.
39. Gill RW. Measurement of blood flow by ultrasound: accuracy and sources of error. *Ultrasound Med Biol* 1985; 11 (4): 625-641.
40. Rizzo RJ, Sandager G, Astleford , Payne K, Peerson-Kennedy L, Flinn WR et al. Mesenteric flow velocity variations as a function of angle insonation. *J Vasc Surg* 1990; 11 (5): 688-94.
41. Perko MJ, Just S. Duplex ultrasound of superior mesenteric artery: interobserver variability. *J Ultrasound Med* 1993; 12 (5): 259-63.
42. Clark RA, Colley DP, Jacobson ED, Herman R, Tyler G, Stahl D. Superior mesenteric angiography and blood flow measurement following intra-arterial injection of prostaglandine E1. *Radiology* 1980; 134 (2): 327-33.
43. Cooper AM, Braatvedt GD, Qamar MI, Brown H, Thomas DM, Halliwell M, et al. Fasting and postprandial splanchnic blood flow is reduced by a somatostatin analogue (octreotide) in man. *Clinical Science* 1991; 81 (2): 168-75.

44. Sato S, Ohnishi K, Sugita S, Okuda K. Splenic artery and superior mesenteric artery blood flow: nonsurgical Doppler US measurement in healthy subjects and patients with chronic liver disease. *Radiology* 1987; 164 (2): 347-52.
45. Qamar MI, Read AE, Skidmore R, Evans JM, Wells PNT. Transcutaneous Doppler ultrasound measurement of superior mesenteric artery blood flow in man. *Gut* 1986; 27 (1): 100-105.
46. Nakamura T, Moriyasu F, Ban N, Nishida O, Tamada T, Kawasaki T, et al. Quantitative measurement of abdominal arterial blood flow using image-directed Doppler ultrasonography: superior mesenteric, splenic and common hepatic arterial blood flow in normal adults. *J Clin Ultrasound* 1989; 17 (4): 261-8.
47. Brahme F, Lindstöm C. A comparative radiographic and pathological study of intestinal vaso-architecture in Crohn's disease and in ulcerative colitis. *Gut* 1970; 11 (11): 928-40.
48. Wakefield AJ, Dhillon AP, Rowles PM, Sawyerr AM, Pittilo RM, Lewis AAM, et al. Pathogenesis of Crohn's disease: multifocal gastrointestinal infarction. *Lancet* 1989; 334 (8671): 1057-1062.
49. Boijesen E, Reuter SR. Mesenteric angiography in the evaluation of inflammatory and neoplastic disease of the intestine. *Radiology* 1966; 87 (6): 1028-1036.
50. Lunderquist A, Knutsson H. Angiography in Crohn's disease of the small bowel and colon. *AJR Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1967; 101 (2): 338-344.
51. Jäger K, Bollinger A, Valli C, Ammann R. Measurement of mesenteric blood flow by duplex scanning. *J Vasc Surg* 1986; 3 (3): 462-9.
52. Bolondi L, Gaiani S, Brignola C, Campieri M, Rigamonti A, Zironi G, et al. Changes in splanchnic hemodynamics in inflammatory bowel disease: non-invasive assessment by Doppler ultrasound flowmetry. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27 (6): 501-507.

53. van Oostayen JA, Wasser MNJM, van Hogezaand RA, Griffioen G, de Roos A. Activity of Crohn disease assessed by measurement of superior mesenteric artery flow with Doppler US. *Radiology* 1994; 193 (2): 551-4.
54. van Oostayen JA, Wasser MNJM, van Hogezaand RA, Griffioen G, Biemond I, Lamers CBHW, et al. Doppler sonography evaluation of superior mesenteric artery flow to assess Crohn's disease activity: correlation with clinical evaluation, Crohn's disease activity index, and alpha-1-antitrypsin clearance in feces. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 168 (2): 429-43.
55. van Oostayen JA, Wasser MNJM, Griffioen G, van Hogezaand RA, Lamers CBHW, de Roos A. Activity of Crohn's disease assessed by measurement of superior mesenteric artery flow with Doppler US. *Netherlands J Med* 1998; 53 (6): S3-8.
56. Erden A, Cuhmur T, Ölçer T. Superior mesenteric artery Doppler waveform changes in response to inflammation of the ileocecal region. *Abdom Imag* 1997; 22 (5): 483-6.
57. Erden A, Cuhmur T, Ölçer T. Superior mesenteric artery blood flow in patients with small bowel diseases: evaluation with duplex Doppler sonography. *J Clin Ultrasound* 1998; 26 (1): 37-41.
58. Byrne MF, Farrell MA, Abass S, Fitzgerald A, Varghese JC, Thornton F, et al. Assessment of Crohn's Disease Activity by Doppler Sonography of the Superior Mesenteric Artery, Clinical Evaluation and the Crohn's Disease Activity Index: A Prospective Study. *Clinical Radiology* 2001; 56 (12): 973-8.
59. Maconi G, Parente F, Bollan Si, Imbesi V, Ardizzone S, Russo A et al. Factors affecting splanchnic haemodynamics in Crohn's disease: a prospective controlled study using Doppler ultrasound. *Gut* 1998; 43 (5): 645-50.
60. Sjekavica I, Barbaric-Babic V, Krznaric Z, Molnar M, Cukovic-Cavka S, Stern-Padovan R. Assessment of Crohn's disease activity by Doppler ultrasound of superior mesenteric artery and mural arteries in thickened bowel wall: cross-sectional study. *Croat Med J* 2007; 48 (6): 822-30.

61. Travis S, Menzies I. Intestinal permeability: functional assessment and significance. *Clin Sci* 1992; 82 (5): 471-88.
62. DeMeo MT, Mutlu EA, Keshavarzian A, Tobin MC. Intestinal permeation end gastrointestinal disease. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34 (4): 385-96.
63. Davis G, Santa Ana C, Morawski S, Fordtran J. Permeability characteristics of human jejunum, ileum, proximal colon and distal colon: results of potential difference measurements and unidirectional fluxes. *Gastroenterology* 1982; 83 (4): 844-50.
64. Pappenheimer JR, Renkin EM, Borrero LM. Filtration, diffusion and molecular sieving through capillary membranes. A contribution to the pore theory of capillary permeability. *Am J Physiol* 1951; 167 (1): 13-46.
65. Hollander D. The intestinal permeability barrier. A hypothesis as to its regulation and involvement in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27 (9): 721-6.
66. Bjarnason I, MacPherson AJ, Hollander D. Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 1995; 108 (5): 1566-81.
67. Juby LD, Rothwell J, Axon ATR. Lactulose/Mannitol test: an ideal screen for celiac disease. *Gastroenterology* 1989; 96 (1): 79-85.
68. Juby LD, Rothwell J, Axon ATR. Cellobiose/mannitol sugar test – a sensitive tubeless test for celiac disease: results in 1010 unselected patients. *Gut* 1989; 30 (4): 476- 80.
69. Vilela EG. A influência do *Saccharomyces boulardii* na permeabilidade intestinal de pacientes com doença de Crohn em fase de remissão. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Gastroenterologia. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina da UFMG, 2005.
70. Laker MF. Estimation of disaccharidases and urine by gas liquid chromatography. *J. Chromatogr* 1979; 163 (1): 9-18.

71. Behrens R, Docherty H, Elia M, Neale G. A simple enzymatic assay for urinary lactulose. *Clin Chem Acta* 1983; 137 (3): 361-7.
72. Secondulfo M, Iafusco D, Canatu R, deMagistris, Sapone A, Generoso M, et al. Ultrastructural mucosal alterations and increased intestinal permeability in non-celiac, type I diabetic patients. *Dig Liver Dis* 2004; 36 (1): 35-45.
73. Lifsch CH, Shulm RJ. Intestinal permeability tests: are they clinically useful? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 10 (3): 283-7.
74. Rosenfeldt V, Benefeldt E, Valerius NH, Paerregaard A, Michaelsen KF. Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis. *J Pediatr* 2004; 145 (5): 612-6.
75. Bjarnason I, Peters TJ, Veall N. A persistent defect in intestinal permeability in coeliac disease demonstrated by ⁵¹Cr-EDTA absorption test. *Lancet* 1983; 1 (8320): 323-5.
76. Johnston SD, Smye M, Watson RP. Intestinal permeability tests in coeliac disease. *Clin Lab* 2001; 47 (3-4): 143-50.
77. Vilela EG, Ferrari MAF, Torres HOG, Martins FPM, Goulart EMA, Lima AS, et al. Intestinal permeability and antigliadin antibody test for monitoring adult patients with celiac disease. *Dig Dis Sci* 2007; 52 (5): 1304-9.
78. Falth-Magnusson K, Kjellman NI, Magnusson KE. Antibodies IgG, IgA, and IgM to food antigens during the first 18 months of life in relation to feeding and development of atopic disease. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 81 (4): 743-9.
79. Wang X, Andersson R, Soltesz V, Leveau P, Ishe I. Gut origin sepsis, macrophage function, and oxygen extraction associated with acute pancreatitis in the rat. *World J Surg* 1996; 20 (3): 299-307.
80. Meddings JB. Intestinal permeability in Crohn's disease. *Aliment. Pharmacol Ther Suppl* 1997; 11 (3): 47-56.

81. Hollander D, Vadheim CM, Brettholz E, Petersen GM, Delahunty I, Rotter JI. Increased intestinal permeability in patients with Crohn's disease and their relatives. *Ann Int Med* 1986; 105 (6): 883-5.
82. May GR, Sutherland LR, Meddings JB. Is small intestinal permeability really increased in relatives of patients with Crohn's disease? *Gastroenterology* 1993; 104 (6): 1627-32.
83. Peeters M, Geypens B, Claus D, Nevens H, Ghoois Y, Verbek G, et al. Clustering of increased small intestinal permeability in families with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1997; 113 (3): 802-7.
84. 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. *Digest Liver Dis* 2001; 33 (8): 680-5.
85. Breslin NP, Nash C, Hilsden RJ, Hershfield NB, Price LM, Meddings JB, et al. Intestinal permeability is increased in a proportion of spouses of patients with Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2001; 96 (10): 2934-8.
86. Hilsden RJ, Meddings JB, Sutherland LR. Intestinal permeability changes in response to acetylsalicylic acid in relatives of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 1996; 110 (5): 1395-403.
87. Teahon K, Smethurst P, Pearson M, Levi AJ, Bjarnasson I. The effect of elemental diet on intestinal permeability and inflammation in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1991; 101 (1): 84-9.
88. Murphy MS, Easthan EJ, Nelson R, Pearson AD, Laker MF. Intestinal permeability in Crohn's disease. *Arch Dis Chil* 1989; 64 (3): 321-5.
89. Welcker K, Martin A, Kolle P, Siebeck M, Gross M. Increased intestinal permeability in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Med Res* 2004; 9 (10): 456-60.

90. Wyatt J, Volgelsang H, Hubl W, Waldhoer T, Lochs H. Intestinal permeability and prediction of relapse in Crohn's disease. *The Lancet* 1993; 341 (8858): 1437-9.
91. D'Incá 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; 94 (10): 2956-60.
92. Gollop JH, Phillips SF, Melton LJ 3rd, Zinsmeister AR. Epidemiologic aspects of Crohn's disease: a population based study in Olmsted county, Minnesota, 1943-1982. *Gut* 1988; 29 (1): 49-56.
93. Gasche C, Scholmerich J, Brnskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congress of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflam Bowel Dis* 2000; 6 (1): 8 -15.
94. Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 133 (5): 1670-89.
- .
95. Sandborn WJ, Feagan BG, Hanauer SB, Lochs H, Lofberg R, Modigliani R, et al. A review of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in adults with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122 (2): 512-30.
96. Brasil. Portaria SAS/MS nº 858 de 04 de novembro de 2002. Dispõe sobre a regulamentação do Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença de Crohn.
97. Dorn SD, Abad JF, Panagopoulos G, Korelitz BI. Clinical characteristics of familial versus sporadic Crohn's disease using the Vienna Classification. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10 (3): 201-6.
98. Faria LC, Ferrari MLA, Cunha AS. Clinical characteristics of Crohn's disease in a reference center for bowel diseases. *GED* 2004; 23 (15): 151-164.
99. PS – Power and sample size calculation 3.0.12, 2009.
<http://www.mc.vanderbilt.edu/prevmed/ps/index.htm>

100. Pagano M, Gauvreau K. Intervalos de confiança. *In: Pagano M, Gauvreau K eds. Princípios de Bioestatística*. São Paulo: Cengage Learning, 2008: 193-208.
101. Maconi G, Radice E, Greco S, Porro GB. Bowel ultrasound in Croh's disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 2006; 20 (1): 93-112.
102. Bremner AR, Griffiths M, Argent JD, Fairhurst JJ, Beattie RM. Sonographic evaluations of inflammatory bowel disease: a prospective, blinded, comparative study. *Pediatr Radiol* 2006 (9); 36: 947-953.
103. Maconi G, Parente F, Bollani S, Cesana B, Porro GB. Abdominal ultrasound in the assessment of extent and activity of Crohn's disease: clinical significance and implication of bowel wall thickening. *Am J Gastroenterol* 1996; 91 (8): 1604-9.
104. van Oostayen JA, Wasser MNJM, Griffioen G, van Hogezaand RA, Lamers CBHW, de Roos A. Diagnosis of Crohn's ileitis and monitoring of disease activity: value of Doppler ultrasound of superior mesenteric artery flow. *Am J Gastroenterol* 1998; 93 (1): 88-91.
105. 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; 41 (12): 1105-9.
106. Andre F, Andre C, Emery Y, Forichon J, Descos L, Minaire Y. Assessment of lactulose manitol test in Crohn's disease. *Gut* 1988; 29 (4): 511-5.
107. Pironi L, Miglioli M, Ruggeri E, Levorato M, Dallasta MA, Corbelli C, et al. Relationship between intestinal permeability to 51Cr-EDTA and inflammatory activity in asymptomatic patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1990; 35 (5): 582-8.
108. Tibble JA, Bjarnason I. Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2001; 7 (4): 460-5.
109. Arnott ID, Kingstone K, Ghosh S. Abnormal intestinal permeability predicts relapse in inactive Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35 (11): 1163-9.

110. Shergill AK, Terdiman JP. Controversies in the treatment of Crohn's disease: the case for an accelerated step-up treatment approach. *World J Gastroenterol* 2008; 14 (17): 2670-7.

111. Vermeire S, van Assche G, Rutgeerts P. Review article: altering the natural history of Crohn's disease – evidence for and against current therapies. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25 (1): 3-12.

ANEXO 1**FOLHA DE ACOMPANHAMENTO DOS PACIENTES****VOLUME DE FLUXO DA ARTÉRIA MESENTÉRICA SUPERIOR PELO DOPPLER
E TESTE DE PERMEABILIDADE INTESTINAL**

Nome: _____ ID: _____
Idade: ____ Sexo: ____ Data de nascimento: ____/____/____ Registro – HC: _____
Data do ex: ____/____/____

CDAI:**CLASSIFICAÇÃO DE VIENA:****ESTUDO DOPPLER DA ARTÉRIA MESENTÉRICA SUPERIOR:**

Diâmetro: Área: VM: Vol. Fluxo:

TESTE DE PERMEABILIDADE INTESTINAL:

Lactulose: Manitol: Relação L/M:

US:**MÉTODOS DE IMAGEM/ENDOSCÓPICOS:****CIRURGIAS ABDOMINAIS PRÉVIAS:****MANIF. EXTRA-INTESTINAIS:****PCR:**

ANEXO 2
PARECER DO COEP

ANEXO 3

BANCO DE DADOS DOS PACIENTES DO ESTUDO

id	at	idade	sex	id diagn	local	forma	cdai	vf	us	lm	pcr	cir
4	0	47	1	0	1	4	80	636	0	0,0275	0	0
5	0	45	1	0	3	3	67	207	0	0,03807	0	1
6	0	35	1	0	3	1	110	631	1	0,04545	0	0
7	0	40	1	0	1	4	110	250	0	0,0075	0	1
8	0	29	1	0	3	3	75	266	0	0,006	0	0
9	0	28	0	0	3	1	29	965	0	0,06341	0	0
10	0	55	0	1	3	1	24	233	0	0,006	0	1
12	0	28	0	0	3	1	113	404	0	0,01818	1	0
13	0	26	1	0	3	2	25	177	0	0,00259	0	0
14	0	44	0	0	1	1	115	253	0	0,01404	0	0
15	0	40	1	0	3	2	70	285	0	0,01538	0	0
17	0	47	0	0	3	3	134	375	0	0,015	0	1
18	0	34	0	0	1	1	90	362	0	0,0175	0	0
20	0	28	0	0	1	2	80	354	0	0,01591	0	0
21	0	23	1	0	1	1	45	361	1	0,01436	0	0
22	0	48	1	0	3	4	110	786	1	0,02424	1	0
23	0	45	1	0	3	4	88	200	0	0,02016	0	1
25	0	22	0	0	1	2	48	390	1	0,00114	0	0
26	0	25	1	0	3	4	141	445	1	0,05663	1	0
29	0	41	1	0	3	4	39	415	0	0,00612	1	0
30	0	25	0	0	3	3	98	192	0	0,02522	0	0
31	0	57	1	1	1	3	65	423	0	0,01353	0	0
32	0	26	1	0	3	3	111	251	0	0,00044	0	0
35	0	37	0	0	1	1	143	551	1	0,08283	1	0
37	0	48	0	0	1	2	35	368,5	1	0,02931	0	0
38	0	27	0	0	1	1	49	122,4	0	0,08791	0	0
39	0	62	1	1	1	1	103	325,3	1	0,04118	1	0
40	0	48	0	1	3	2	66	303,3	0	0,05621	0	0
1	1	38	1	0	1	3	175	1150	0	0,02048	1	0
2	1	28	0	0	3	4	180	469	0	0,054	1	1
3	1	46	1	0	3	4	165	634	1	0,1705	1	0
11	1	32	1	0	3	4	178	565	1	0,03889	1	1
16	1	52	0	1	1	2	234	548	1	0,03478	1	0

19	1	46	0	1	3	2	170	510	1	0,03333	0	0
24	1	28	0	0	1	2	206	259	0	0,1628	0	0
27	1	46	1	0	1	1	351	510	1	0,04396	0	0
28	1	14	0	0	3	2	234	574	1	0,04771	1	0
33	1	65	1	1	1	2	222	686	1	0,03325	1	0
34	1	34	1	0	3	2	376	610	1	0,29586	1	0
36	1	41	1	0	1	4	155	1000	0	0,05466	1	0

Id: identificação; corresponde à ordem de entrada do paciente no estudo.

At: atividade inflamatória; 0 = pacientes em remissão, 1 = pacientes em atividade. Na tabela, os pacientes em remissão estão agrupados antes dos pacientes em atividade.

Sex: sexo; 0 = masculino, 1 = feminino.

Id diagn: idade ao diagnóstico; 0 < 40 anos; 1 > 40 anos.

Local: localização da doença; 1 = íleo, 3 = ileocólon

Forma: forma da doença; 1 = inflamatória, 2 = estenosante, 3 = penetrante, 4 = estenosante e penetrante.

CDAI: escore do CDAI.

VF: volume de fluxo da AMS em ml/min.

US: ultrassom abdominal; 0 = normal; 1 = alterado.

LM: relação entre as taxas de excreção urinária da lactulose e do manitol.

PCR: proteína C reativa; 0 = normal; 1 = aumentado.

Cir: cirurgia; 0 = ausente; 1 = presente.

ANEXO 4

CÁLCULO DO PODER ESTATÍSTICO DOS RESULTADOS DO ESTUDO

PS logging
Version 3.0.12

Suggested citation:

Dupont WD, Plummer WD: 'Power and Sample Size Calculations: A Review and Computer Program', Controlled Clinical Trials 1990; 11:116-28.

or

Dupont WD, Plummer WD: 'Power and Sample Size Calculations for Studies Involving Linear Regression', Controlled Clinical Trials 1998; 19:589-601.

Type of study: T-test
Requested output: Power
Design: Independent
alpha=0,05 N=12 DIFF=250 SIGMA=70 M=1
Power=1,000

We are planning a study with 12 experimental subjects and 12 control subjects. In a previous study the response within each subject group was normally distributed with standard deviation 70. If the true difference in the experimental and control means is 250, we will be able to reject the null hypothesis that the population means of the experimental and control groups are equal with probability (power) 1,000. The Type I error probability associated with this test of this null hypothesis is 0,05.

Type of study: T-test
Requested output: Power
Design: Independent
alpha=0,05 N=12 DIFF=0,0556 SIGMA=0,01699 M=1
Power=1,000

We are planning a study with 12 experimental subjects and 12 control subjects. In a previous study the response within each subject group was normally distributed with standard deviation 0,01699. If the true difference in the experimental and control means is 0,0556, we will be able to reject the null hypothesis that the population means of the experimental and control groups are equal with probability (power) 1,000. The Type I error probability associated with this test of this null hypothesis is 0,05.
