

**MUCOSITE E ALTERAÇÕES DE PERMEABILIDADE
INTESTINAL EM PACIENTES PORTADORES DE
CÂNCER COLORRETAL METASTÁTICO TRATADOS
COM 5-FLUOROURACIL (5-FU) E IRINOTECANO
(CPT-11)**

MARKUS ANDRET CAVALCANTE GIFONI

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
Interinstitucional (DINTER) em Oncologia da
Fundação Antônio Prudente em Parceria com a
Escola Cearense de Oncologia, para obtenção do
título de Doutor em Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Ronaldo Albuquerque Ribeiro

Fortaleza

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Gifoni, Markus Andret Cavalcante

Mucosite e alterações de permeabilidade intestinal em pacientes portadores de câncer colorretal metastático tratados com 5-Fluorouracil (5-FU) e Irinotecano (CPT-11) / Markus Andret Cavalcante Gifoni – Fortaleza, 2012.

98p.

Tese (Doutorado)-Fundação Antônio Prudente e Escola Cearense de Oncologia – ECO. Programa de Pós-Graduação Interinstitucional (Dinter) Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Dr. Ronaldo Albuquerque Ribeiro

Descritores: 1. MUCOSITE. 2. NEOPLASIAS COLORRETAIS. 3. FLUORURACILA/uso terapêutico. 4. PERMEABILIDADE. 5. INTESTINO DELGADO/metabolismo. 6. METÁSTASE NEOPLÁSICA. 7. QUIMEOTERAPIA.

Aos pacientes, valentes e imprescindíveis colaboradores, que contribuíram com esta pesquisa. Seu gesto de grandeza e generosidade jamais será esquecido.

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o Céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe.”

Leonardo da Vinci

AGRADECIMENTOS

À minha esposa Tatiana, amor pleno e inspiração para uma vida compartilhada de cumplicidade e cheia de grandes momentos de felicidade. Aos meus filhos Diogo e Luísa, inesgotáveis fontes de genuína paixão e de motivação para melhorar a cada dia e transformar a realidade a minha volta.

Aos meus pais, Vera (*in memoriam*) e Gifoni, raízes profundas e fortes que me alimentam de sabedoria a cada momento.

Aos meus irmãos, Gontran, Régys e Liana, orgulho e amizade de eterna parceria com porto seguro em valores e princípios compartilhados.

Ao meu amigo e orientador Dr. Ronaldo Ribeiro, brilhante cientista, ser humano de imenso carisma e líder de uma geração de pesquisadores de grande expressão e a quem posso orgulhosamente denominar meu mentor.

Ao grande professor Aldo Ângelo Moreira Lima, excepcional cientista que ampliou exponencialmente os horizontes deste estudo.

Ao meu amigo professor Roberto César Pereira Lima Júnior, pela inestimável contribuição em todos os momentos e opiniões enriquecedoras para a construção desta tese.

Aos meus amigos e colegas do departamento de Oncologia Clínica Dr. Alberto Pereira, Dr. Alessandro Ernani, Dra. Ângela Diógenes, Dr. Duílio Rocha, Dr. João Paulo Soares, Dra Larissa Mont'Àlverne e Dra. Rosane Sant'Àna a quem agradeço pela diária parceria na árdua missão de aliviar dor e sofrimento.

Aos meus amigos e residentes, Dr. Felipe Marinho, hoje oncologista, Dra. Marcela Monteiro, Dra. Socorro Lopes, Dr. Alarico Marques, Dra. Ana Carolina Leite e Dra. Karine Martins, pelo entusiasmo e avidez na busca do conhecimento cuja proximidade nos garante aprendizado e aprimoramento técnico e humano.

Aos integrantes do centro de pesquisa do Hospital Haroldo Juaçaba Nelson Belarmino, Flávio Bittencourt e Armando Falcão e aos bolsistas de iniciação científica Adriana Barreto Façanha, Carolina Azevedo e Rodrigo Callado, pela indispensável contribuição à qualidade dos dados obtidos.

Finalmente, ao Instituto do Câncer do Ceará, instituição em que trabalho desde o início de minha vida profissional, e ao Hospital A C Camargo, berço de minha formação oncológica a quem devo a oportunidade do aprendizado que esta pós-graduação me proporcionou.

Finalmente aos órgãos de fomento que viabilizaram a execução deste trabalho: CNPq, FUNCAP e CAPES.

RESUMO

Gifoni MAC. **Mucosite e alterações de permeabilidade intestinal em pacientes portadores de câncer colorretal metastático tratados com 5-Fluorouracil (5-FU) e Irinotecano (CPT-11).** Fortaleza; 2012. [Tese de Doutorado-Instituto do Câncer do Ceará/Fundação Antônio Prudente].

Introdução: A melhora da sobrevida dos pacientes com Câncer Colorretal (CCR) metastático proporciona a exposição por prolongados períodos aos agentes anti-neoplásicos disponíveis para o seu tratamento. A compreensão dos mecanismos envolvidos na mucosite gastrointestinal provocada por regimes com irinotecano, fluorouracil e ácido folínico (IFL) é necessária para que se trate com eficácia e segurança o maior número possível de doentes. No entanto, o relato das alterações intestinais associadas à mucosite é até hoje baseada apenas em escalas de sintomas (diarréia, dor abdominal, vômitos e náuseas) referidas pelos pacientes. Métodos: Utilizando o teste de permeabilidade intestinal pela recuperação urinária de lactulose e manitol, 25 pacientes de CCR metastático tratados com regime IFL em primeira linha foram submetidos à comparação da permeabilidade intestinal antes do início do tratamento e após 15 e 29 dias do primeiro ciclo do regime. Amostras do soro dos pacientes no momento antecedente ao início do tratamento e após 15 dias do seu início foram colhidas para comparação da dosagem de citocinas potencialmente envolvidas na mediação da mucosite gastrointestinal (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-18bp e IL-33). Resultados: Em comparação com o controle pré-tratamento, as alterações de permeabilidade intestinal foram significativas ($p < 0,05$) nos dois momentos (D15 e D29) do primeiro ciclo de IFL, guardando correlação significativa com a intensidade de diarréia e dor abdominal reportada pelos pacientes. Não foi possível, entretanto, demonstrar alterações séricas significativas na dosagem das citocinas testadas em comparação ao controle pré-tratamento. Conclusão: O teste de permeabilidade intestinal, portanto, foi capaz de detectar as alterações funcionais de permeabilidade intestinal secundárias à mucosite gastrointestinal provocada pelo regime IFL em pacientes portadores de CCR metastático.

SUMMARY

Gifoni MAC. **[Gastrintestinal mucositis and permeability test abnormalities in metastatic colorectal cancer patients treated with 5-Fluoruracil (5-FU) and Irinotecan (CPT-11)]**. Fortaleza; 2012. [Tese de Doutorado-Instituto do Câncer do Ceará/Fundação Antônio Prudente].

Introduction: The improving survival of patients with metastatic colorectal cancer (CRC) promotes the increasing exposure of individuals with this disease to the effective systemic antineoplastic agents available. The comprehension of the mechanisms involved in the gastrointestinal mucositis associated with the bolus regimen with irinotecan, fluoruracil and folinic acid (IFL) is necessary to improve its efficacy and safety. Nevertheless, it is difficult to obtain a reliable measurement of the intestinal abnormalities caused by mucositis, as almost all the clinical data available is reported on a patient reported symptoms-based scale analysis. **Methods:** With the lactulose/ mannitol intestinal permeability test as the experimental platform, 25 metastatic CRC patients treated with first line IFL were compared at the 15th and 29th day of the first IFL cycle to each one's pretreatment intestinal permeability performance. Blood samples of the same patients were obtained at the preceding moment of the treatment and at 15th day of the IFL first cycle to compare the serum levels of potentially involved cytokines (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-18bp e IL-33). **Results:** In contrast with the pretreatment controls, the permeability test was significantly ($p < 0,05$) altered at the D15 and D29 in patients taking first cycle IFL. This abnormalities also reserve significant ($p < 0,05$) correlation with the diarrhea and abdominal pain symptoms scale reported by the patients. Otherwise, it has not been possible to demonstrate serum levels differences of the addressed cytokines before and after the treatment. **Conclusion:** The lactulose/ mannitol permeability test is an detects functional intestinal abnormalities secondary to gastrointestinal mucositis caused by IFL to metastatic CRC patients.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Taxas de mortalidade das 5 localizações primárias mais frequentes em 2008, ajustadas por idade, pela população mundial, por 100.000 Homens, Brasil, entre 1999 e 2008.....	4
Figura 2	Taxas de mortalidade das 5 localizações primárias mais frequentes em 2008, ajustadas por idade, pela população mundial, por 100.000 Mulheres, Brasil, entre 1999 e 2008.....	4
Figura 3	Fluoropirimidinas: 5-fluorouracil e capecitabina.....	12
Figura 4	Irinotecano: fórmula química.....	13
Figura 5	Oxaliplatina: fórmula química	14
Figura 6	Metabolismo hepático do irinotecano.....	22
Figura 7	Resumo esquematizado da fisiopatologia da mucosite gastrointestinal.....	29
Figura 8	Regime IFL de tratamento: ciclo de 6 semanas.....	42
Figura 9	Plano de coleta de amostras e teste de permeabilidade intestinal...	45
Figura 10	Avaliação de Resposta ao tratamento com IFL.....	50
Figura 11	Incidência de efeitos adversos ao longo do curso do primeiro ciclo de IFL.....	52
Figura 12	Incidência e intensidade da diarreia.....	53
Figura 13	Incidência e intensidade de náuseas.....	54

Figura 14	Incidência e intensidade de vômitos.....	54
Figura 15	Incidência e intensidade de dor abdominal.....	55
Figura 16	Incidência e Intensidade da anemia.....	56
Figura 17	Incidência e Intensidade de neutropenia.....	57
Figura 18	Percentual de excreção de lactulose.....	58
Figura 19	Percentual de excreção do manitol.....	59
Figura 20	Excreção percentual de lactulose/manitol.....	59
Figura 21	Placa de ELISA para dosagem de IL-33.....	63
Figura 22	Dosagem sérica de TNF α	63
Figura 23	Dosagem sérica de IL-1 β	64
Figura 24	Dosagem sérica de IL-6.....	64
Figura 25	Dosagem sérica de IL-33.....	65
Figura 26	Dosagem sérica de IL-18bp.....	65
Figura 27	Dosagem sérica de IL-18.....	66

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Fatores de risco e proteção associados ao câncer colorretal.....	5
Quadro 2	Escalas de avaliação de mucosite oral.....	30
Quadro 3	Estudos clínicos sobre alterações de permeabilidade intestinal em pacientes que receberam quimioterapia.....	34
Tabela 1	Sobrevida global em 5 anos por estadiamento segundo os dados do sistema Surveillance Epidemiology and End-Results (SEER) do Instituto Nacional do Câncer (NCI) norte-americano.....	8
Tabela 2	Características iniciais dos pacientes.....	49
Tabela 3	Coefficientes de correlação entre a intensidade de dor abdominal ou diarreia e as alterações de permeabilidade intestinal.....	61
Tabela 4	Coefficientes de correlação entre a intensidade máxima de anemia ou neutropenia e as alterações de permeabilidade intestinal.....	62

LISTA DE AREVIATURAS

ACOSOG	Grupo Oncológico do Colégio Americano de Cirurgiões
ACS	Sociedade Americana de Câncer
AINES	Anti-inflamatórios não esteroidais
AJCC	<i>American Joint Comission on Cancer</i>
APC	(7-etil-10-[4-N-(5-ácido aminopentanóico)-1 piperidíneo]- carboniloxicamptotecina
C&P	Cabeça e Pescoço
CCR	Câncer Colorretal
CE	Carboxil-esterase
CEA	Antígeno Carcinoembrionico
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
CPNPC	Câncer de pulmão de células não pequenas
CPT-11	Irinotecano
CRAMP	Padrões moleculares associados à lesão induzida por quimioterapia ou radioterapia
CYP3A4	Enzima do complexo citocromo P450 responsável pela conversão do irinotecano em seu metabólito ativo
DAB	Diaminobenzidina
DNA	Ácido desoxiribonucléico
DPD	Diidropirimidina desidrogenase
ECM	Matriz Extracelular
ECOG	Grupo oncológico cooperativo de leste
EGFR	Receptor do Fator de Crescimenno Epidérmico
ELISA	Ensaio de Imunoabsorbância Ligada à Enzima
EROS	Espécimes reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
FAP	Polipose Adenomatosa Familiar
FOLFIRI	Combinação de irinotecano, fluorouracil e ácido folínico + infusão contínua de fluorouracil por 2 dias

FOLFOX	Regime antineoplásico com oxaliplatina, ácido folínico e fluorouracil em bolus + fluorouracil em infusão contínua de 2 dias
Gy	Gray (unidade de medida da dose de radioterapia)
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HMGB-1	<i>Alarmin high-mobility group box-1</i>
HNPCC	Câncer Colorretal Hereditário não Polipóide
HPLC	Cromatografia líquida de alto desempenho
IARC	Agência Internacional de Pesquisa em Câncer
IFL	Regime quimioterápico com Irinotecano, Fluorouracil e ácido folínico em bolus
IGF	Fator de Crescimento Insulina-símile
IL-18	Interleucina 18
IL-1Ra	Receptor da Interleucina-1
IL-1β	Interleucina 1
IL-33	Interleucina 33
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corpórea
INCA	Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva
iNOS	Óxido Nítrico sintase induzida
IROX	Combinação de irinotecano e oxaliplatina
KO	Nocaute
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
L-NAME	N Φ -Nitro-L-Arginina- metil éster
LTH-2	Linfócito T Helper 2
MBL	Medical and Biological Laboratories [®]
MMP	Metaloproteinases da Matriz
MTX	Metotrexato
MUC4	Mucina tipo 4
NCI	Instituto Nacional do Câncer norte-americano
NCI-CTC	Critérios Comuns de Toxicidade do Instituto Nacional do Câncer
NFκB	Fator Nuclear κ B

NPC	(7-etil-10-[4-amino-1-piperidino]-carboniloxicamptotecina)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAD	Detecção amperométrica pulsada
PAF	Fator ativador de plaquetas
PRR's	Receptores de reconhecimento de padrão
RAGE	Produtos finais de glicação ativada
RECIST	CrITÉrios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos
RNA	Ácido ribonucléico
RTOG	Grupo Oncológico de Radioterapia
SEER	<i>Surveillance Epidemiology and End-results</i>
SG	Sobrevida Global
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SLP	Sobrevida Livre de Progressão
SN38	7-etil-hidroxycamptotecina
SN38G	7-etil-10-hidroxycamptotecina-glucoronídeo
TAP	Tempo de atividade de Protrombina
TGI	Trato gastrointestinal
TGO	Transaminase glutâmico-oxaloacética
TGP	Transaminase Glutâmico-Pirúvica
TIMP	Inibidores teciduais das metaloproteinases
TLR's	Receptores <i>toll-like</i>
TNFα	Fator de necrose tumoral
tPA	Ativador de Plasminogênio tissue-type
UDP-GT1A1	Uridina difosfato glucoronil-transferase – 1A1
uPA	Ativador do plasminogênio urokinase-type
VEGF	Fator de Crescimento do Endotélio Vascular
XELOX	Combinação de capecitabina e oxaliplatina

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Câncer Colorretal	1
1.1.1	Epidemiologia	1
1.1.2	Fatores de Risco	5
1.1.3	Estadiamento e Prognóstico	7
1.1.4	Tratamento do CCR	9
1.2	Toxicidade das fluoropirimidinas e do CPT-11	18
1.2.1	Toxicidade às fluoropirimidinas	19
1.2.2	Toxicidade ao irinotecano	20
1.3	Mucosite gastrointestinal associada à quimioterapia	23
1.3.1	Fase I – Iniciação	24
1.3.2	Fase II - Hiperexpressão e síntese de sinais moleculares.....	25
1.3.3	Fase III - Sinalização e amplificação	25
1.3.4	Fase IV – Ulcerativa	27
1.3.5	Fase V - Cicatrização e reparo	28
1.4	Ferramentas de mensuração da mucosite.....	30
1.5	Justificativa	36
2	OBJETIVOS.....	39
2.1	Objetivo geral.....	39
2.2	Objetivos específicos	39
3	METODOLOGIA	40
3.1	Eligibilidade	40
3.1.1	Crítérios de inclusão.....	40
3.1.2	Crítérios de exclusão	40
3.2	Avaliação pré-tratamento	41
3.3	Plano de tratamento.....	42
3.4	Plano de coleta e análise de dados	44

3.4.1	Toxicidade Clínica	44
3.4.2	Teste de permeabilidade intestinal	45
3.4.3	Ensaio de imunoabsorvência ligado a enzima (ELISA) para citocinas	46
3.4.4	Avaliação de resposta ao tratamento	46
3.4.5	Correlação entre o teste de permeabilidade intestinal e escores clínicos.....	47
3.5	Análise Estatística	47
4	RESULTADOS	48
4.1	Perfil dos pacientes	48
4.2	Avaliação de resposta ao tratamento.....	50
4.3	Análise de toxicidade	51
4.4	Análise da permeabilidade intestinal	57
4.5	Correlação da toxicidade clínica com as medições de permeabilidade intestinal	60
4.6	Correlação da Toxicidade Laboratorial com as medições de permeabilidade intestinal	61
4.7	Dosagens de citocinas	62
5	DISCUSSÃO.....	67
6	CONCLUSÕES	77
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

APÊNDICES

Apêndice 1 Termo De Consentimento Livre E Esclarecido

Apêndice 2 Diário De Sintomas

ANEXOS

Anexo 1 Estadiamento Do Câncer Colorretal

Anexo 2 Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST)

1 INTRODUÇÃO

1.1 CÂNCER COLORRETAL

1.1.1 Epidemiologia

O Câncer colorretal (CCR) é um problema de saúde de impacto mundial. De acordo com a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC), em sua estimativa mais recente (FERLAY et al. 2008), o CCR é a terceira neoplasia maligna mais incidente no mundo (excluídas as neoplasias de pele de origem basocelular ou espinocelular) com 1.233.000 casos novos anuais, o que representa 9,7% dos casos novos de câncer, sendo superado pelos tumores malignos do pulmão (1.608.000 casos novos e 12,7%) e da mama (1.383.000 casos novos e 10,9%). Segundo a IARC, 60% dos casos novos deverão ser diagnosticados nos países desenvolvidos.

Esta incidência se dá de maneira equilibrada entre os sexos. Entre as mulheres, o CCR é o segundo mais incidente (FERLAY et al. 2008) com 570 mil casos novos anuais, atrás dos tumores da mama (1.383.000 casos novos), o que representa 8,8 % dos tumores malignos femininos. Já entre os homens, o CCR é o terceiro de maior incidência com menos casos novos do que os tumores de pulmão (1.095.000 casos novos) e de próstata (913.000 casos novos), o que responde por 10% das neoplasias malignas masculinas.

Em sua estimativa global de mortalidade, o impacto do CCR não é menos preocupante. Em 2008, 608.000 pessoas teriam morrido (FERLAY et al. 2008) em consequência dos tumores colorretais. Este número representa 8,0% do total de

óbitos e a quarta causa de morte associada ao câncer, estando a seguir dos tumores de pulmão (1.378.000 mortes e 18,2 %), estômago (738.000 mortes e 9,7%) e fígado (695.000 mortes e 9,2%). Entre as mulheres, o CCR responde pela terceira causa de morte por câncer (8,6% do total), seguinte ao câncer de mama (458.000 mortes e 13,7%) e pulmão (427.000 mortes e 12,8%).

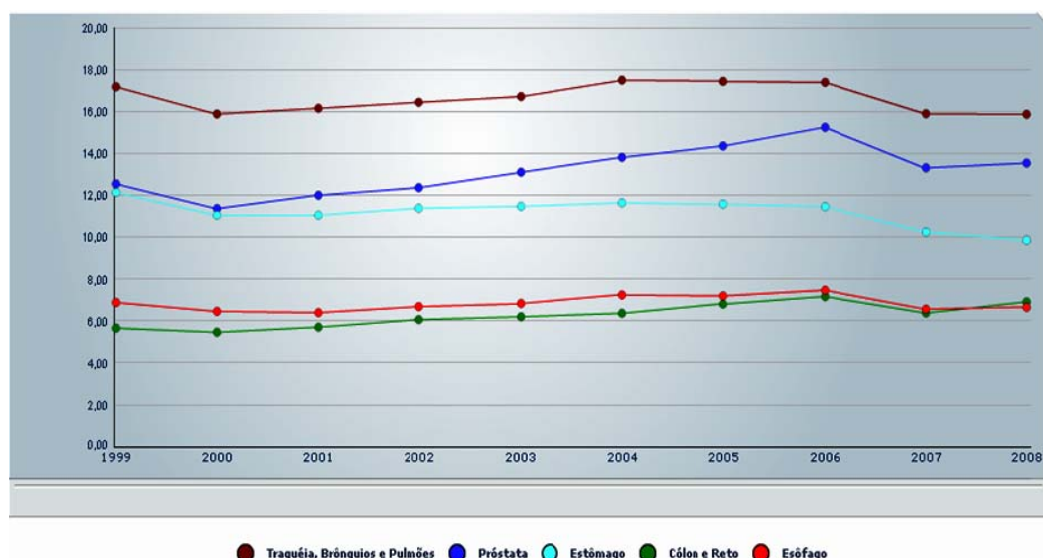
Nos Estados Unidos da América (EUA), a Sociedade Americana de Câncer (2) estimou 141.210 casos novos para 2011, a terceira maior incidência para as neoplasias malignas. A mesma fonte de dados projeta 49.380 mortes por CCR em 2011, o que representa 9% das mortes por câncer na população estadunidense. Naquele país, tanto os dados de mortalidade, quanto os de incidência apontam para uma diminuição da magnitude dos números de CCR nos últimos anos (American Cancer Society-ACS 2011).

O Instituto Nacional do Câncer (INCA), em sua publicação periódica estimativa 2012 (Ministério da Saúde 2011b) contextualiza a incidência de CCR no Brasil. Excetuando-se o câncer de pele não melanoma, o CCR é a terceira neoplasia mais incidente no país com 30.140 casos novos, o que representa 7,8 % dos casos de câncer em pacientes brasileiros. Esta incidência só não supera os tumores da próstata (60.180 casos novos) e da mama feminina (52.680 casos novos).

Ao contrário do observado no panorama global, os casos novos no Brasil têm predominância no sexo feminino. Em 2012, estão estimados 15.960 casos novos (8,4%) de câncer entre as mulheres e 14.180 casos novos (7,3%) entre os homens brasileiros. Isto faz do CCR o terceiro mais frequente seja no sexo masculino, onde é superado pelos tumores de próstata e de pulmão, ou no feminino, onde a incidência é menor do que as neoplasias da mama e do colo uterino.

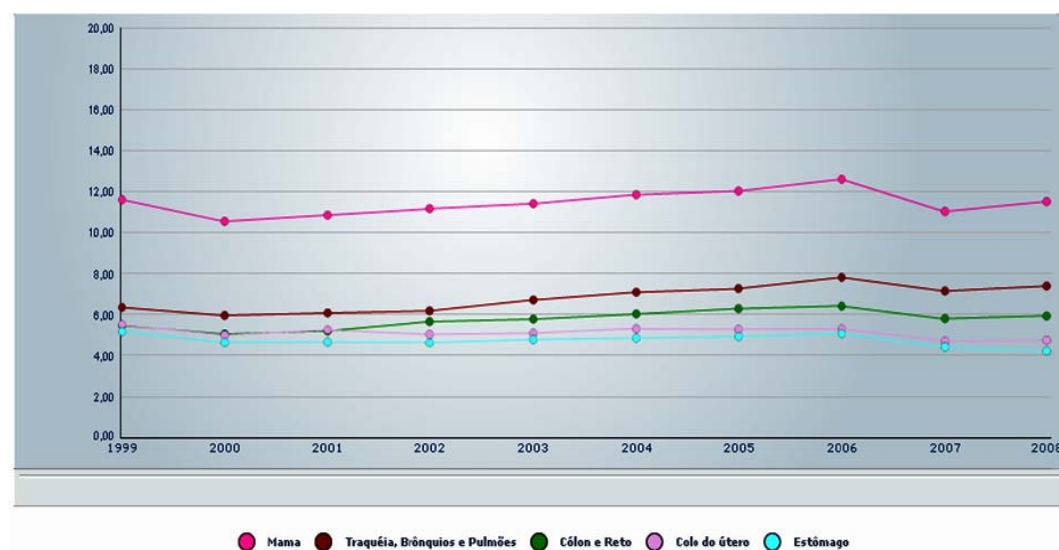
Em particular, no estado do Ceará a incidência relativa do CCR não repete o contexto nacional. Trata-se da sexta neoplasia maligna em incidência com 590 casos novos esperados para 2012. As incidências de neoplasias da próstata (2110 casos novos), mama feminina (1770 casos novos), estômago (1050 casos novos), colo do útero (850 casos novos) e pulmão (840 casos novos) têm maior magnitude do que o CCR. É interessante notar que no município de Fortaleza, o padrão estatístico nacional volta a ser reproduzido uma vez que o CCR é, novamente, o terceiro em incidência com 350 casos, atrás das neoplasias de mama feminina (720 casos) e próstata (490 casos).

No Brasil, quanto à mortalidade por CCR, os dados disponíveis (Ministério da Saúde 2011a) mostram um crescimento das taxas ajustadas para idade na última década com estabilização nos últimos 3 anos (dados disponíveis até 2008). Os dados mostram que entre os homens, o CCR seria a quarta causa de morte por câncer em 2008 (Figura 1), enquanto entre as mulheres no mesmo ano, os tumores do cólon e do reto representaram a terceira causa de morte entre as neoplasias malignas (Figura 2).



Fonte: Ministério da Saúde (2011a)

Figura 1 - Taxas de mortalidade das 5 localizações primárias mais frequentes em 2008, ajustadas por idade, pela população mundial, por 100.000 Homens, Brasil, entre 1999 e 2008.



Fonte: Ministério da Saúde (2011a)

Figura 2 - Taxas de mortalidade das 5 localizações primárias mais frequentes em 2008, ajustadas por idade, pela população mundial, por 100.000 Mulheres, Brasil, entre 1999 e 2008.

1.1.2 Fatores de Risco

Os fatores de risco associados ao CCR não estão completamente compreendidos. A maior incidência em países industrializados como os países europeus e os EUA direcionou os estudos epidemiológicos para identificação de fatores de risco naquelas populações. Além da história familiar, fatores dietéticos têm sido correlacionados ao risco e à proteção para o CCR (Quadro 1).

Quadro 1 – Fatores de risco e proteção associados ao câncer colorretal.

Aumentam o Risco	Diminuem o Risco	Associação Incerta
História Familiar	Rastreamento	Estatinas
Obesidade	Atividade Física	Consumo de Fibras
Doença Inflamatória Intestinal	Aspirina	Frutas e vegetais
Diabetes Mellitus	Cálcio/ Vitamina D	Alto consumo de carne vermelha
Alcool	Terapia de Reposição Hormonal na pós-menopausa	
Tabagismo	Folato	

A história familiar é o fator de risco mais frequentemente associado ao CCR. Um quarto (25%) dos pacientes têm história familiar positiva para a doença à época do diagnóstico e diversas síndromes genéticas conhecidas estão associadas a um maior risco de CCR. A Polipose Adenomatosa Familiar (PAF) é uma doença autossômica dominante rara, associada à mutação germinativa do gene *APC*, na qual o paciente apresenta múltiplos pólipos nos diferentes segmentos do intestino grosso e cujos portadores apresentarão tumores colorretais até a idade de 40 anos, caso não se submetam à colectomia profilática (GALA e CHUNG 2011). Variações da PAF incluem a síndrome de Gardner com lesões extra-intestinais numerosas por tumores

desmóides múltiplos e cistos sebáceos e epidérmicos; ou a síndrome de Turcot que está associada a tumores cerebrais (principalmente meduloblastomas).

O Câncer Colorretal Hereditário não Polipóide (HNPCC) é associado ao desenvolvimento de tumores do cólon direito em idade precoce sem polipose associada. Diversas mutações germinativas em genes de reparo do emparelhamento de nucleotídeos como *hMLH1*, *hMSH2*, *hMSH6* e *PMS1* foram associados ao HNPCC que está também associado a tumores de ovário, endométrio, intestino delgado e estômago (LYNCH e LYNCH 2000).

Doenças crônicas estão também associadas a uma maior incidência de CCR. Portadores de Doença Inflamatória Intestinal têm até dez vezes mais risco de CCR do que uma população normal (JAWAD et al. 2011; KATSANOS et al. 2011; BRADEN et al. 2012). Este risco é maior quanto maior for a extensão das lesões intestinais e mais longa for a duração da doença, seja entre portadores de retocolite ulcerativa ou da doença de Crohn. O Diabetes Mellitus tipo 2 está associado a um risco 30% maior de desenvolver CCR (JIANG et al. 2011; LUO et al. 2012). Este risco relativo é relevante em função da alta prevalência da doença. Os níveis de insulina e de fator de crescimento insulina-símile (IGF) seriam os potenciais mecanismos uma vez que atuam como estimulantes para o tecido do cólon. Portadores de acromegalia, possivelmente também em função dos elevados níveis de IGF, têm risco relativo de 2,5 para o diagnóstico de CCR (RENEHAN et al. 2003; DWORAKOWSKA et al. 2010).

Estudos epidemiológicos identificam fatores dietéticos e de estilo de vida que podem contribuir para o desenvolvimento de CCR. Embora os dados epidemiológicos tenham uma base de evidência ainda inconsistente, o alto consumo

de carne vermelha (CROSS et al. 2010; ALEXANDER et al. 2011; HEBELS et al. 2012) e o baixo consumo de fibras (BINGHAM et al. 2003), parecem estar associados ao risco de CCR. Obesidade (HJARTAKER et al. 2008; ODEGAARD et al. 2011), ingestão de álcool (TORIOLA et al. 2008), e sedentarismo (SPENCE et al. 2009; PHAM et al. 2012) estão também associados a um maior risco. Entre os micronutrientes, Cálcio, Vitamina D (CROSS et al. 2011; RAMAN et al. 2011), folato (PRINTZ 2011) estão associados à proteção do CCR. Estratégias farmacológicas com potencial redução do risco de CCR envolvem o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) como aspirina (CHAN et al. 2012) ou inibidores da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) (WANG e DUBOIS 2010), as estatinas (drogas usadas para tratamento de dislipidemias) (FLICK et al. 2009; SIMON et al. 2012) ou a terapia estrogênica de reposição hormonal em mulheres pós-menopausadas (GRIMES e LOBO 2002; DELELLIS HENDERSON et al. 2010).

1.1.3 Estadiamento e Prognóstico

O estadiamento cirúrgico permanece como ferramenta mais acurada para estabelecer o estágio da doença nos pacientes recém diagnosticados. A profundidade da lesão na parede intestinal (T), o número de linfonodos acometidos (N), e a presença de metástases a distância (M) continuam sendo as informações mais relevantes para esta definição. A *American Joint Commission on Cancer* (AJCC) revisou a sua classificação TNM em 2010, na sua sétima versão (EDGE et al. 2010) normatizando o estadiamento da forma apresentada no Anexo 1.

O prognóstico dos pacientes com CCR varia conforme o estadiamento e a disponibilidade de tratamento. De maneira global, dados norte-americanos (ACS

2011) apontam para taxas de sobrevida que variam entre 83% de sobrevida no primeiro ano até 65% em 5 anos, continuando em queda para 58% em 10 anos. Por estágio do TNM, as taxas de sobrevida variam sendo mais altas tanto mais precoce o diagnóstico da doença (Tabela 1). Desta forma, muitos pacientes se beneficiam do diagnóstico precoce.

Dados publicados pelo Grupo Oncológico do Colégio Americano de Cirurgiões (ACOSOG) (NEWMAN et al. 2006) afirmam que naquela população 24% dos pacientes seriam diagnosticados com o Estádio I, contra 30% com o estágio II, 26% com o estágio III e 20% com o estágio IV. Há razões (falta de acesso ao diagnóstico, ausência de um programa de rastreamento) para acreditar que, apesar de indisponíveis, os dados na população brasileira devem incluir uma maior proporção de pacientes diagnosticados com CCR em estádios avançados (III e IV).

Tabela 1 – Sobrevida global em 5 anos por estadiamento segundo os dados do sistema Surveillance Epidemiology and End-Results (SEER) do Instituto Nacional do Câncer (NCI) norte-americano.

Estádio	Sobrevida em 5 anos (%)
I	>95%
IIA	85%
IIB	79%
IIC	58%
IIIA	87 a 68%
IIB	68 a 60%
IIIC	34 a 19%
IVA	-
IVB	-

1.1.4 Tratamento do CCR

- **Doença localizada**

Nos estágios iniciais, quando não houve disseminação metastática, o tratamento cirúrgico da lesão primária é o mais importante. A remoção cirúrgica em bloco do segmento comprometido com dissecação linfonodal até o vaso que nutre a região comprometida visa eliminar a doença local com margens. Diante do risco de recorrência da doença, a quimioterapia adjuvante oferece a possibilidade de redução das chances de progressão da doença com benefício em sobrevida demonstrado.

Para o estágio II, o benefício alcançado é discutível e gera controvérsias quanto a sua indicação. Na ausência de grandes estudos prospectivos randomizados de boa qualidade, algumas metanálises (MAMOUNAS et al. 1999; GILL et al. 2004) afirmam haver benefício significativo do tratamento com fluoropirimidinas, enquanto a conclusão de outras bases de dados (FIGUEREDO et al. 2004; ANONYMOUS 1999) aponta na direção oposta. O maior estudo a se debruçar sobre pacientes com estágio II (Quasar Collaborative Group et al. 2007) com 2963 pacientes, após um seguimento mediano de 5,5 anos sugere uma redução absoluta do risco de morte de 3,6% em favor dos pacientes tratados com fluorouracil e ácido folínico.

Para pacientes com estágio III, a incorporação da oxaliplatina, derivado semi-sintético da cisplatina, ao tratamento adjuvante melhorou os resultados. Estes pacientes, apesar do alto risco de recorrência da doença, são tratados de maneira curativa com cirurgia seguida de quimioterapia adjuvante. No entanto, 3 estudos diferentes (ANDRÉ et al. 2009; KUEBLER et al. 2007; HALLER et al. 2011) demonstram o benefício da adição da oxaliplatina aos regimes baseados em

fluoropirimidinas no tratamento adjuvante, reduzindo a mortalidade em 14% após seguimento de 6 anos.

Os tumores do reto recebem uma classificação mais complexa conforme a topografia de origem, sendo divididos em reto baixo (até 5cm da margem anal), reto médio (5-10cm da margem anal) e reto alto (10-15cm da margem anal). Em função das maiores taxas de recorrência local, a excisão total do mesoreto (ENKER 1997) é a cirurgia adequada para minimizar o risco de recidiva, sendo indicado tratamento complementar concomitante com quimioterapia baseada em fluoropirimidinas associado a radioterapia (50,4 Gy em 25 frações) (ANONYMOUS 1990).

Nas regiões mais distais do reto baixo, quando a preservação do esfíncter anal não é possível, a amputação abdomino-perineal do reto obriga o paciente a conviver com a colostomia definitiva, o que pode ser evitado com o tratamento neoadjuvante com quimioterapia baseada em fluoropirimidinas concomitante a radioterapia. Estudo alemão (SAUER et al. 2004) mostrou que esta modalidade terapêutica, quando feita antes da cirurgia, diminui as taxas de recorrência local, a toxicidade do tratamento e aumenta as chances de preservação do esfíncter, sendo a radioquimioterapia neoadjuvante, a opção preferencial para os tumores de reto médio e baixo.

- **Doença metastática**

Os tumores do cólon e reto têm grande potencial para disseminação à distância. Os sítios de metástases mais frequentes dos tumores colorretais são fígado (38-60%), linfonodos abdominais (39%), pulmão (38%), peritônio (28%), ovário (18%), adrenal (14%), pleura (11%), osso (10%) e cérebro (8%) (KEMENY e

SEITER 1993) e as manifestações clínicas da doença metastática variam com o sítio acometido e o prognóstico dos doentes com metástase à distância costuma ser reservado apesar dos recentes avanços na cirurgia de lesões metastáticas, com expectativa de controle de longo prazo em mais uma parcela significativa dos pacientes (VERWAAL et al. 2003; NORDLINGER et al. 2008).

- **Fluoropirimidinas**

Durante cerca de trinta anos, até meados da década de 90, as fluoropirimidinas eram a única opção de terapia sistêmica eficaz. O 5-fluorouracil inibe a ação da enzima timidilato sintase, responsável pela síntese de timina a partir do nucleotídeo precursor (uracil-fosfato). O ácido folínico aumenta a afinidade da droga pela enzima-alvo, potencializando o seu efeito. (SOBRERO et al. 2000). Estudos prospectivos demonstraram que o 5-fluorouracil prolonga a sobrevida e melhora a qualidade de vida para pacientes com Câncer Colorretal metastático com aumento da porcentagem com sobrevida de um ano de 37% para 50 % e um ganho de sobrevida estimado em 3,7 meses (ANONYMOUS 2000). Dados de uma metanálise ressaltam que os esquemas com infusão contínua de 5-fluorouracil são superiores aos regimes em bolus com maiores taxas de resposta, melhores sobrevidas livre de progressão e global (ANONYMOUS 1998a) e menor toxicidade (ANONYMOUS 1998b). Mais recentemente, a incorporação da capecitabina: pró-droga oral com equivalência de eficácia demonstrada em comparação aos regimes com fluorouracil (HOFF et al. 2001; VAN CUTSEM et al. 2001), trouxe uma opção mais confortável para o uso das fluoropirimidinas. Provavelmente pela sua forma de administração (2 vezes por

dia por 14 dias), o perfil de toxicidade da capecitabina se assemelha ao dos regimes infusionais do fluorouracil.

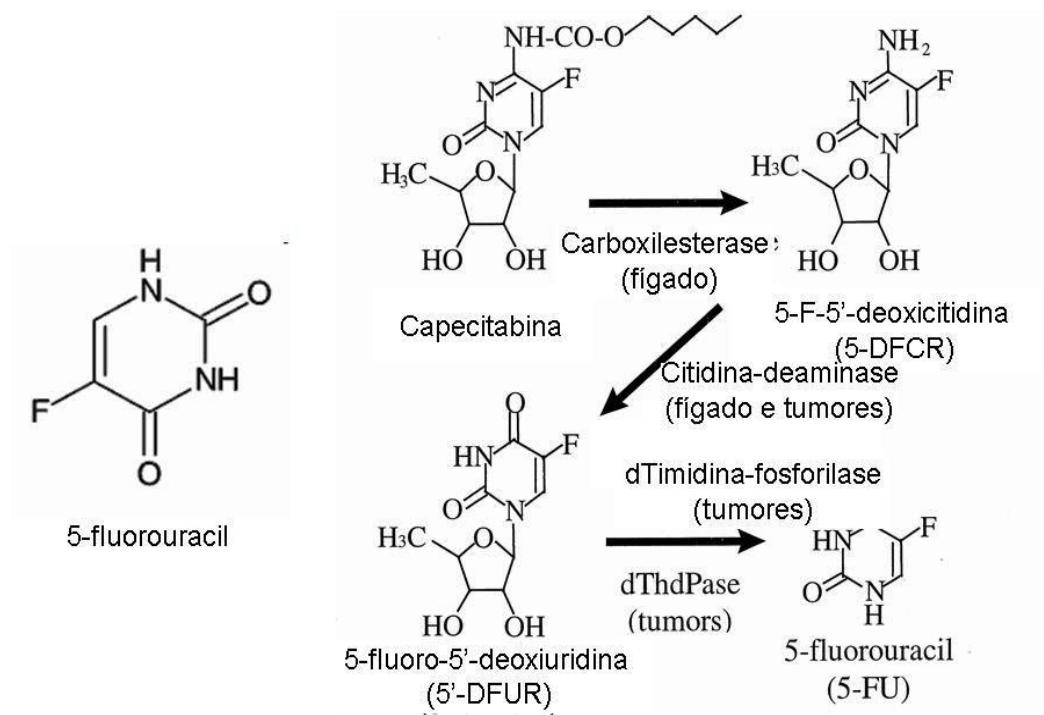


Figura 3 – Fórmula química das fluoropirimidinas: 5-fluorouracil e capecitabina. À direita as etapas do metabolismo de conversão da capecitabina (pro-droga oral) e fluorouracil.

- **Irinotecano**

Se há quinze anos, as opções de tratamento sistêmico para o Câncer Colorretal poderiam ser consideradas restritas, mais recentemente, algumas drogas foram incorporadas ao arsenal terapêutico como opções ao tratamento destes pacientes (DAVIES e GOLDBERG 2011). O irinotecano (CPT-11), derivado semi-sintético do alcalóide natural camptotecina, é um exemplo. Dois estudos de fase III

mostraram benefício do uso do irinotecano em segunda linha após falha ao fluorouracil em bolus, seja contra o melhor suporte clínico exclusivo (CUNNINGHAM et al. 1998), ou contra o regime infusional com 5-fluoruracil (ROUGIER et al. 1998) acrescentando ganhos também em qualidade de vida.

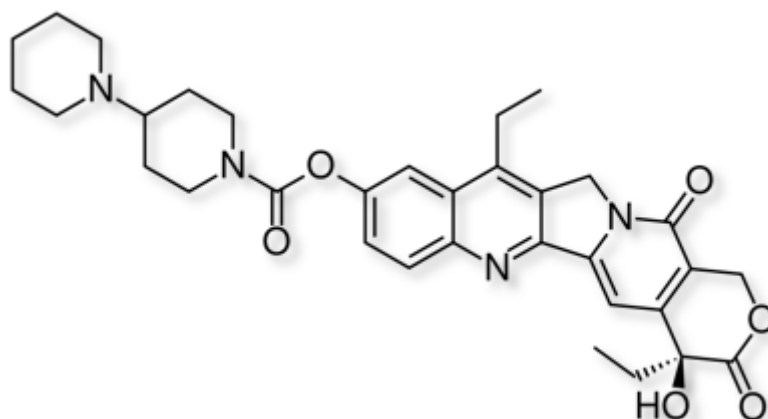


Figura 4 – Irinotecano: Fórmula química

Estudos multicêntricos mostraram que o acréscimo de irinotecano aos esquemas considerados padrão com 5-fluoruracil para CCR metastático traz ganhos seja para o regime em bolus (SALTZ et al. 2000) ou infusional (DOUILLARD et al. 2000). Os braços tratados com CPT-11 mostraram melhor taxa de resposta (35 vs. 22%) maior tempo mediano para progressão (6,7 meses x 4,4 meses) e sobrevida global (SG) mediana (17,1 meses vs. 14,1 meses). No entanto, globalmente os regimes com CPT-11 se mostraram invariavelmente mais tóxicos, embora a toxicidade tenha sido considerada manejável. Posteriormente, o CPT-11 associado ao regime infusional de fluorouracil (FOLFIRI) se mostrou superior ao regime de combinação do CPT-11 com fluorouracil em bolus (IFL) (FUCHS et al. 2008) em sobrevida

mediana livre de progressão (SLP) (7,6 vs. 5,9 meses $P= 0,004$) mas falhou refutar a equivalência em sobrevida global mediana (23,1 vs. 17,6 meses $P= 0,09$).

- **Oxaliplatina**

Outro agente citotóxico desenvolvido com sucesso em paralelo ao CPT-11 foi a oxaliplatina (RAYMOND et al. 1998). Derivado sintético de terceira geração da cisplatina, a oxaliplatina em combinação ao regime infusional de fluorouracil (FOLFOX) mostrou-se superior ao fluorouracil infusional isolado em segunda linha após falha ao CPT-11 (ROTHENBERG et al. 2003) com melhor taxa de resposta (9% vs. 0%) e tempo mediano para progressão (4,6 vs. 2,7 meses). Essa superioridade também ficou evidente na indicação de primeira linha (DE GRAMONT et al. 2000), quando a superioridade do regime FOLFOX sobre o fluorouracil infusional ficou demonstrada em tempo mediano para progressão (9,0 vs. 6,2 meses) embora a sobrevida global mediana não tenha se mostrado diferente entre os grupos (16,2 vs 14,7 meses), provavelmente em função do *cross-over* dos pacientes no grupo controle que receberam a oxaliplatina em segunda linha.

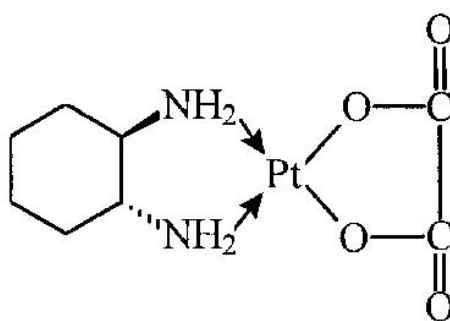


Figura 5 – Oxaliplatina: fórmula química

Em seguida, as comparações entre regimes baseados em oxaliplatina e CPT-11 foram exploradas. Um estudo comparativo randomizado de fase III entre os regimes FOLFOX, IFL e IROX (combinação de oxaliplatina e cpt-11 sem

fluorouracil) (GOLDBERG et al. 2004) (63) mostrou superioridade do FOLFOX em taxa de resposta (45% vs. 31% vs. 35% $P= 0,0014$), tempo livre de progressão (8,7 vs. 6,9 vs. 6,5 meses $P= 0,001$) e sobrevida global sobre o IFL (19,5 vs. 15 vs. 17,4 meses $P= 0,04$). Estes dados motivaram a lógica comparação de fase III entre FOLFOX e FOLFIRI com *cross-over* obrigatório em segunda linha (TOURNIGAND et al. 2004), estudo que demonstrou equivalência entre os grupos seja para taxa de resposta, sobrevida livre de progressão ou sobrevida global.

Com a disponibilidade destes novos agentes citotóxicos, os estudos de segunda linha reafirmaram os benefícios de oferecer as drogas disponíveis após a progressão da doença (SEYMOUR et al. 2007; KOOPMAN et al. 2007). A análise retrospectiva dos dados de vários estudos concluiu que a utilização concomitante ou sequencial das drogas (fluorouracil, CPT-11 e oxaliplatina) no tratamento paliativo resulta em melhores desfechos do que o uso de combinações que prescindam de uma delas (GROTHEY et al. 2004; GROTHEY e SARGENT 2005).

- **Anticorpos monoclonais**

Outros agentes que melhoraram os resultados do tratamento sistêmico paliativo em CCR são os agentes biológicos, também denominados terapias alvo específicas. Os anticorpos monoclonais bevacizumabe, cetuximabe e panitumumabe são hoje tratamentos de uso estabelecido em CCR metastático.

O anti-angiogênico bevacizumabe é um anticorpo humanizado contra o Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF). As expectativas em torno desta molécula foram altas quando o estudo de fase III comparando IFL com bevacizumabe vs. IFL mostrou diferença de sobrevida global de 20,3 vs. 15,6 meses

($P= 0,001$) (HURWITZ et al. 2004). Com o registro da droga, um estudo subsequente que comparava FOLFIRI vs IFL recebeu uma emenda para inclusão de bevacizumabe em ambos os braços. Os resultados mostraram taxas de resposta e sobrevida livre de progressão comparáveis, porém a sobrevida global mediana favoreceu o braço com FOLFIRI + bevacizumabe (28 vs.19,2 meses) ($P= 0,037$) (FUCHS et al. 2008). O esperado estudo comparativo entre capecitabina + oxaliplatina (XELOX) vs. FOLFOX recebeu emenda para nova randomização entre bevacizumabe ou placebo. Os resultados mostraram apenas um pequeno ganho de sobrevida livre de progressão para o bevacizumabe, sem diferença em taxas de resposta ou sobrevida global (SALTZ et al. 2008) .

Em pacientes previamente tratados, os resultados dos estudos com bevacizumabe também demonstram benefício do uso da droga. Após progressão da doença à terapia de primeira linha, um estudo de fase III (GIANTONIO et al. 2007) comparou FOLFOX + bevacizumabe vs. FOLFOX e mostrou redução da mortalidade de 25% no braço experimental.

Diante destes dados, uma metanálise (WELCH et al. 2010) confirma os efeitos benéficos da adição de bevacizumabe à quimioterapia paliativa em CCR metastático. Os dados apontam para uma redução significativa da mortalidade em 21% ($P=0,0005$) do risco de progressão da doença em 47% ($P=0,0004$) e aumento da taxa de resposta. Os dados da metanálise contemplam de maneira mais clara o benefício do anticorpo anti-VEGF, nem sempre aparente nos estudos individuais com resultados, por vezes, negativos.

Os anticorpos contra o Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR) são outros agentes biológicos de uso estabelecido em CCR metastático.

Anticorpo quimérico da classe IgG1 contra EGFR, o cetuximabe liga-se ao domínio extracelular do receptor, impedindo a conexão com o seu ligante e potenciando um possível efeito imune citotóxico. Ao contrário do bevacizumabe, o cetuximabe possui um marcador molecular preditivo de resposta. Apenas pacientes com o oncogene *KRAS* na sua forma selvagem responderam ao medicamento com aumento da taxa de resposta em 17% ($P<0,05$), da sobrevida livre de progressão (9,7 vs. 8,4 meses $P<0,05$) e da sobrevida global (23,5 vs. 20 meses $P<0,05$). Pacientes com mutação do *RAS* (40% dos casos) não devem receber o anticorpo (VAN CUTSEM et al. 2009; VAN CUTSEM et al. 2011).

Associado à oxaliplatina, os resultados dos estudos mais robustos com cetuximabe não mostram a mesma superioridade sobre a quimioterapia isolada. Apenas um estudo de fase II randomizado mostrou superioridade da associação com FOLFOX vs. a quimioterapia com taxas de resposta de 61% vs. 37% ($P=0,011$). De maneira oposta, dois estudos de fase III mostraram equivalência da combinação de cetuximabe + regimes baseados em oxaliplatina e fluoropirimidinas aos respectivos controles (MAUGHAN et al. 2010; TVEIT et al. 2011).

Nos pacientes previamente tratados, o cetuximabe também se mostra benéfico. Em segunda linha (SOBRERO et al. 2008) para pacientes previamente tratados com oxaliplatina e fluoropirimidinas, a associação com irinotecano mostrou-se superior ao CPT-11 isolado. Em terceira linha (CUNNINGHAM et al. 2004), novamente a associação com CPT-11 mostrou sinergismo importante com atividade significativa mesmo nos pacientes já expostos anteriormente a esta droga.

Um outro anticorpo anti-EGFR com uso estabelecido em CCR metastático é o panitumumabe. Trata-se de um anticorpo monoclonal totalmente humanizado contra

o domínio extra-celular do EGFR. Em primeira linha, o estudo de fase III testou a associação com FOLFOX e panitumumabe que se mostrou superior ao FOLFOX em pacientes com *K-RAS* selvagem em SLP (9,6 vs. 8 meses $P=0.02$) com resultado limítrofe para SG (23,9 vs. 19,7 meses $P=0.07$) (DOUILLARD et al. 2010). Já em segunda linha, o anticorpo foi estudado em fase III associado ao regime FOLFIRI, quando se observou aumento da taxa de resposta (35% vs. 10% $P<0.001$) e da SLP (5,9 vs. 3,9 meses $P=0.004$) sem diferença em SG (PEETERS et al. 2010). Em terceira linha, o panitumumab mostrou atividade mesmo em monoterapia comparado aos melhores cuidados de suporte (VAN CUTSEM et al. 2007), sendo o benefício significativo em SLP (12,3 vs. 7,3 semanas). Em todos os casos, o efeito positivo do anticorpo é exclusivo para pacientes com oncogene *K-RAS* na forma selvagem (AMADO et al. 2008).

1.2 TOXICIDADE DAS FLUOROPYRIMIDINAS E DO CPT-11

Os benefícios da incorporação do irinotecano ao tratamento sistêmico dos pacientes com CCR metastático foram recebidos com entusiasmo pelos oncologistas na década de 90. O estudo de SALTZ et al. (2000) mostrou taxas de resposta e sobrevida inéditas até então, para estes doentes. No entanto, no mesmo estudo, a mortalidade associada ao regime com fluorouracil em *bolus*, exigia cautela e motivou a investigação por um comitê independente para identificar os motivos que teriam causado este problema. A investigação se debruçou sobre os resultados dos estudos de SALTZ et al. (2000) e de GOLDBERG et al. (2004) e suas conclusões foram publicadas em outro artigo (ROTHENBERG et al. 2001). Estas conclusões

apontaram para a alta frequência de uma síndrome de toxicidade gastrointestinal, sobretudo com diarreia severa e outra síndrome cardiovascular com fenômenos tromboembólicos recorrentes. As duas síndromes foram responsabilizadas pela elevada mortalidade encontrada e foi recomendado um maior nível de vigilância para os pacientes dos dois estudos com ênfase na monitorização da toxicidade gastrointestinal e nas modificações de doses apropriadas.

A incorporação do regime IFL como padrão de primeira linha em CCR metastático, motivou a publicação de novas diretrizes de intervenção e combate a diarreia causada pela quimioterapia (BENSON et al. 2004).

1.2.1 Toxicidade às fluoropirimidinas

As fluoropirimidinas são agentes anti-metabólitos que inibem a enzima timidilato-sintase. A enzima tem a função de converter o uracil-fosfato em timidina, nucleotídeo essencial para a síntese de ácido desoxiribonucleico (DNA). A incorporação da falsa uracila ao Ácido ribonucleico (RNA) seria um outro mecanismo de ação das fluoropirimidinas, de maneira que as células neoplásicas que não estão em divisão também seriam atingidas pela droga (SOBRERO et al. 2000).

Os efeitos adversos mais frequentes associados às fluoropirimidinas são diarreia, mucosite oral, mielossupressão e eritrodisestesia palmo-plantar (síndrome mão-pé). Os efeitos gastro-intestinais podem comprometer a integridade da mucosa desde a boca até o ânus, aumentando o risco de infecções e trazendo manifestações clínicas como náuseas, dor abdominal e diarreia que podem causar grande desconforto aos pacientes. A mielossupressão se traduz mais frequentemente em neutropenia prolongada que pode comprometer a assiduidade das sessões de

quimioterapia e/ou favorecer infecções de potencial evolução desfavorável, uma vez que estes pacientes se tornem vulneráveis a germes patogênicos.

Todos estes efeitos são mais frequentes com os regimes de infusão rápida (bolus) do fluorouracil, a única exceção é a eritrodisestesia palmo-plantar. De etiologia ainda pouco esclarecida, a síndrome mão-pé produz descamação eritematosa dolorosa, por vezes com formação de úlceras, nas palmas e plantas dos pacientes acometidos. As características inflamatórias das lesões tem sido estudadas (ROCHA-FILHO 2010) e trazem alguma luz para os avanços no conhecimento sobre esta manifestação. Mais comum com regimes de fluoropirimidinas orais ou em infusão contínua, a síndrome mão-pé obriga muitos pacientes a reduzir a dose ou até a suspender o tratamento instituído.

Mutações e polimorfismos da enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD), responsável pelo metabolismo de desativação do fluorouracil tem sido associadas à maior toxicidade das fluoropirimidinas (JOHNSON e DIASIO 2001). Casos de eventos adversos letais têm sido descritos em pacientes portadores de deficiência da enzima, o que reforça a necessidade de testes mais precisos para a identificação rotineira desta condição.

1.2.2 Toxicidade ao irinotecano

O irinotecano age através da inibição da enzima Topoisomerase I, estabilizando as quebras transitórias promovidas pela enzima que normalmente aliviam as tensões torsionais na replicação do DNA (IYER e RATAIN 1998). Trata-se de uma prodroga que é convertida pelas carboxilesterases hepática e plasmática a seu metabólito ativo: 7-etil-10-hidroxicamptotecina (SN38) (KAWATO et al. 1991)

que sofre posterior glucoronização pela enzima uridina difosfato glucoronil-transferase – 1A1 (UDP-GT 1A1) ao SN38 glucoronídeo (SN38G). O SN38 e o SN38G são excretados por via biliar respondendo por 63,7% da eliminação da droga (SLATTER et al. 2000). A expressão da enzima UDP-GT1A1 parece estar inversamente relacionada à prevalência dos efeitos tóxicos (CÔTÉ et al. 2007; SCHULZ et al. 2009; FERRALDESCHI et al. 2009; SHULMAN et al. 2011).

Os efeitos colaterais do irinotecano incluem diarreia, mielossupressão, náuseas, vômitos e alopecia. Entretanto, na prática clínica, diarreia e mielossupressão são consideradas toxicidades limitantes mais frequentes. Nos regimes que combinam 5-fluoruracil ao CPT-11, a diarreia é relatada entre 50-80 % dos pacientes, sendo >20% a incidência de graus 3 e 4. (ENGELKING et al. 1998; RICHARDSON e ROBISH 2007) Estes efeitos colaterais levam à redução de doses e impossibilita o tratamento de muitos pacientes (SARGENT et al. 2001).

A diarreia induzida pelo CPT-11 é produzida através de dois mecanismos diferentes. A diarreia precoce (até 12 horas da aplicação da droga) tem fisiopatologia colinérgica (KAWATO et al. 1993), sendo controlada de forma eficiente pela pré-medicação de rotina com atropina (0,25- 0,5mg). A diarreia tardia é produzida por efeito do SN38 luminal, uma vez que este é eliminado por via biliar e sua forma inativa (SN38G) sofre desconjugação pela β -glucoronidase da flora intestinal à sua forma ativa. O SN38 induz lesão direta da mucosa com perda da absorção de água e eletrólitos e hipersecreção de muco (SALIBA et al. 1998; IKUNO et al. 1995; TAKASUNA et al. 1996).

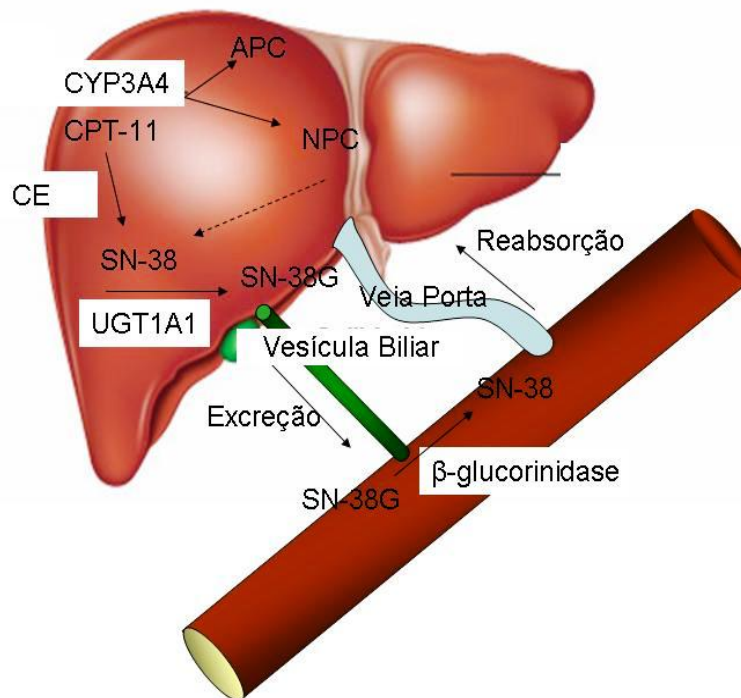


Figura 6 – Metabolismo do CPT-11. A enzima CYP3A4 atua sobre o CPT-11 gerando dois compostos ativos, APC (7-etil-10-[4-N-(5-ácido aminopentanóico)-1 piperidíneo]-carboniloxicamptotecina) e NPC (7-etil-10-[4-amino-1-piperidino]-carboniloxicamptotecina). O NPC pode ser metabolizado pela carbonil-esterase (CE) em SN-38. A glicuronização hepática do SN-38 em SN-38G é realizada pela uridina- glucoronil-transferase 1A1 para posterior excreção biliar. No intestino delgado, entretanto, parte do SN-38G é novamente desconjugado à sua forma ativa (SN-38), que uma vez reabsorvida pelo sistema porta pode estender os efeitos colaterais da droga.

1.3 MUCOSITE GASTRINTESTINAL ASSOCIADA À QUIMIOTERAPIA

A toxicidade gastrintestinal é uma das reações adversas mais frequentes associadas à quimioterapia do câncer. A alta prevalência de manifestações clínicas adversas como disfagia, dispepsia, diarreia, náuseas e vômitos, dor abdominal, úlceras orais e anorretais, entre outras, são resultado da pouca seletividade dos agentes antineoplásicos e da alta taxa de proliferação do epitélio do trato digestório. Qualquer região da mucosa digestiva (desde a boca ao ânus) pode ser afetada, e por esta razão, o termo mucosite gastrintestinal, mais abrangente, tem sido considerado o mais adequado para descrever o processo.

No entanto, os complexos processos biológicos que levam a lesão da barreira mucosa estão ainda distantes do entendimento suficiente. A visão de que a lesão celular induzida pela droga citotóxica no epitélio seria exclusivamente responsável pela quebra de barreira e úlceras encontradas deu lugar a um complexo modelo de lesão multi-mediada que envolve a lesão inicial do epitélio com, sua amplificação via mediadores inflamatórios, componentes ativos da microflora intestinal, infecção secundária e elementos tardios de cicatrização e reparo e contempla fatores individuais de suscetibilidade e risco para o desenvolvimento das lesões (SONIS 2010).

Muito do que se conhece hoje sobre a fisiopatologia da mucosite gastrintestinal se deve a estudos de alterações na mucosa oral. Mais acessível para a mensuração e descrição das lesões, assim como para a caracterização histopatológica, a lesão oral é mais bem estudada do que alterações em outros

segmentos do tubo digestivo. Entretanto, não há razões para duvidar de que, de maneira genérica, os processos envolvidos sejam diferentes nos outros segmentos do epitélio intestinal.

Para melhor compreensão, este complexo processo biológico foi dividido em cinco fases por SONIS et al. (2004) de maneira que os padrões de resposta biológica possam ser melhor compreendidos..

1.3.1 Fase I - Iniciação

Os agentes citotóxicos e seus efeitos sobre tecidos com alta taxa de reposição celular seriam os causadores de lesão celular inicial no epitélio. Estudos com amostras de mucosa duodenal obtidas por endoscopia seriada demonstram que figuras de apoptose são visíveis nos vilos intestinais a partir das primeiras 24 horas após a quimioterapia (KEEFE et al. 2000) o que precede o subsequente achatamento dos vilos e diminuição da área absorptiva com diminuição do índice mitótico nas criptas. A ação protetora de drogas depuradoras de radicais livres como a amifostina (MOTA 2004) demonstra como o estresse oxidativo relacionado à geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) pelos agentes anti-neoplásicos levaria ao dano celular e microvascular adjacente. A consequente indução de fatores de transcrição como o Fator Nuclear κB (NF κB), considerado o principal evento da fase de iniciação, levaria à fase seguinte.

Mais recentemente, uma atenção mais detalhada dada à fase de iniciação tem sido objeto de algumas publicações (SONIS 2010). Padrões moleculares associados à lesão induzida por quimioterapia ou radioterapia (CRAMP) seriam liberados pelas células agredidas pela lesão de iniciação do dano à mucosa. Um potencial exemplo

de CRAMP seria a *alarmin high-mobility group box-1* (HMGB-1), molécula presente no interior do núcleo, que liberada para o meio extra-celular em células em necrose/apoptose liga-se a Receptores de Reconhecimento do Radrão (PRRs), Receptores *toll-like* (TLRs) ou Receptores para Produtos Finais de Glicação Avançada (RAGEs), com posterior indução de fatores de transcrição como o NFκB (SRIKRISHNA e FREEZE 2009; SONIS 2010).

1.3.2 Fase II - Hiperexpressão e síntese de sinais moleculares

Nesta fase, diversos caminhos em paralelo culminam com a indução de citocinas pró-inflamatórias como Fator de Necrose Tumoral (TNFα), Interleucina 1 (IL-1) e Interleucina 6 (IL-6). Ao mesmo tempo em que os EROS continuam causando dano oxidativo ao epitélio e às camadas adjacentes (mucosa, submucosa e microvasculatura). O NFκB ligando-se e a regiões promotoras de diversos genes, induziria a transcrição de citocinas e moléculas de sinalização. Vias enzimáticas de lesão celular como a ceramida sintase ou a esfingomielinase têm sido envolvidas nos mecanismos de dano celular associados aos EROS (MADDENS et al. 2002) e implicados na potencialização das citocinas pró-inflamatórias.

1.3.3 Fase III - Sinalização e amplificação

Contrariando a teoria inicial de que o dano celular promovido pelos agentes citotóxicos seria unicamente responsável pela mucosite gastrointestinal. Diversos mediadores pró-inflamatórios foram caracterizados como engrenagens importantes de um complexo processo inflamatório que caracteriza o fenômeno. A transformação do dano epitelial inicial em um fenômeno inflamatório com dimensões maiores e

consequências muito mais danosas aos pacientes é papel das moléculas de sinalização participantes do processo.

MELO et al. (2008) mostraram um aumento nos níveis teciduais de IL-1 β , TNF- α e KC em camundongos pré-tratados com CPT-11, bem como o efeito protetor da pentoxifilina nas alterações histológicas e intensidade da diarreia dos animais expostos à droga. Outro estudo experimental (LOGAN et al. 2008a), caracterizou as alterações morfológicas induzidas pelo CPT-11 em mucosa oral (atrofia epitelial), jejuno (achatamento dos vilos e criptas) e cólon (encurtamento de criptas) de ratos, com expressão imuno-histoquímica aumentada de NF κ B, IL-1 β , TNF- α e IL-6 na mucosa do trato gastrointestinal sobretudo nas horas seguintes à administração do irinotecano. Em modelo experimental de mucosite induzida por fluorouracil, o uso do antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra) foi capaz de diminuir a apoptose nas criptas jejunais, atenuou as alterações histopatológicas e diminuiu o escore de diarreia em camundongos (WU et al. 2011).

Outras citocinas da família da IL-1 parecem estar relacionadas à mediação da mucosite intestinal. A participação da Caspase-1, enzima que converte a pró-IL-1 em sua forma ativa, assim como faz para interleucina 18 (IL-18) e Interleucina 33 (IL-33), foi demonstrada em camundongos, com redução da intensidade do fenômeno em animais Caspase-1^{-/-} (LIMA-JUNIOR 2008). A IL-18 parece estar especificamente envolvida. Estudos em camundongos mostram a sua importância na mediação da migração de neutrófilos, na produção de alterações morfológicas e funcionais (motilidade) em camundongos tratados com CPT-11 (FREITAS 2007; LIMA-JUNIOR 2008). A IL-33, recentemente descrita como membro da família de IL-1 (SCHMITZ et al. 2005), parece estar relacionada com o desenvolvimento de uma

resposta biológica moduladora com padrão de linfócito *T-helper* 2 (LTH-2) via sinalização do receptor ST2 e sua participação como mediador na mucosite intestinal ainda não está estabelecida.

Outras enzimas, induzidas pelas citocinas pró-inflamatórias, participam ativamente da cascata inflamatória na mucosite gastrointestinal. A ciclo-oxigenase induzida ou ciclo-oxigenase 2 (COX-2) está diretamente implicada na lesão gastrointestinal induzida por quimio e radioterapia (YEOH et al. 2007; LOPES et al. 2009; LALLA et al. 2010), o que implica na síntese aumentada de prostaglandinas e a consequente amplificação dos fenômenos inflamatórios. LEITÃO et al. (2011) demonstraram que camundongos nocaute (KO) para o gene da Oxído Nítrico sintase induzida (iNOS) não desenvolvem o modelo de mucosite intestinal induzido pelo metotrexate (MTX). Os inibidores da NOS N^o-Nitro-L-Arginina- metil éster (L-NAME) e Aminoguanidina atenuaram a intensidade da mucosite em ratos pre-tratados com MTX. De maneira análoga, LIMA-JUNIOR et al. (2012) demonstraram o papel central do óxido nítrico na lesão inflamatória induzida por CPT-11 em camundongos. De maneira análoga, o Fator ativador de plaquetas (PAF) foi implicado na patogênese da mucosite induzida por fluorouracil (SOARES et al. 2011).

1.3.4 Fase IV - Ulcerativa

Na fase ulcerativa, os achados mais marcantes incluem a ruptura da integridade anatômica do epitélio mucoso, o marcante infiltrado inflamatório constituído de polimorfonucleares e mononucleares e colonização por bactérias GRAM positivas, GRAM negativas e anaeróbias com potencial para translocação e

infecção sistêmica. Nesta fase, a interação da microflora intestinal, com aumento da proporção de bactérias que sintetizam a β - glucoronidase capaz de reativar o SN-38 conjugado eliminado pela excreção biliar é documentada em camundongos com mucosite induzida pelo CPT-11 (STRINGER et al. 2007). No mesmo estudo, a hipersecreção intestinal com aumento da eliminação de mucina (MUC-4) foi documentada. Corroborando o papel das bactérias intestinais, estudos com os antibióticos Neomicina e Bacitracina têm demonstrado potencial efeito protetor na mucosite induzida por CPT-11 (SCHMITTEL et al. 2004) e fluorouracil + CPT11 (ALIMONTI et al. 2003).

A ruptura da integridade da lamina basal com quebra de fibronectina bem como outros componentes da matriz extracelular (ECM) e a exposição a elementos da parede celular de bactérias da flora intestinal são outros fenômenos importantes para a amplificação da inflamação (SONIS et al. 2004; AL-DASOOQI et al. 2011). Em modelo de curva temporal em ratos pré-tratados com CPT-11, a expressão diferenciada de metaloproteinases da matriz (MMP) também foi demonstrada (AL-DASOOQI et al. 2010). O estudo demonstrou um aumento na expressão de MMP-1,-2, -3, -9 e -12 assim como dos Inibidores Teciduais das metaloproteinases (TIMP) -1 e -2. Da mesma forma, ativadores das MMP's como Ativador do plasminogênio urokinase-tipo (uPA) e Ativador de Plasminogênio tecido-tipo (tPA) estavam aumentados após o uso do CPT-11.

1.3.5 Fase V - Cicatrização e reparo

Após cessados os estímulos capazes de perpetuar os danos à mucosa gastrointestinal, a cicatrização das lesões é a etapa seguinte, sendo comum aos

processos inflamatórios em geral. A análise temporal feita pelos experimentos do grupo australiano comandado por Dorothy Keefe (2010), também mostrou alterações tardias de perda de fibras de colágeno tipo IV em mucosa jejunal e colônica nas fases tardias (96h e 144h) do tratamento com CPT-11. Não há até este momento, certeza se as alterações da função intestinal são plenamente recuperadas ou se há alterações de longo prazo.

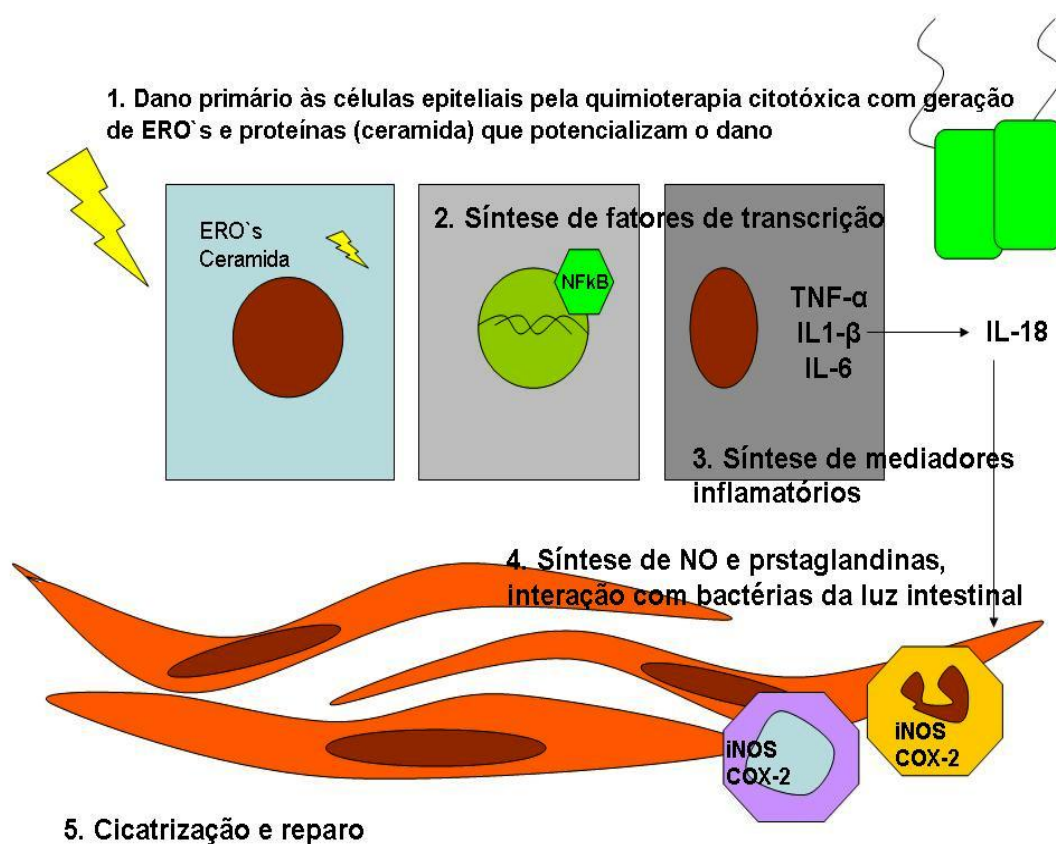


Figura 7 – Resumo esquematizado da fisiopatologia da mucosite gastrointestinal. As etapas são caracterizadas em sua ordem de 1 a 5. As diversas camadas anatômicas da parede intestinal interagem após a iniciação do processo no epitélio. A posterior infiltração por macrófagos e polimorfonucleares é dominante na fase ulcerativa, quando a interação com as bactérias da luz intestinal e a alteração dos componentes da matriz extra-celular compõe o cenário.

1.4 FERRAMENTAS DE MENSURAÇÃO DA MUCOSITE

Não se pode estudar detalhadamente o processo de mucosite gastrointestinal, se não houver ferramentas para descrever precisamente, classificar objetivamente e medir de maneira reprodutível a severidade dos danos à mucosa. As alterações da mucosa oral, pela lógica facilidade de observação são classificadas em sua intensidade por critérios consensuais de algumas organizações (Quadro 2). Os critérios comuns do Instituto Nacional do Câncer norte-americano (NCI-CTC) versão 4.0 de maio de 2009, são os mais universalmente adotados em estudos clínicos.

Quadro 2 – Escalas de avaliação de mucosite oral

Escala	Evento Adverso	0	1	2	3	4	5
NCI-CTC 4.0 [±]	Mucosite Oral	-	Sintomas leves. Intervenção desnecessária	Dor moderada, interferindo, modificações da dieta necessárias	Dor severa, interferindo com a ingestão oral	Ameaça a vida do doente. Intervenção urgente	Morte
OMS [∞]	Mucosite (estomatite) oral	-	Dor e eritema	Úlceras, eritema, dieta sólida aceita	Úlceras orais. Apenas dieta líquida	Dietal oral impossível	Morte
RTOG *	Lesão mucosa oral causada pela radiação	-	Edema, dor leve não requerendo analgesia	Placas com possível secreção serosa e sanguinolenta. Analgesia necessária	Fibrinose confluenta necessária analgesia com opióides	Ulceração, hemorragia ou necrose.	-

Fonte: WHO 1979, [±]NCI (2011), *RTOG (2011)

Ao contrário do que acontece com a mucosite oral, para a mucosite intestinal não existem escalas reprodutíveis e universalmente aceitas. A intensidade da diarreia tem sido a maneira mais utilizada para se medir a sua magnitude. A escala do NCI-CTC versão 4.0 é a mais utilizada nos estudos clínicos, mas as alterações inflamatórias e absortivas do epitélio não são objetivamente quantificadas com esta metodologia de base exclusiva na anamnese, assim como as escalas de náuseas e vômitos e dor abdominal também pouco retratam o que acontece no intestino do ponto de vista funcional.

O teste de permeabilidade intestinal com açúcares inertes surge como ferramenta experimental de grande relevância para quantificar alterações de permeabilidade em processos patológicos intestinais. A medição por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) da excreção urinária de monossacarídeos como a D-xilose ou o Manitol e de dissacarídeos como a celobiose ou a lactulose tem sido amplamente utilizada em estudos clínicos com crianças portadores de síndromes diarreicas (LIMA et al. 2000; ZHANG et al. 2000), e pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida por vírus da imunodeficiência humana (HIV-SIDA) (TEPPER et al. 1994; LIMA et al. 1997), doença celíaca (VOGELSANG et al. 1998) e alergia à proteína do leite materno (DE BOISSIEU et al. 1994).

A lactulose e o manitol se firmaram como sondas ideais para execução do teste. Inertes, os dois açúcares são absorvidos pelo intestino e eliminados pelos rins sem sofrer qualquer metabolização. Em sua estrutura morfológica, o epitélio intestinal apresenta diferentes propriedades para absorver estas moléculas. A medida que as células se reproduzem nas criptas intestinais e vão amadurecendo em seu

percurso rumo ao ápice dos vilos, as junções intercelulares vão se tornando menos permeáveis e a dimensão dos poros protéicos celulares diminui. Enquanto o manitol (monossacarídeo de pequenas dimensões) é absorvido passivamente por via paracelular e por poros de pequenas dimensões (6 Å) presentes no ápice dos vilos, a lactulose (dissacarídeo de maiores dimensões) exige a presença de grandes poros (50-60 Å), presentes apenas nas criptas (MELICHAR e ZEZULOVA 2011).

No intestino maduro normal, os açúcares simples são absorvidos nos vilos em resposta a hiperosmolaridade dos fluidos intracorporais. Osmoticamente, o fluido intra-luminal é absorvido e os açúcares simples são passivamente transportados por este mecanismo. Se há integridade dos vilos, este fluido tem muito pouco contato com as criptas intestinais e a absorção de dissacarídeos acontece em proporção bem menos relevante. Em processos patológicoicos, com a atrofia dos vilos e maior exposição das criptas, há diminuição da absorção do manitol e aumento da proporção da lactulose absorvida (BIJLSMA et al. 1995). Este fenômeno é documentado e quantificado após a dosagem da recuperação urinária dos dois açúcares, sendo a relação lactulose/ manitol ainda mais sensível em detectar a disfunção absorptiva intestinal. Desta forma, as alterações de permeabilidade intestinal podem ser quantificadas de maneira simples e não invasiva.

Diversos estudos mostram as alterações de permeabilidade intestinal em modelos experimentais de mucosite e também em seres humanos (DANIELE et al. 2001a; CARNEIRO-FILHO et al. 2004). Muitos estudos avaliaram a permeabilidade intestinal prospectivamente em pacientes com doenças diferentes e fazendo uso de diferentes regimes de quimioterapia citotóxica (Quadro 3). O achado comum entre os estudos é um aumento na relação dissacarídeo/ monossacarídeo (lactulose / manitol),

embora o período para a caracterização da alteração seja variável entre os estudos. Pacientes com linfoma em tratamento com regimes de combinação de drogas apresentam alterações precoces no D2 ou D3 do tratamento (PARRILLI et al. 1982), enquanto indivíduos com CCR tratados com 5-fluorouracil em bolus demonstram alterações de permeabilidade mais tardias, após o D12 ou D13 do ciclo (DANIELE et al. 2001a). Pacientes em regime de infusão prolongada de fluorouracil têm apresentação ainda mais tardia das alterações de permeabilidade sendo constatadas após o primeiro mês de tratamento. (DVORÁK et al. 2010), enquanto pacientes com sarcoma de partes moles tratados com combinação de antraciclina, ifosfamida e dacarbazina apresentam alterações na relação lactulose/ manitol no dia 3 do tratamento (FAZENY-DORNER et al. 2002). Estudo em pacientes do Hospital Haroldo Juaçaba (GIFONI 2003) mostrou alterações em pacientes tratados com regimes diferentes sendo marcante a alteração para tratamentos baseados em cisplatina.

Um número limitado de estudos, entretanto, correlacionou os dados de permeabilidade intestinal com efeitos adversos clínicos nestes pacientes. Em estudo com pacientes de CCR, indivíduos com diarreia apresentaram maior relação celobiose/ manitol com incremento ainda mais evidente com a piora da severidade da diarreia (DANIELE et al. 2001a). Em pacientes submetidos ao tóxico regime de indução para leucemias agudas, a alteração de absorção de xilose se correlacionou com o risco para colite neutropênica ou infecção sistêmica (BOW e MEDDINGS 2006). A elevada relação lactulose/ manitol foi também capaz de prever a toxicidade a regimes de quimioterapia em pacientes portadores de câncer de ovário e de mama (MELICHAR et al. 2007; MELICHAR et al. 2008).

Quadro 3 - Estudos clínicos sobre alterações de permeabilidade intestinal em pacientes que receberam quimioterapia

Referência	Tipo de Tumor	Regime terapêutico	Teste	N	Resultados
KOHOUT et al. 1999	TGI	5-FU+LV, Mitomicina, Epir.	Lactulose/Manitol; Xilose	16	↑ Lactulose/Manitol
DANIELE et al. 2001b	TGI	5-FU+LV	Celobiose/Manitol; Xilose	41	↑ Celobiose/Manitol ; ↓Xilose
SIBER et al. 1980	CCR	5-FU	Polivinilpirrolidona, tobramicina	10	↑ Excreção urinária de ambos
KEEFE et al. 1997	Múltiplos	Altas Doses	Lactulose/ ramnose	35	↑ Lactulose /ramnose
SUNDSTROM et al. 1998	LMA	Baseados em Citarabina	Lactulose/Manitol	18	↑ Lactulose/Manitol em relação aos controles,
PARRILLI et al. 1982	Linfoma	MOPP, CVP	Lactulose; Xilose	9	↑ Lactulose
PARRILLI et al. 1989	Mama	Baseados em Doxorrubicina	Lactulose/ ramnose; Xilose	10	↑ Lactulose/Manitol
SELBY et al. 1987	Múltiplos	Melfalan, ciclofosfamida	⁵¹ Cr EDTA	19	↑Recuperação urinária ⁵¹ Cr EDTA
BOW et al. 1997	LMA	Múltiplos	Xilose	110	↓Xilose sérica
DAENEN et al. 1991	LLA, LMA	Múltiplos	Lactulose/Manitol; clearance α1AT;	37	↑ Lactulose/Manitol ↑ clearance α1AT
MELICHAR et al. 2003	CCR	CPT-11 ou raltitrexate	Lactulose/Manitol; Xilose	18	↓Xilose
FAZENY-DORNER et al. 2002	Sarcoma	IFADIC	Sucrose/ Lactulose/Manitol	7	↑ Lactulose/Manitol

Continuação/ Quadro 3

Referência	Tipo de Tumor	Regime terapêutico	Teste	N	Resultados
INUTSUKA et al. 2003	Mama / GI	Múltiplos	Lactulose/Manitol	43	↑ Lactulose/Manitol em pacientes c/ Tum. GI
PLEDGER et al. 1988	Pediátricos	Múltiplos	Lactulose/Manitol	29	↑ Lactulose/Manitol
PEARSON et al. 1984	LLA	Múltiplos	Lactulose/Manitol; Xilose	26	↑ Lactulose/Manitol ↓Xilose
MELICHAR et al. 2008	Ovário	Múltiplos	Sucrose/ Lactulose/Manitol; Xilose	8	↑ Lactulose/Manitol
MELICHAR et al. 2007	Mama/ Ovário	Paclitaxel/ platina	Sucrose/ Lactulose/Manitol; Xilose	36	↑ Lactulose/Manitol, ↑Sucrose/manitol ↓Xilose
VAN VLIET et al. 2009	LMA	Combinação	Lactulose/ramnose, OMG;Xylose	9	↑ Lactulose/ ramnose
TOOLEY et al. 2009	Pediátricos	Múltiplos	Lactulose/ramnose	42	Sem alterações
BLIJLEVEN S et al. 2005	Múltiplos	Altas Doses	Lactulose/ramnose, OMG;Xylose	83	↑ Lactulose/ ramnose , ↓ramnose/OMG
DVORÁK et al. 2010	Reto	5-FU + Radioterapia	Lactulose/Manitol; Xilose	17	↑ Lactulose/Manitol, ↑ Lactulose/xilose
MELICHAR et al. 2010	CPNPC/ C&P	Gefitinibe	Lactulose/Manitol; Xilose	21	↑ Lactulose/Manitol, ↓Xilose
GIFONI 2003	Múltiplos	Múltiplos	Lactulose/ Manitol	48	↑ Lactulose/Manitol, ↑Lactulose

Outra utilidade do teste de permeabilidade é como ferramenta de avaliação para estratégias de proteção e intervenções terapêuticas contra a mucosite. Neste caso, a melhora do padrão de alteração da absorção dos açúcares se torna o desfecho substituto para um estudo clínico. Desta forma, a glutamina oral mostrou benefício em pacientes tratados com 5-FU em estudo randomizado (DANIELE et al. 2001a) com redução da relação celobiose/ manitol e melhora da diarreia e consumo de loperamida. Em pacientes portadores de neoplasias hematológicas, a Interleucina-11 diminuiu as taxas de bacteremia e a relação lactulose/ manitol acompanhou esta redução (ELLIS et al. 2003). No instituto do Câncer do Ceará, estudo clínico com a amifostina mostrou o efeito protetor do agente citoprotetor sobre as alterações de permeabilidade de 30 pacientes que recebiam quimioterapia (MOTA 2004) em comparação com 20 voluntários sadios.

1.5 JUSTIFICATIVA

Diante da multiplicidade de opções de tratamento, a preocupação com os efeitos adversos se torna necessária. A sobrevida mediana dos pacientes portadores de CCR metastático saltou de 12 meses, em meados da década de 90, para os atuais 24 meses. É cada vez maior o número de pessoas que convivem com a doença metastática e com quimioterápicos e anti-corpos monoclonais. Nesse sentido, um objetivo importante é minimizar os efeitos adversos do tratamento e oferecer maior qualidade de vida aos pacientes.

Nesse contexto, a mucosite gastrointestinal é um efeito adverso comum a praticamente todos os agentes quimioterápicos. No caso específico do CCR

metastático o uso de irinotecano e fluoropirimidinas potencializa o risco de eventos adversos de grande repercussão clínica, o que foi observado nos estudos iniciais da combinação (SALTZ et al. 2000; ROTHENBERG et al. 2001). O que torna o conhecimento sobre os mecanismos envolvidos no dano a mucosa intestinal ainda mais relevante para estes pacientes.

No contexto experimental, a participação da resposta inflamatória mediada por $\text{TNF}\alpha$, IL-1, IL-18, PAF, IL-6, iNOS e COX-2 (MELO et al. 2008; LOPES et al. 2009; LIMA-JUNIOR et al. 2012) está bem caracterizada para modelos de mucosite induzida por CPT-11 e 5-FU. Entretanto, os dados confirmatórios da importância destes mediadores em seres humanos continuam escassos uma vez que a própria caracterização funcional e quantificação do dano a mucosa intestinal ainda é pouco explorado e documentado nos estudos clínicos, cuja prioridade continua sendo a quantificação do dano gastrointestinal por escalas de sintomas como náuseas e vômitos, dor abdominal e diarreia.

Por esta razão, o tratamento da mucosite gastrointestinal continua apenas sintomático e paliativo. As diretrizes de tratamento da mucosite gastrointestinal (KEEFE et al. 2007; PETERSON et al. 2008) consolidam apenas o uso do fator estimulante de queratinócitos (palifermina) para pacientes submetidos a protocolos de quimioterapia em altas doses para resgate com transplante de células tronco ou para prevenção de mucosite oral (ROSEN et al. 2006) com recomendação contrária ao uso de glutamina ou de amifostina em função da pouca clareza dos resultados mostrados até aqui.

Assim, é importante definir se as eventuais alterações de permeabilidade intestinal em pacientes tratados com irinotecano e fluorouracil guardam correlação

com os escores clínicos de sintomas destes indivíduos. Da mesma forma, contribuir para a elucidação fisiopatológica da mucosite gastrointestinal em seres humanos é indispensável para que se possa evoluir nas estratégias corretas de prevenção e tratamento de um evento adverso tão prevalente e cujo impacto aos pacientes que recebem quimioterapia não pode ser subestimado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar se o tratamento de pacientes portadores de CCR metastático baseado em fluorouracil, ácido folínico e irinotecano promove alterações de permeabilidade intestinal detectáveis pelo teste de permeabilidade com lactulose/manitol.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Examinar se existe correlação entre as eventuais alterações de permeabilidade intestinal e escores clínicos de diarreia, dor abdominal, náuseas e vômitos. Assim como se há associação entre a lesão intestinal observada e a toxicidade hematológica (anemia, neutropenia) causada pela quimioterapia.
- Verificar se existe associação entre as dosagens séricas de citocinas envolvidas na mediação da resposta inflamatória de pacientes tratados com fluorouracil, ácido folínico e irinotecano com alterações de permeabilidade intestinal e escores clínicos de eventos adversos.

3 METODOLOGIA

Foi desenhado um ensaio clínico prospectivo de caso-controle com amostra não probabilística acidental a ser realizado com pacientes do ambulatório de oncologia clínica do Hospital Haroldo Juaçaba em Fortaleza, a partir de março de 2010.

3.1 ELIGIBILIDADE

3.1.1 Critérios de Inclusão

- Pacientes com diagnóstico citológico ou histopatológico de Câncer Colorretal Metastático ou localmente avançado candidatos à quimioterapia baseada em irinotecan e 5-fluoruracil em 1ª linha
- Performance Status : ECOG entre 0 e 2
- Expectativa de vida superior a 12 semanas no julgamento do investigador
- Interesse voluntário em participar confirmado pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1)
- Idade inferior a 80 anos

3.1.2 Critérios de Exclusão

- Diagnóstico de outra Neoplasia em atividade (exceto Carcinoma Basocelular ou Espinocelular de pele)
- Doença sistêmica grave que na opinião do investigador possa interferir no andamento do tratamento e dos seus efeitos colaterais

- Pacientes com afecções que sabidamente interferem na absorção intestinal como: Doença Celíaca, Fibrose Cística, Enteropatia Perdedora de Proteínas, Síndrome do Intestino Curto, Doença de Crohn, Retocolite Ulcerativa e outras;
- Incapacidade de receber alimentos e/ou medicamentos por via oral.
- Diagnóstico de metástases cerebrais
- Insuficiência Renal (Creatinina sérica $> 1,3$ mg/dl ou Clearance de Cr < 50 ml/min).
- Hipersensibilidade aos componentes do tratamento
- Previsão de tratamento com irradiação durante a quimioterapia

3.2 AVALIAÇÃO PRÉ-TRATAMENTO

Os pacientes, após assinado o TCLE devidamente aprovado pelo CEP da instituição, passaram pelos procedimentos de recrutamento e elegibilidade. Até duas semanas antes de se iniciar o tratamento, o paciente teve a anamnese e o exame físico realizados. Foi dada ênfase na história patológica pregressa, ritmo intestinal habitual do paciente e histórico da doença atual (presença de estoma, cirurgia prévia, sítios de metástases, etc.). Foram colhidos também nas duas semanas que antecederiam o início do tratamento, os seguintes exames:

- Hemograma Completo
- Uréia
- Creatinina
- Sódio

- Potássio
- Cálcio Iônico
- Antígeno carcinoembrionário (CEA)
- Transaminase glutâmico-oxaloacética (TGO)
- Transaminase glutâmico-pirúvica (TGP)
- Albumina
- Tempo de atividade de Protrombina (TAP)
- Bilirrubinas

3.3 PLANO DE TRATAMENTO

Todos os pacientes do estudo foram tratados com o regime IFL (irinotecano, fluorouracil e ácido folínico) conforme preconizado por SALTZ et al. (2000) (57).

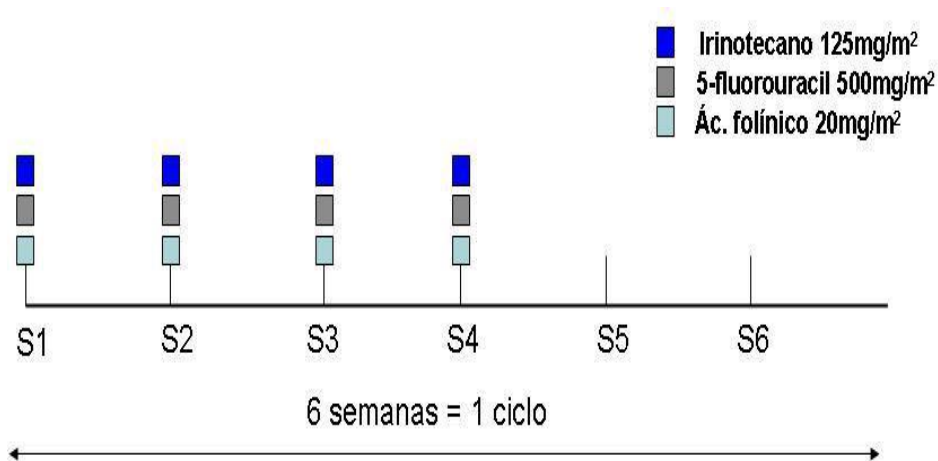


Figura 8 – Regime IFL de tratamento: ciclo de 6 semanas

Os fármacos anti-neoplásicos utilizados foram os seguintes:

Irinotecano	Evoterin [®]	Evolabis
Ácido folínico	genérico	Eurofarma
Fluorouracil	Faudilfluor	Libbs

O tratamento de suporte planejado incluiu a medicação preventiva de náuseas e vômitos e o tratamento da diarreia conformes diretrizes da Sociedade Americana de Oncologia Clínica para náuseas e vômitos induzidos pela quimioterapia (BASCH et al. 2011) e para tratamento da diarreia induzida pela quimioterapia (BENSON et al. 2004):

Ondasetrona 8 mg	EV pré-quimioterapia (Nauseadron [®] - Cristália)
Dexametasona 8 mg	EV pré-quimioterapia (genérico – Farmace)
Atropina 0,5 mg	EV pré –irinotecano (Pasmodex [®] Isofarma)

Ondasetrona 8 mg VO até de 6/6horas se náuseas ou vômitos (Nauseadron[®] - Cristália)

Loperamida 4 mg VO a cada evacuação diarreica (máximo 24 mg/dia) (Diasec[®] Sandoz do Brasil Ltda)

Foram observadas as recomendações do painel de especialistas que analisou os dados de toxicidade e mortalidade dos estudos iniciais do regime IFL (JOHNSON e DIASIO 2001), de maneira que os pacientes foram vistos semanalmente pelo investigador com suspensão e modificação do regime caso houvesse toxicidade não

resolvida ≥ 2 pelo CTC versões 3.0 e 4.0 e /ou contagem de plaquetas inferior a 100.000/ mm³ e/ou contagem de neutrófilos abaixo de 1500/ mm³. Para isso foi montado um ambulatório de mucosite intestinal onde os pacientes da pesquisa eram exclusivamente acompanhados no período em que o estudo estivesse coletando os dados.

Semanalmente, os pacientes fizeram os seguintes exames laboratoriais:

- Hemograma Completo
- Sódio
- Potássio
- Bilirrubinas

3.4 PLANO DE COLETA E ANÁLISE DOS DADOS

3.4.1 Toxicidade Clínica

Os pacientes participantes do estudo receberam semanalmente durante o primeiro ciclo de quimioterapia um diário de sintomas (Apêndice 2). Com a ajuda de familiares, os sujeitos de pesquisa eram estimulados a responder questionamentos diários simples sobre os eventos adversos e o consumo de medicamentos naquele período de 24 horas. O diário serviria de roteiro para a confirmação dos dados de toxicidade na anamnese da visita subsequente ao ambulatório, quando o paciente receberia outro exemplar do questionário com sete novos dias a serem preenchidos. Desta maneira, o estudo objetivou o registro mais minucioso e fiel possível da frequência e da intensidade dos eventos adversos associados ao tratamento. Os dados laboratoriais foram da mesma maneira, prospectivamente coletados.

3.4.2 Teste de permeabilidade intestinal

O uso de sondas de lactulose e manitol para a mensuração da área absorptiva bem como a presença de lesão/ ruptura de barreira na mucosa intestinal foi aplicada aos pacientes. Depois de esvaziarem a bexiga, sob jejum matinal (> 3 horas), os pacientes ingeriram 30 mL de solução contendo lactulose (250mg/mL) e manitol (50 mg/mL). Uma hora após esse procedimento foram liberadas para o desjejum. A urina será coletada nas cinco horas seguintes num recipiente próprio estéril, contendo clorohexidina (40 mg/mL) da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Uma vez estabelecida a diurese final do período, uma alíquota de 5 ml de cada amostra, foi prontamente enviada ao Laboratório da Unidade de Pesquisas Clínicas da Universidade Federal do Ceará, onde será estocada à -20°C até serem processadas as dosagens dos açúcares na urina pelo método de HPLC, sob detecção amperométrica pulsada (PAD). Cada paciente foi submetido a três testes durante o primeiro ciclo de tratamento: Antes do início da quimioterapia, na semana 3 (D15) e na semana 5 (D29).

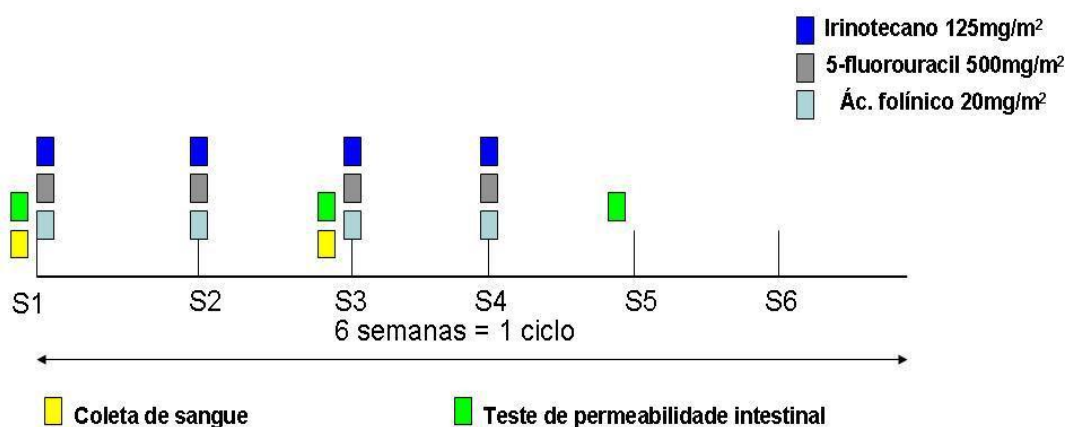


Figura 9 - Plano de coleta de amostras e teste de permeabilidade intestinal

3.4.3 Ensaio de imunoabsorvência ligado a enzima (ELISA) para citocinas

Amostras de sangue dos pacientes foram coletadas antes do início do tratamento e no 15º dia do primeiro ciclo do regime com irinotecano, fluorouracil e ácido folínico. Após centrifugação, amostras do soro foram armazenadas a -80°C para posteriores dosagens de $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , IL-18 , IL-18bp e IL-33 . A metodologia ELISA foi utilizada conforme protocolo dos fabricantes (Duo-Set[®], para $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , IL-18bp e IL-33 , e MBL – Medical & Biological Laboratories – para IL-18). Resumidamente, placas de ELISA com 96 poços foram incubadas por 24 horas a 4°C com anticorpos contra cada uma das citocinas a serem pesquisadas. Após bloqueio das placas e execução das diluições especificadas para curva padrão, as amostras foram adicionadas em duplicata para posterior lavagem (3x) e incubação com anticorpo de detecção (biotinilado) respectivo. Após incubação por 2 horas e nova lavagem foi adicionado o anticorpo de captura específico, cuja incubação de 2 horas foi seguida de nova lavagem e adição de $100\mu\text{L}$ de streptavidina conjugada a peroxidase de raiz-forte. Após novo período de descanso de 20 min e nova lavagem, as placas receberam o corante Diaminobenzidina (DAB) com interrupção da reação após 20 min com solução de ácido sulfúrico 2N. A reação enzimática foi quantificada por absorbância medida a 540nm e o resultado expresso em pg/mL.

3.4.4 Avaliação de resposta ao tratamento

Completo o primeiro ciclo de IFL, os pacientes não tiveram dados subsequentes de toxicidade colhidos. Entretanto, para confirmar a eficácia terapêutica e a atividade dos quimioterápicos utilizados, os dados da primeira avaliação de resposta pelos critérios RECIST (Anexo 2) (Response Evaluation

Criteria in Solid Tumors) (EISENHAUER et al. 2009) dos pacientes recrutados foram anotados para análise.

3.4.5 Correlação entre alterações do teste de permeabilidade e escores clínicos

Após a execução dos testes de permeabilidade, as diferenças de magnitude de excreção percentual de lactulose e manitol foram anotadas para cada paciente no D15 e no D29 em comparação com o teste pré-tratamento. Esta diferença em cada caso individual foi correlacionada ao escore máximo de diarreia e dor abdominal em cada paciente de maneira a estabelecer se há associação entre o escore clínico dos sintomas e a magnitude das alterações detectáveis pelo teste de permeabilidade.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando os software GraphPad Prism versão 5.0 e SPSS versão 13.0. O percentual de excreção de lactulose, manitol e a relação lactulose/manitol sofreram transformação logarítmica antes da análise estatística. Foi utilizado teste pareado de Wilcoxon para avaliar a significância estatística das mudanças ocorridas entre os testes pré e pós-quimioterapia nos dois momentos (D15 e D29). Os dados do teste de permeabilidade foram correlacionados com dados obtidos pelas visitas de acompanhamento referentes à toxicidade clinicamente manifesta e relatada pelo paciente, bem como às alterações laboratoriais observadas através do teste de correlação de Spearman. As dosagens de citocinas foram comparadas de maneira pareada antes e após o tratamento com o teste t pareado, sendo para todos os testes admitido um erro alfa de 5%.

4 RESULTADOS

4.1 PERFIL DOS PACIENTES

Um total de 37 pacientes com diagnóstico de CCR metastático sem tratamento sistêmico prévio foi atendido entre março de 2010 e novembro de 2011 no ambulatório de mucosite e quimioterapia do hospital Haroldo Juaçaba – Instituto do Câncer do Ceará. Destes, 25 pacientes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, concordando em participar dos procedimentos do estudo. Todos os 25 sujeitos de pesquisa incluídos nos procedimentos de elegibilidade foram recrutados, sendo o primeiro teste de permeabilidade intestinal realizado em 10 de março de 2010 e o último em 06 de dezembro de 2011.

Dos 24 pacientes incluídos, 20 (80%) apresentavam doença estágio IV ao diagnóstico, enquanto 5 (20%) apresentavam doença previamente diagnosticada como localizada com progressão metastática à época da inclusão no estudo. A maioria dos pacientes (60%) era do sexo feminino e 6 pacientes (24%) eram portadores de algum tipo de estoma (ileostomia ou colostomia). O sítio de doença metastática mais frequente (sítios não mutuamente exclusivos) foi o fígado com 15 pacientes (60%), seguido do pulmão com 8 pacientes (32%).

Apesar do diagnóstico tardio, 18 pacientes (72%) foram submetidos a procedimentos cirúrgicos de ressecção da lesão primária ou de desvio do trânsito intestinal em função dos sintomas obstrutivos ou sangramento das lesões, alguns pacientes (3) diagnosticaram a doença metastática apenas no campo cirúrgico intra-

operatório (carcinomatose peritoneal). 6 pacientes (24%) haviam recebido quimioterapia no contexto da doença localizada (neoadjuvante ou adjuvante), sendo para todos os casos utilizado o regime com fluorouracil em bolus e o intervalo mínimo de 24 meses entre o final da quimioterapia adjuvante e o diagnóstico da doença metastática.

A Tabela 2 apresenta algumas características dos pacientes ao iniciar o tratamento.

Tabela 2 - Características iniciais dos pacientes.

Variável	Valor
Idade mediana (anos)	55,3 (33- 74)
Gênero	
Masculino	40%
Feminino	60%
Peso mediano (kg)	
IMC mediano (kg/m ²)	23,3 (16,2- 42)
CEA (mg/mL)	23,7 (6,9 – 1833,0)
Performance Status (ECOG)	
0	36%
1	52%
2	12%
Estádio IV ao diagnóstico	
Sim	80%
Não	20%
Sítios de metástases	
Fígado	60%
Pulmão	28%
Carcinomatose peritoneal	20%
Cirurgia para o Tumor primário	
Sim	72%
Não	28%
Presença de estoma	
Sim	24%
Não	76%

IMC: Índice de Massa corpórea, CEA: Antígeno Carcinoembrionico, ECOG: Grupo cooperativo oncológico do leste

4.2 AVALIAÇÃO DE RESPOSTA AO TRATAMENTO

Apenas o paciente 25, por não ter tempo suficiente para completar o segundo ciclo do tratamento não teve o registro da avaliação de resposta. Todos os outros pacientes tiveram o registro da primeira avaliação de resposta pelos critérios RECIST computados (Figura 10).

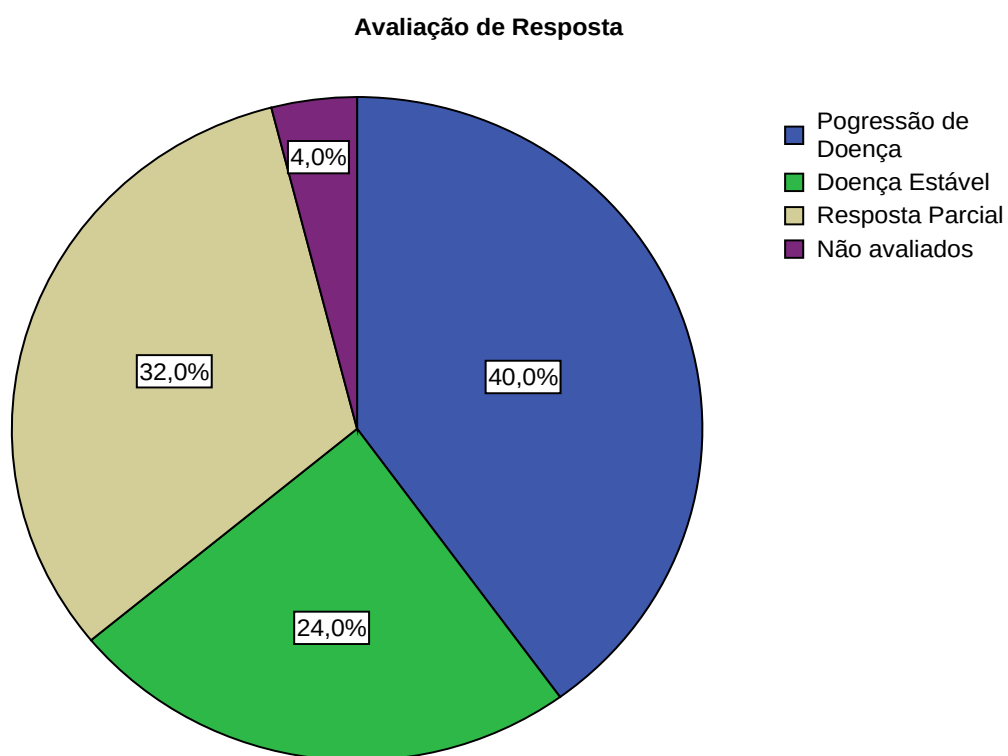


Figura 10 - Avaliação de Resposta ao tratamento com IFL pelos critérios RECIST.

4.3 ANÁLISE DE TOXICIDADE

Grande parte (56%) dos pacientes não completou as 4 doses semanais programadas para o primeiro ciclo em função da toxicidade apresentada. Seja em função da toxicidade hematológica, quando o número de neutrófilos ou de plaquetas estava insuficiente (28%) ou clínica: quando a intensidade dos efeitos adversos não permitia a continuidade com segurança; (12%) ou ambas (16%). O regime IFL original não pôde ser mantido já em seu primeiro ciclo para a maioria dos pacientes.

A análise de toxicidade se dirigiu principalmente a cinco manifestações. Dor abdominal, diarreia, náuseas, vômitos e mucosite oral foram pesquisados e registrados com frequência semanal e o diário dos sintomas do paciente foi utilizado como documento fonte para este registro. A diarreia e a náusea foram os efeitos colaterais mais prevalentes. Atingiram 75 % dos pacientes no primeiro ciclo de IFL, sendo esta frequência atingida mais precocemente para a náusea (semana 2) do que para a diarreia (semana 3) (**Figura 11**). Paralelamente à diarreia, a dor abdominal atingiu sua prevalência máxima (52%) na terceira semana, enquanto os vômitos foram mais frequentes (33%) na primeira semana e a mucosite oral na segunda semana (17%).

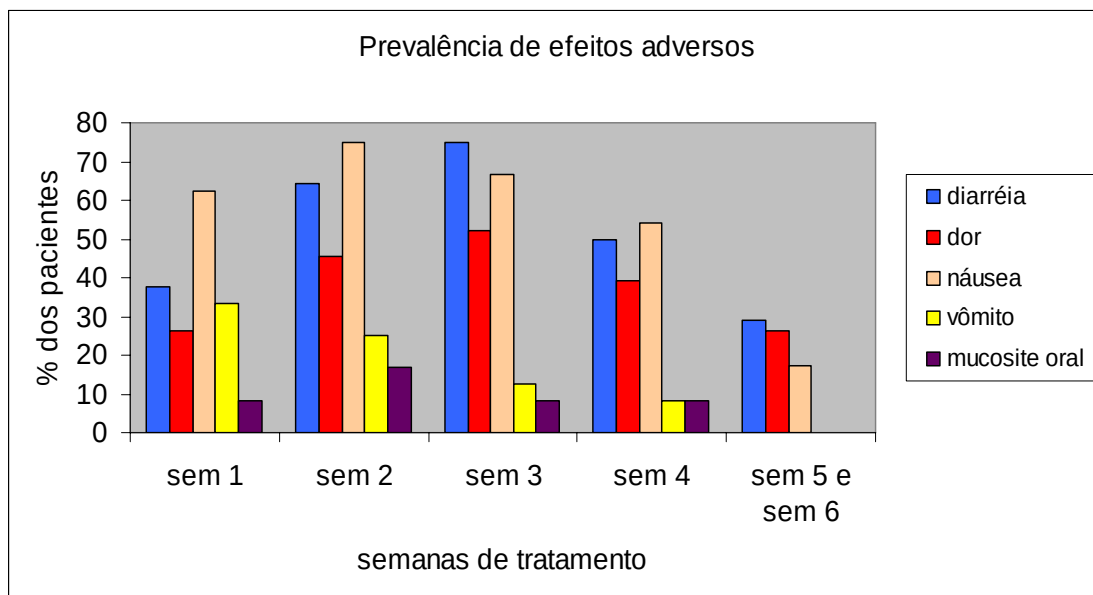


Figura 11 - Incidência de efeitos adversos ao longo do curso do primeiro ciclo de IFL. Qualquer grau de toxicidade reportada foi registrada de maneira que a intensidade do efeito adverso não é considerada para esta análise.

A intensidade dos efeitos adversos variou conforme o tempo no curso do primeiro ciclo de IFL. No que se refere a diarréia, a intensidade aferida pelos critérios comuns de toxicidade (CTC) mostrou o pico de intensidade grau 3 na terceira semana do ciclo (**Figura 12**) com Incidência de 33 % dos pacientes, enquanto na primeira e na segunda semanas a diarréia grau 3 acometeu 0 e 12,5% dos pacientes, respectivamente.

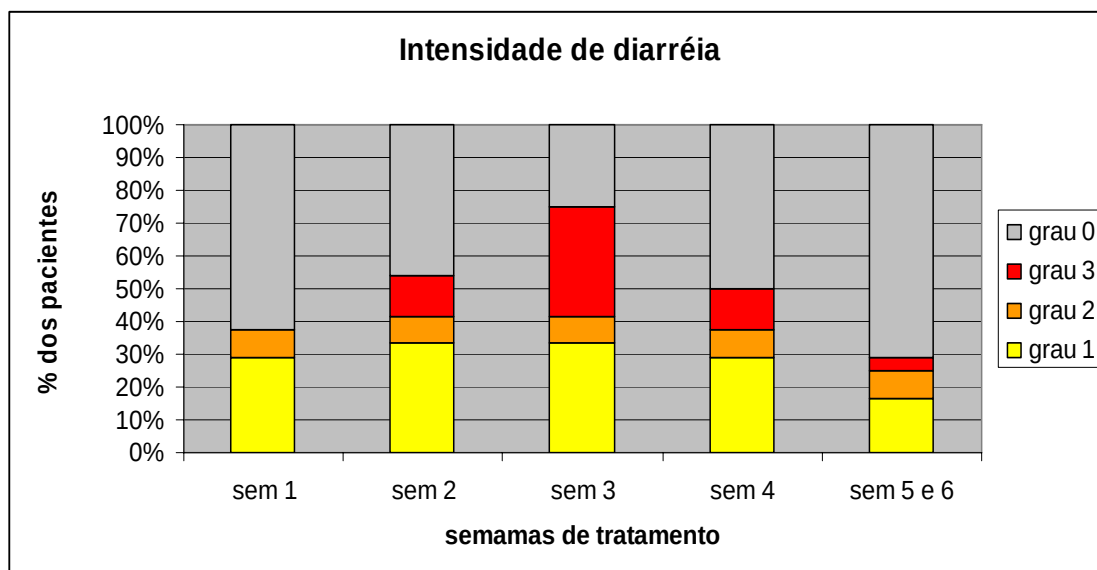


Figura 12 – Incidência e intensidade da diarreia. Observa-se um aumento da intensidade da diarreia até a terceira de tratamento, quando a intensidade do efeito adverso volta a cair para os padrões iniciais nas semanas 5 e 6.

Em relação às náuseas e vômitos, os registros dos pacientes identificaram um pico de intensidade mais precoce. A maior intensidade das náuseas ocorreu na segunda semana, quando 29 % dos pacientes relataram intensidade 2, (**Figura 13**) enquanto para s vômitos a intensidade máxima ocorreu na semana 1 com 21% de vômitos grau 1 e 12,5% de vômitos grau 2 **Figura 14**.

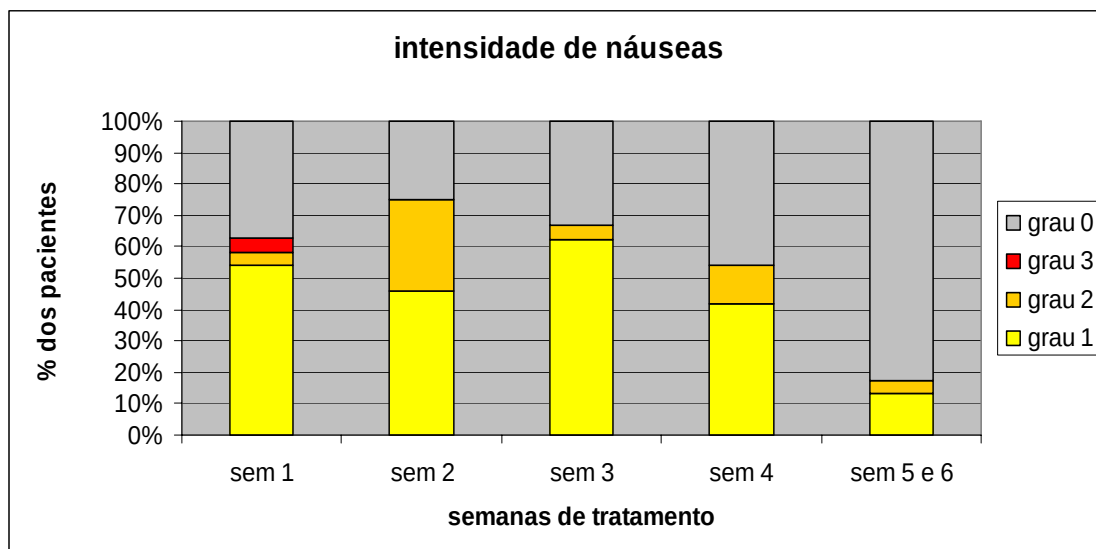


Figura 13 - Incidência e intensidade de náuseas. Observa-se uma alta Incidência de náusea de baixa intensidade (grau 1) em toda a fase de tratamento ativo (primária a quarta semanas) com pico de intensidade na segunda semana do ciclo.

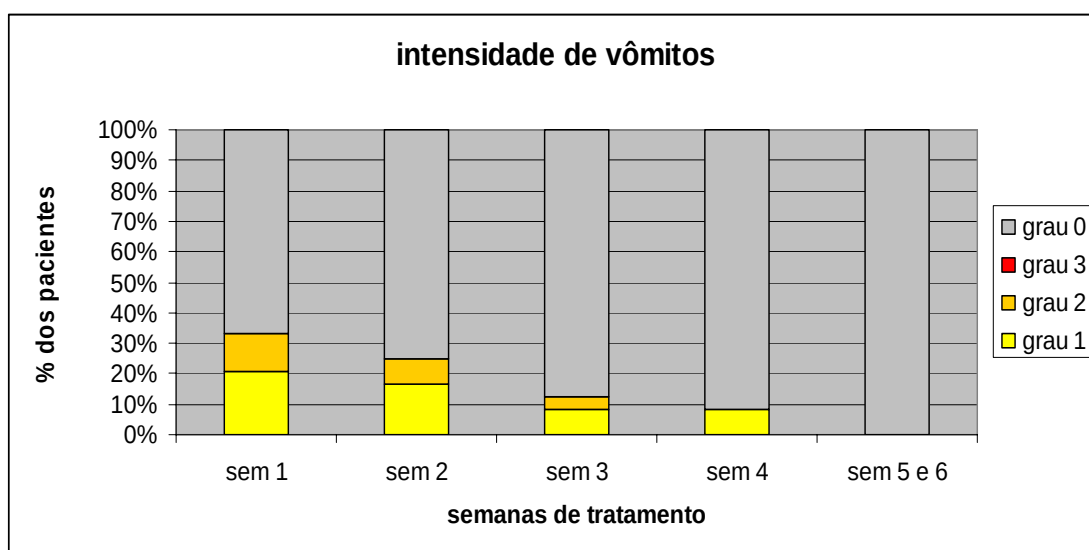


Figura 14 - Incidência e intensidade de vômitos. Os dados obtidos mostram uma incidência maior de vômitos no início do tratamento.

A dor abdominal se manifestou de maneira leve a moderada durante todo o período de observação. A maior Incidência dos sintomas dolorosos se deu na terceira semana (52%), mas a maior intensidade na semana 2 quando 26% dos pacientes apresentaram dor abdominal grau 2 (**Figura 15**).

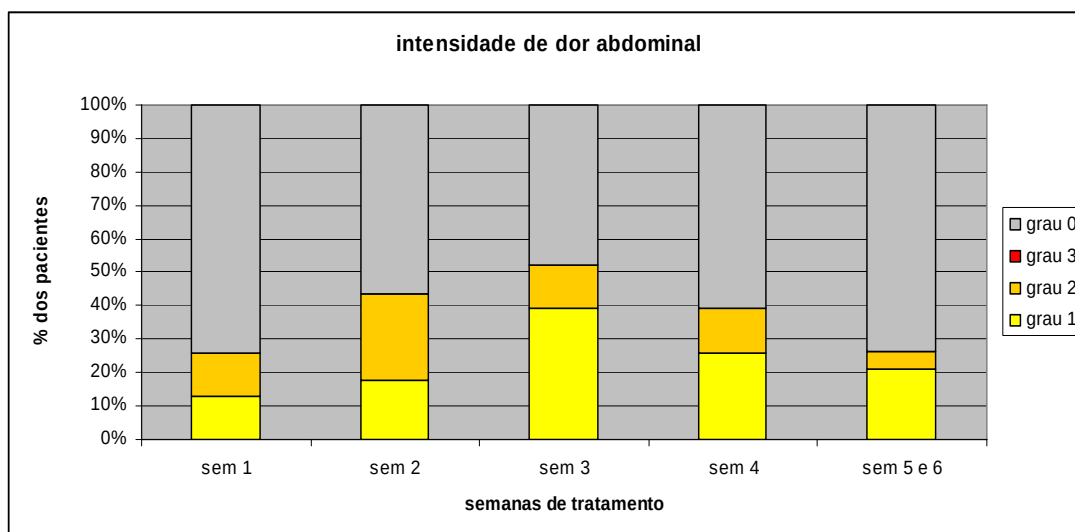


Figura 15 - Incidência e intensidade de dor abdominal. Observou-se uma maior Incidência de dor abdominal na semana 3, entretanto este evento adverso se manifestou de maneira mais intensa na semana 2.

Já a mucosite oral foi pouco observada na população estudada. Nenhum paciente apresentou intensidade maior do que o grau 1. Sendo a Incidência máxima de mucosite registrada na semana 2, quando 16% dos pacientes registraram esta alteração. Outros eventos adversos foram registrados de maneira infrequente. Constipação intestinal, soluços, fadiga, mialgias, artralgias e cefaléia foram exemplos destes eventos adversos pouco reportados (<10% dos pacientes).

Em relação à toxicidade laboratorial, o regime IFL também mostrou grande frequência de eventos adversos. 4 pacientes (16%) receberam transfusão de concentrado de hemácias no primeiro ciclo de IFL em função da anemia observada, embora 16 dos 25 pacientes (64%) tenham apresentado anemia no período do estudo. O pico de incidência da anemia foi na quarta semana de aplicação do tratamento

(D22), quando 12 pacientes (48%) apresentaram pelo menos o grau 1 de anemia do CTC (versão 4.0).

No que se refere à neutropenia, o padrão temporal foi semelhante ao da anemia. Na quarta semana de tratamento (D22) foi observada a maior incidência do efeito adverso, com 15 dos pacientes (60%) apresentando algum grau de redução da contagem periférica dos neutrófilos, sendo em 4 casos (16%) eventos de graus 3 ou 4, considerados graves (**Figura 17**).

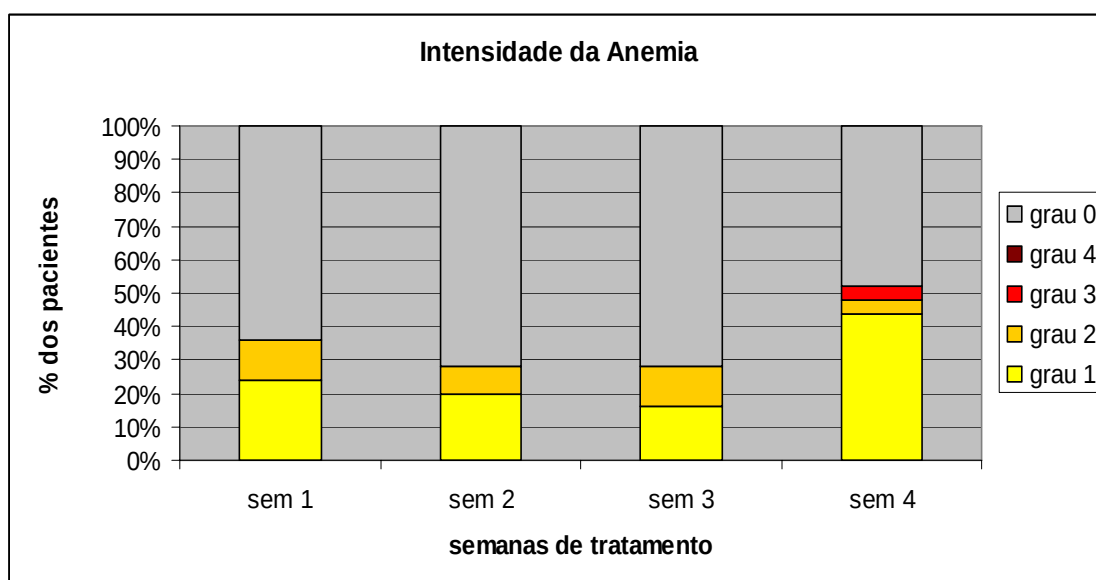


Figura 16 - Incidência e intensidade da anemia. Foi verificada uma proporção relevante de pacientes com anemia ao diagnóstico e uma maior incidência de anemia com maior gravidade na semana 4 (D22).

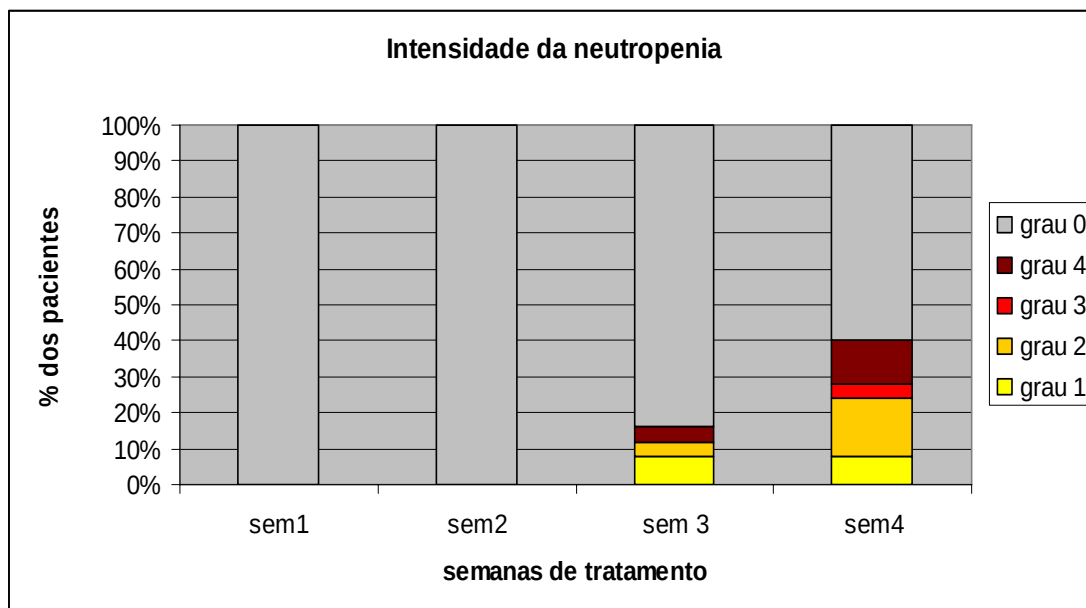


Figura 17 - Incidência e intensidade de neutropenia. A população apresentou uma incidência crescente de neutropenia com maior impacto na 4ª semana de tratamento, quando 40% dos pacientes foram atingidos. Importante notar que a intensidade máxima (grau 4) acometeu 12% dos pacientes naquela semana.

4.4 ANÁLISE DA PERMEABILIDADE INTESTINAL

Os resultados dos testes de permeabilidade intestinal mostraram perda da integridade e disfunção intestinal nos pacientes tratados com irinotecano, fluorouracil e ácido folínico no primeiro ciclo de tratamento em comparação com a permeabilidade intestinal dos mesmos pacientes antes do tratamento. A absorção da lactulose isoladamente não se mostrou alterada entre os momentos pré-tratamento e no D15 e D29. No entanto, a absorção de manitol (**Figura 19**) está reduzida em relação ao controle pareado (teste de wilcoxon) dos mesmos pacientes antes do tratamento, sendo esta diferença significativa ($P < 0,05$) no D29 (5ª semana do ciclo terapêutico).

Ainda mais inequívoca é a alteração da relação lactulose/ manitol (**Figura 18**). Os resultados mostraram que os pacientes já apresentam aumento significativo no quociente entre dissacarídeo/monossacarídeo no D15 com significância estatística ($P < 0,05$) (terceira semana do ciclo de tratamento) que persiste alterada de maneira significativa ao D29 (quinta semana do ciclo).

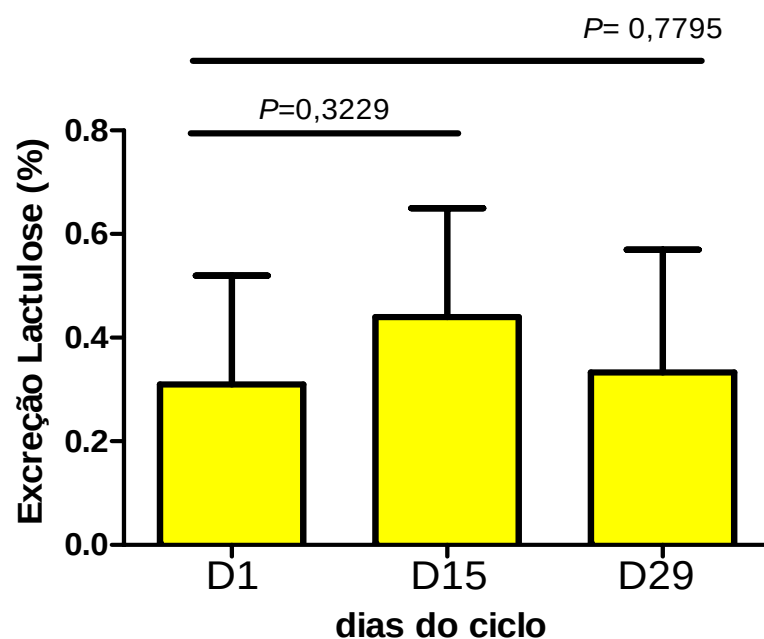


Figura 18 - Percentual de excreção de lactulose. Os pacientes tratados com IFL não mostraram alterações estatisticamente significativas nas taxas de recuperação de lactulose por via urinária após teste de permeabilidade com carga oral do dissacarídeo. (teste de Wilcoxon) (barras representam o erro padrão da média).

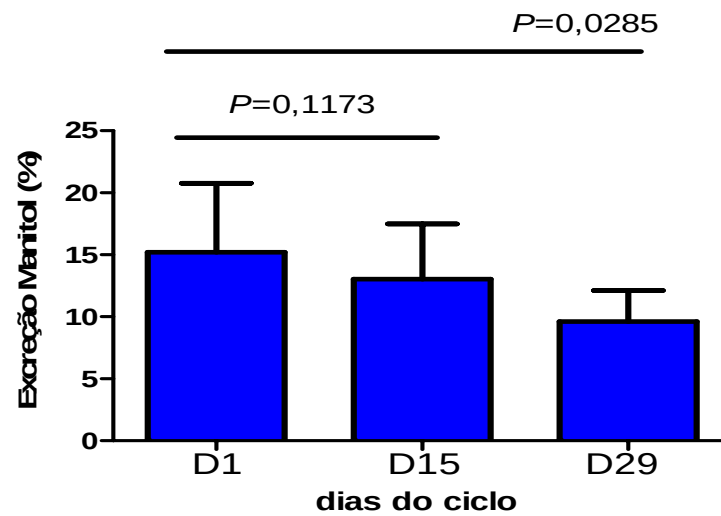


Figura 19 - Percentual de excreção do manitol. Os pacientes tratados com IFL mostraram redução na absorção de manitol ao D15, que se torna significativa ($P<0,05$) ao D29 do primeiro ciclo de tratamento (teste de Wilcoxon) (barras representam o erro padrão da média).

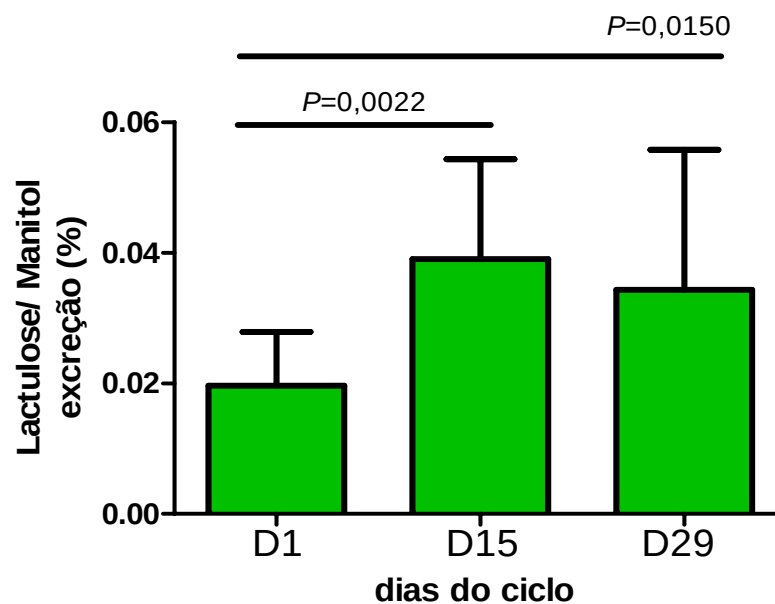


Figura 20 - Excreção percentual de lactulose/manitol. Os pacientes tratados com IFL mostraram aumento significativo ($P<0,05$) da relação lactulose/manitol ao D15 e ao D29 do primeiro ciclo de IFL (teste de Wilcoxon) (barras representam o erro padrão da média).

4.5 CORRELAÇÃO DA TOXICIDADE CLÍNICA COM AS MEDIÇÕES DE PERMEABILIDADE INTESTINAL

Ao se correlacionar os dados clínicos com os resultados do teste de permeabilidade intestinal foram encontrados resultados conflitantes. A magnitude da diferença das taxas de recuperação urinária de lactulose e manitol foi comparada aos escores clínicos de diarreia e dor abdominal. Em relação à diarreia não houve correlação estatística significativa para as taxas de eliminação de manitol seja no D15 ($P=0,7127$) ou no D29 ($P=0,8044$), mas em relação à eliminação do dissacarídeo, a intensidade da diarreia se associou estatisticamente ao aumento de lactulose no D29 ($P=0,0472$), embora esta correlação não tenha significância estatística no D15 ($P=0,1570$). Já a relação lactulose/ manitol não descartou uma correlação com a intensidade da diarreia para o D15 ($P=0,0861$) sendo esta hipótese menos provável para o D29 ($P=0,1836$).

Na análise da dor abdominal, os resultados são igualmente heterogêneos. O grau de dor abdominal reportado pelos pacientes se correlacionou com a taxa de recuperação de manitol ao D15 ($P=0,0436$), embora esta associação não se mostre significativa para as taxas de recuperação de lactulose ($P=0,5956$) e da relação lactulose/ manitol ($P=0,1156$). A magnitude da dor abdominal não se correlacionou com qualquer das três variáveis do teste de permeabilidade intestinal no D29.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação entre a intensidade de dor abdominal ou diarreia e as alterações de permeabilidade intestinal.

	D15		D29			
	Lactulose	Manitol	Lactulose/ manitol	Lactulose	Manitol	Lactulose/ manitol
Diarréia	0,3050	0,0811	0,3658	0,4377*	0,0575	0,3018
<i>P</i>	0,1570	0,7127	0,0861	0,0472*	0,8044	0,1836
Dor abdominal	0,1197	0,4339*	-0,3452	-0,1355	0,3409	-0,3934
<i>P</i>	0,5956	0,0436*	0,1156	0,5582	0,1305	0,0776

As alterações do teste de permeabilidade intestinal estiveram associadas aos escores dos critérios comuns de toxicidade (CTC) para diarreia e dor abdominal no D15 (com associação à magnitude da recuperação urinária de manitol) e no D29 (correlação positiva para a taxa de recuperação urinária de lactulose. (teste de correlação de Spearman. Significativo se $P < 0,05$)

4.6 CORRELAÇÃO DA TOXICIDADE LABORATORIAL COM AS MEDIÇÕES DE PERMEABILIDADE INTESTINAL

Ao se correlacionar o grau de toxicidade laboratorial (anemia e neutropenia) com as alterações de permeabilidade intestinal, não se encontrou nenhuma associação relevante. Os graus máximos de neutropenia e de anemia segundo os critérios comuns de toxicidade (CTC vs. 4.0) do Instituto Nacional do Câncer (NCI) norte-americano não se correlacionaram de maneira significativa (teste de Spearman) com as diferenças observadas nas taxas de recuperação de lactulose, manitol ou lactulose/ manitol (Tabela 4).

Tabela 4 - Coeficientes de correlação entre a intensidade máxima de anemia ou neutropenia e as alterações de permeabilidade intestinal.

	D15		D29			
	Lactulose	Manitol	Lactulose/ manitol	Lactulose	Manitol	Lactulose/ manitol
Anemia	0,0192	0,1777	0,0471	0,1078	-0,0854	0,0503
<i>P</i>	0,9324	0,4287	0,8349	0,6511	0,8349	0,8332
Neutropenia	-0,1109	-0,1153	-0,1789	-0,2086	-0,3113	-0,0194
<i>P</i>	0,6231	0,4090	0,4257	0,3774	0,1815	0,9353

As alterações do teste de permeabilidade intestinal não mostraram associação aos escores máximos dos critérios comuns de toxicidade (CTC) para anemia e neutropenia no D15 ou no D29 (teste de correlação de Spearman. Significativo se $P < 0,05$)

4.7 DOSAGENS DE CITOCINAS

Amostras de soro dos pacientes foram submetidas a dosagem de citocinas pela metodologia do Ensaio de imuno-absorvência ligada a enzima (ELISA) em dois momentos: antes da primeira dose e antes da terceira dose (D15). As citocinas analisadas foram TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-18, IL-18bp e IL-33. Os resultados mostraram que o nível periférico de todos os mediadores pesquisados se encontrava em níveis comparáveis antes e após a quimioterapia com IFL.

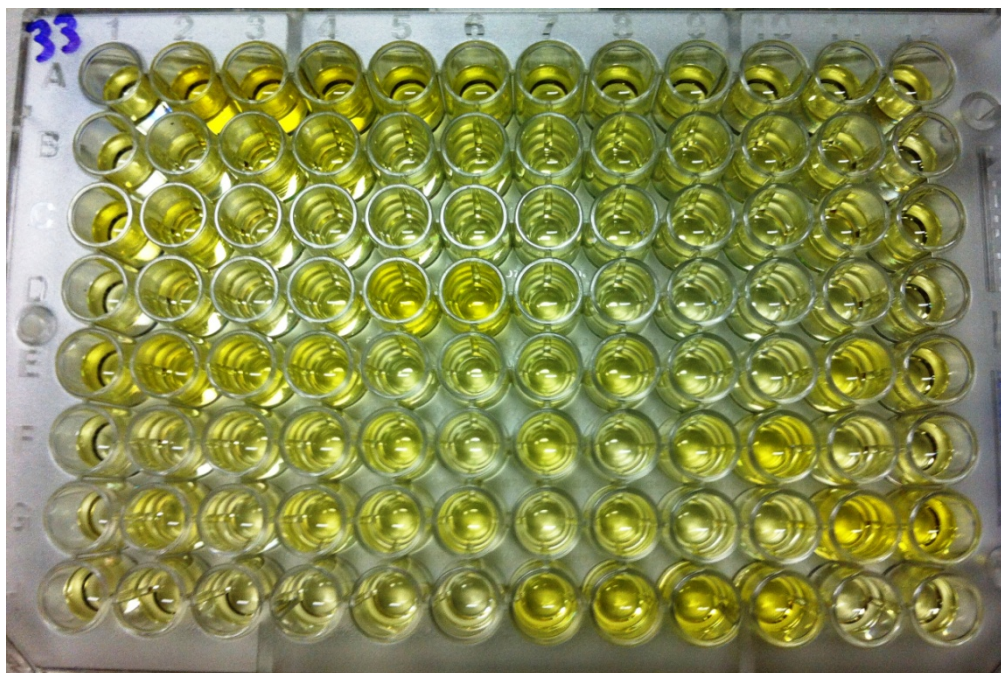


Figura 21 - Placa de ELISA para dosagem de IL-33. Na primeira linha (A) estão as diluições e calibração. É bastante variável a intensidade de coloração entre as amostras de soro dos diferentes pacientes (avaliados em duplicata já após a interrupção da reação).

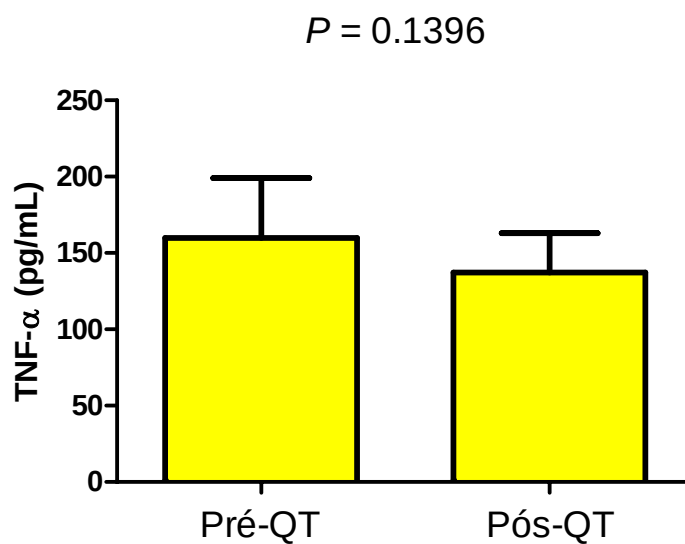


Figura 22 - Dosagem sérica de TNF α . Apesar de uma diminuição numérica, os níveis séricos de TNF α não foram diferentes estatisticamente entre as amostras pré e pós tratamento. (teste t pareado) (barras representam o erro padrão da média).

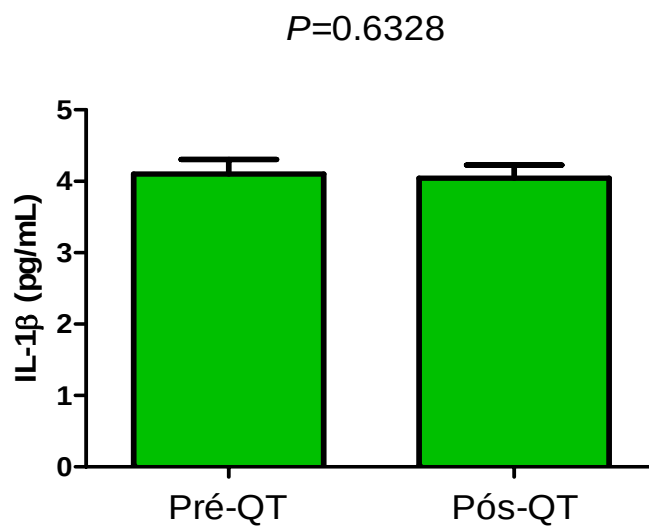


Figura 23 - Dosagem sérica de IL-1 β . Não houve diferença na dosagem sérica de IL-1 β nos soro pacientes após a quimioterapia com IFL, quando comparado às dosagens pré-tratamento. (teste t pareado) (barras representam o erro padrão da média).

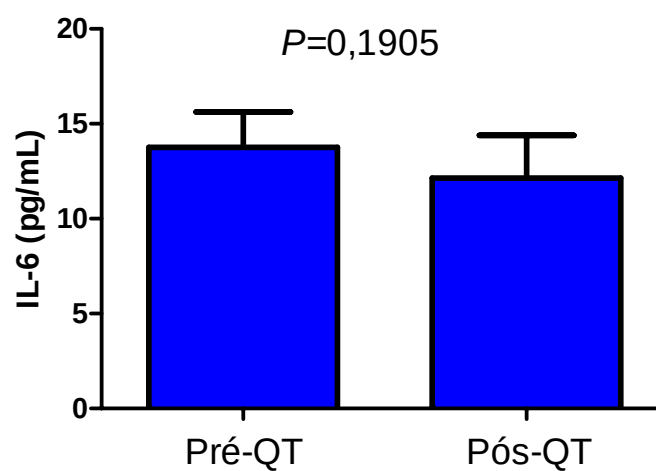


Figura 24 – Dosagem sérica de IL-6. Os níveis de IL-6 se mostraram comparáveis antes e após a quimioterapia com IFL nos pacientes com Câncer Colo. (teste t pareado) (barras representam o erro padrão da média).

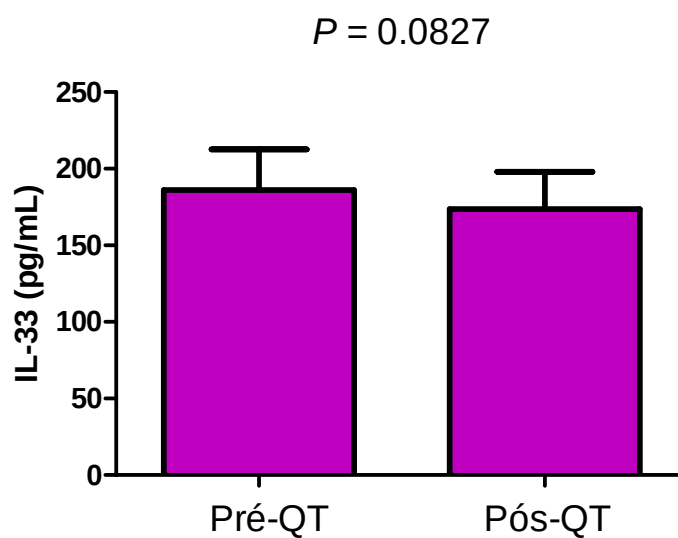


Figura 25 - Dosagem sérica de IL-33. Em comparação com os níveis pré-tratamento, a IL-33 sérica dos pacientes mostrou-se reduzida numericamente após o tratamento com quimioterapia por IFL, embora a significância estatística não tenha sido atingida (teste t pareado) (barras representam o erro padrão da média).

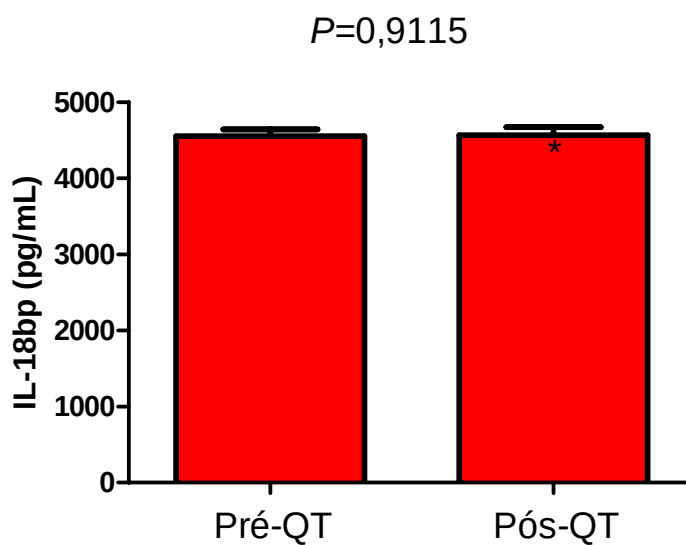


Figura 26 - Dosagem sérica de IL-18bp. Não há diferença nos níveis séricos de IL-18bp dos pacientes antes e após o tratamento com IFL. (teste t pareado) (barras representam o erro padrão da média).

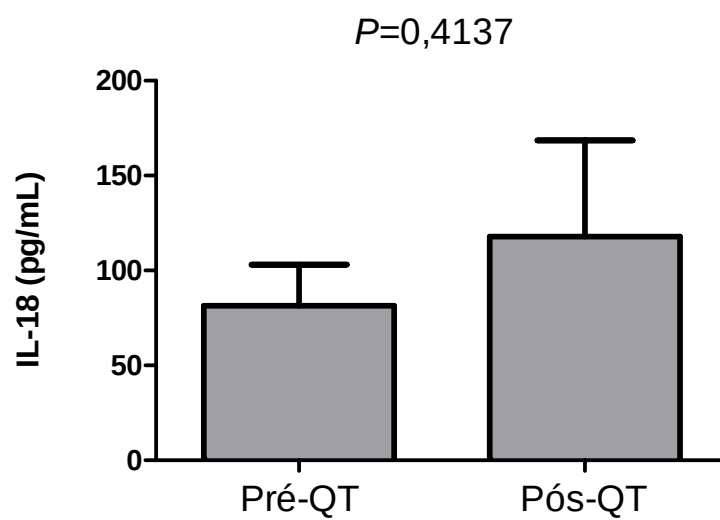


Figura 27 - Dosagem sérica de IL-18. Não há diferença estatística entre as dosagens de IL-18 antes e após o tratamento com IFL nos pacientes do estudo. (teste t pareado) (barras representam o erro padrão da média).

5 DISCUSSÃO

Avaliar clinicamente a mucosite intestinal induzida pela quimioterapia é uma tarefa desafiadora e de difícil execução. O teste de permeabilidade intestinal se mostra uma ferramenta importante e de execução razoável para melhor investigar este fenômeno. No entanto, apesar de não envolver etapas invasivas ou dolorosas, o teste requer jejum matinal e uma permanência prolongada dos pacientes no ambiente hospitalar para a conclusão da coleta da amostra de urina (5 horas). Este processo, repetido em três momentos nas seis semanas de tratamento no primeiro ciclo de IFL (Figura 9) traz significativo desconforto para o muitas vezes já debilitado paciente portador de câncer colorretal metastático. Esta dificuldade parece ser a principal causa da recusa de um terço dos doentes para os quais o protocolo foi oferecido em participar dos procedimentos do estudo. Certamente este fato é agravado pela dificuldade de transporte de grande parte dos doentes tratados no ambulatório de oncologia clínica do Hospital Haroldo Juaçaba, que, ora provenientes do interior do estado, utilizam precários serviços intermunicipais de transporte por grandes distâncias. A permanência prolongada e o jejum matinal seriam sacrifícios ainda mais significativos para estes pacientes.

O perfil dos pacientes mostrou uma excelente representação da população com diagnóstico com CCR metastático no Brasil (Ministério da Saúde 2011b). A maioria dos pacientes incluídos foi do sexo feminino (60%), a idade mediana de diagnóstico foi de 55 anos e o fígado foi o sítio dominante entre os locais de metástases. Conforme a realidade no nordeste brasileiro, grande parte dos pacientes

apresentava sinais e sintomas de doença localmente avançada como primeira manifestação da doença. Manifestações tardias que os faziam procurar o serviço de saúde já com sintomas de obstrução intestinal ou sangramento retal de grande volume. Este fato, explica a necessidade de cirurgia para o controle local dos sintomas obstrutivos e hemorrágicos em grande parte dos pacientes (72%) pois nestes casos (doença à distância) o controle local pela cirurgia só é necessário em caso de sintomas locorregionais importantes.

A avaliação de resposta ao tratamento confirmou a atividade do regime IFL em pacientes com CCR metastático. Conforme os estudos de primeira linha, quando as taxas de resposta encontradas foram de 35% (SALTZ et al. 2000) e 31% (GOLDBERG et al. 2004) na população aqui estudada 32% dos pacientes obtiveram resposta parcial na primeira avaliação de resposta. Este número, somado aos 24% de doentes que obtiveram doença estável pelos critérios RECIST (EISENHAUER et al. 2009), demonstra a atividade do regime que reproduziu rigorosamente a literatura disponível. Esta avaliação foi considerada importante, uma vez que ainda faltam dados nacionais e locais sobre a eficácia do regime IFL, além do fato de que o uso de medicamentos similares e genéricos (fundamentais para o acesso dos pacientes do sistema público ao tratamento pelo menor custo) poderia levantar dúvidas quanto a reprodutibilidade destes dados no que se refere à eficácia e à toxicidade.

De maneira similar, a análise da toxicidade na população estudada se assemelhou aos dados da literatura. A diarreia foi a reação adversa mais limitante. 75% dos pacientes desenvolveram diarreia em qualquer grau sendo o pico de intensidade e frequência na terceira semana de tratamento, quando 33% dos pacientes desenvolveu diarreia de grau 3. Vale ressaltar que no estudo de SALTZ et

al. (2000) diarreia de grau 3 ou 4 foi reportada em apenas 22,7%, enquanto o estudo de GOLDBERG et al. (2004) registrou frequência de 28%. Esta diferença pode ser explicada pela seleção de pacientes no ambiente de estudo clínico em comparação ao “mundo real” da prática clínica diária e à estratégia de registro mais rigorosa dos eventos adversos no diário dos sintomas deste estudo.

A incidência de náuseas e vômitos foi comparável ao descrito nos estudos de fase 3, sendo os eventos de intensidade mais grave (3 ou 4) mais comuns nos estudos de primeira linha publicados (cerca de 12-14% dos pacientes) (SALTZ et al. 2000; GOLDBERG et al. 2004) do que na população ora estudada. A reduzida incidência (não houve relato de vômitos grau 3 ou 4) pode ser motivada pelo rigoroso acompanhamento e manuseio dos eventos adversos neste estudo, que previa a visita semanal ao ambulatório e a agressiva estratégia de intervenção conforme as diretrizes apropriadas. A baixa incidência de mucosite oral era esperada, uma vez que o regime IFL causa baixa incidência desta reação adversa também nos estudos (2% grau 3 ou 4).

A incidência de dor abdominal ocorreu em paralelo aos eventos de diarreia seja em sua frequência, seja em sua intensidade. Enquanto os eventos de náuseas e vômitos ocorreram com maior frequência nas primeiras semanas de tratamento (semanas 1 e 2), o registro da diarreia e da dor abdominal atingiram seu apogeu na terceira e quarta semanas. Este dado reforça a idéia de que um processo fisiopatológico comum levaria o paciente às manifestações clínicas de diarreia e dor abdominal. A hipótese é que a mucosite gastrointestinal e seus mecanismos inflamatórios promoveriam disabsorção, hipersecreção, dismotilidade e hipersensibilidade gastrointestinal como diferentes expressões de um mesmo processo

fisiopatológico, o que explicaria a ocorrência em paralelo de diarreia e de dor abdominal.

Por outro lado, embora a frequência de neutropenia nos pacientes do hospital Haroldo Juaçaba tenha sido inferior ao observado nos estudos de primeira linha, a frequência de neutropenia febril foi comparável ao reportado pela literatura. Um estudo (SALTZ et al. 2000) reportou uma incidência de 53% de neutropenia grau 3 ou 4 com 7% de neutropenia febril enquanto no outro (GOLDBERG et al. 2004) a frequência de neutropenia graus 3 ou 4 foi de 40% com 15% de neutropenia febril. Nesta análise, a incidência de neutropenia febril graus 3 ou 4 foi de 24%, entretanto houve 12% de neutropenia febril. Este dado mostra que o impacto negativo mais importante da toxicidade hematológica foi mais intenso na nossa amostra apesar de a incidência global de eventos adversos desta natureza ter sido menor.

Desta forma, a análise de toxicidade dos pacientes avaliados confirmou o esperado para o regime IFL. Embora seja reconhecidamente ativo, trata-se de um regime de toxicidade significativa com elevada incidência de diarreia grave e toxicidade hematológica relevante. A alta frequência de modificação do regime (56% dos pacientes) já no primeiro ciclo, seja por redução da dose prevista ou suspensão de sessões programadas de quimioterapia, demonstra a necessidade de acompanhamento rigoroso dos eventos adversos com ênfase no tratamento precoce das complicações e monitoramento dos riscos envolvidos.

As alterações clínicas registradas demonstram o grande impacto do tratamento no cotidiano dos pacientes e atestam a intensidade destes fenômenos naquilo que pode ser inferido pelas queixas do paciente. Entretanto, o registro dos eventos adversos muitas vezes traz a subjetividade do paciente e do investigador

como elemento de confusão para a análise, tornando a quantificação da toxicidade uma tarefa de difícil reprodutibilidade.

Nesse sentido, o estudo procurou tornar através do teste de permeabilidade intestinal com lactulose e manitol mais objetiva a medida da intensidade das alterações observadas. Tendo como substrato a disfunção absorptiva da mucosa intestinal, o teste de permeabilidade com açúcares inertes é capaz de predizer com segurança o grau de alteração da função intestinal provocado pela quimioterapia uma vez que cada paciente de forma pareada foi utilizado com controle de si mesmo no teste pré-quimioterapia, o que minimiza os efeitos de variáveis como o estado nutricional e eventuais alterações resultantes de tratamentos cirúrgicos prévios.

Desta forma, o teste de permeabilidade atingiu a meta proposta. Com a redução da taxa de excreção de manitol à terceira semana de tratamento (D15), que se tornou significativa ($P < 0,05$) à quinta semana (D29) do ciclo de seis semanas, ficou claramente demonstrado que as alterações de excreção do monossacarídeo se manifestam já no primeiro ciclo de IFL, se agravando na 5ª semana (D29) em comparação ao controle pré-tratamento e ao teste da 3ª semana (D15) (**Figura 19**). Mais sensível para detectar a disfunção da mucosa, a relação lactulose/manitol já se mostrou significativamente ($p < 0,05$) alterada na 3ª semana permanecendo alterada na 5ª semana (D29).

No que se refere à lactulose isoladamente, as alterações observadas não atingiram significância estatística. Apesar de um aumento numérico observado na terceira semana (D15) (**Figura 18**), não houve significância estatística para esta análise e uma eventual alteração de excreção parece ser revertida na 5ª semana (D29), quando a taxa de recuperação do dissacarídeo parece retornar aos níveis pré-

quimioterapia. Estes dados são consistentes com a quase totalidade dos achados da literatura disponíveis para o teste de permeabilidade intestinal em pacientes oncológicos submetidos à quimioterapia (Quadro 3), quando as alterações da relação dissacarídeo/monossacarídeo são as mais comumente encontradas e as alterações de excreção do monossacarídeo são achadas com frequência, sendo rara a disfunção encontrada pela excreção aumentada do dissacarídeo.

A literatura experimental fornece substrato anatomopatológico para este fenômeno. O encurtamento dos vilos intestinais e a diminuição da relação vilo-cripta são as alterações histopatológicas comuns reportadas em mucosite intestinal provocadas pelo metrotexato (CARNEIRO-FILHO et al. 2004), fluorouracil (DANIELE et al. 2001b) e irinotecano (LIMA-JUNIOR et al. 2012) em modelos animais e humanos. A perda de integridade dos vilos intestinais (com atrofia e achatamento), principal sítio de absorção do manitol, parece ser um evento precoce na mucosite induzida pela quimioterapia, o que justifica o achado da alteração de excreção do manitol encontrado na base experimental em ratos tratados com metrotexato (CARNEIRO-FILHO et al. 2004) e na presente investigação. Já a confirmação do aumento de excreção de lactulose demandaria um maior contato do fluido intraluminal com os grandes poros presentes nas criptas, o que parece não ocorrer com a mesma frequência no ambiente de pesquisa clínica, quando as alterações da mucosa são obviamente mais sutis do que as induzidas com pesquisa em modelos animais. Outro aspecto importante a ser considerado é que nos modelos animais os testes são comparados a animais de um grupo controle não expostos ao agente quimioterápico e previamente saudável, enquanto no contexto clínico deste e de outros estudos, os pacientes participantes foram pareados como controle

individual de cada teste antes e após a quimioterapia, sendo, no caso específico, portadores de uma enfermidade grave (CCR metastático). De qualquer modo, a relação lactulose/manitol demonstra inequívoca modificação da barreira intestinal, sendo a ferramenta mais sensível para detectar estas modificações do epitélio mucoso.

De maneira interessante, as alterações de permeabilidade intestinal se correlacionaram significativamente ($p < 0,05$) com a intensidade de diarreia e dor abdominal registradas pelo escore clínico dos critérios comuns de toxicidade (NCI-CTC versão 4.0) (Tabela 3). Quanto mais intensas as alterações de excreção de lactulose, maior o grau de diarreia reportado pelos pacientes do estudo e quanto maior a intensidade da dor abdominal registrada, maior a magnitude da diferença de excreção de manitol observada. Estes dados fortalecem a hipótese de que dor abdominal e diarreia são manifestações clínicas resultantes do mesmo processo inflamatório intestinal consequente à mucosite induzida pela quimioterapia. Os dados positivos desta correlação clínica fortalecem a validade interna e a viabilidade do teste de permeabilidade intestinal como ferramenta experimental adequada para o estudo da mucosite intestinal induzida pelos agentes antineoplásicos. Esta correlação havia sido demonstrada apenas em um estudo publicado (DANIELE et al. 2001a) até este momento e é inédita para pacientes que receberam fluorouracil e irinotecano.

De maneira diferente, a intensidade da alteração do teste de permeabilidade não guardou associação com a intensidade dos eventos adversos hematológicos (anemia e neutropenia). Embora estudo prévio (BOW e MEDDINGS 2006) tenha associado aumento das infecções invasivas por colite neutropênica e alterações de permeabilidade intestinal em pacientes submetidos a regimes de indução para

leucemias agudas, este achado parece estar mais correlacionado ao grau de toxicidade gastrointestinal do que aos eventos adversos de mielossupressão. A toxicidade gastrointestinal eventualmente quantificada pelo teste de permeabilidade não tem o mesmo correspondente fisiopatológico para eventuais eventos adversos causados pela quimioterapia na medula óssea, onde a hematopoiese pode estar prejudicada e causa as alterações registradas nos hemogramas dos pacientes. Apesar de produzir significativa toxicidade hematológica e gastrointestinal, o IFL não promove necessariamente ambos os eventos adversos nos mesmos pacientes simultaneamente. Mesmo para pacientes que recebam fluorouracil e CPT-11, sendo, entretanto o fluorouracil em infusão contínua (FOLFIRI) as alterações clínicas de diarreia e mielossupressão se manifestam de maneira diferente dos regimes com fluorouracil em bolus (IFL) utilizado neste estudo. Esta constatação permite inferir que não há como extrapolar que as mesmas alterações de permeabilidade medidas pelo teste de permeabilidade com lactulose/ manitol encontrem equivalência nos regimes com fluorouracil infusional (FOLFIRI), até porque estudo prévio com infusão prolongada de fluorouracil (DVORÁK et al. 2010) mostra alterações mais tardias a serem detectadas pelo teste de permeabilidade.

Ao contrário da intenção inicial do projeto, não foi possível documentar a eventual participação de mediadores envolvidos. A dosagem periférica de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , TNF α , IL-18 e IL6, ou mediadores de modulação da inflamação como IL-33 e IL18bp não revelou nenhuma alteração em relação ao controle pré-tratamento nos pacientes portadores de CCR metastático tratados com IFL.

Embora estudos preliminares em animais (LOGAN et al. 2008b) mostrem a elevação sérica de mediadores como NF κ B, IL-1 β , TNF e IL-6, esta elevação ocorre em tempos variáveis após a administração de diferentes medicamentos com metotrexato, fluorouracil e CPT-11, ocorrendo muitas vezes simultaneamente ou poucos minutos antes do estabelecimento das alterações histopatológicas. De maneira que, mesmo no modelo experimental, a curva temporal de dosagem sérica de citocinas não pôde prever com alguma antecedência e confiabilidade a ocorrência dos eventos de mucosite, embora os níveis de citocinas séricas em ratos estivessem normalizados após 72 horas da administração do agente citotóxico.

Por razões técnicas e operacionais, o estudo colheu amostras dos pacientes no 15º dia do primeiro ciclo de IFL. Nesta ocasião, após a coleta da amostra os pacientes receberiam a terceira dose dos anti-neoplásicos e os dados clínicos disponíveis apontavam esta data (o que foi confirmado na análise clínica de toxicidade) como pico de manifestações de diarreia e dor abdominal. Desta forma, também considerando a dificuldade dos pacientes em retornar múltiplas vezes ao hospital, esta data foi escolhida para exploração da dosagem sérica de citocinas.

No entanto, apesar da confirmação dos achados clínicos em grande proporção na data estabelecida, as citocinas séricas não estiveram modificadas. Duas hipóteses explicariam estes achados:

1 – O fenômeno inflamatório que acontece nos pacientes, diferentemente do modelo experimental têm proporções mais discretas, uma vez que a toxicidade deve ser a menor possível. Desta forma, a mediação da mucosite intestinal seria um fenômeno localizado com pouca expressão sistêmica, sendo um processo de difícil documentação pela dosagem sérica de citocinas.

2 – O fenômeno de elevação das citocinas séricas não foi documentado, pois a dosagem ocorreu num momento inadequado. Conforme demonstrado nos dados experimentais em modelo animal, a elevação dos mediadores inflamatórios ocorre poucas horas após a administração da quimioterapia. Este fato impediria que a dosagem feita após uma semana da segunda dose de IFL detectasse eventuais anormalidades dos níveis séricos das citocinas, embora naquele momento os sintomas clínicos se manifestassem com maior intensidade.

Desta forma, é possível que a estratégia escolhida tenha sido insuficiente para demonstrar alterações séricas dos mediadores escolhidos. Os próximos passos dos estudos do grupo considerarão a coleta de amostras nas horas que sucedem a aplicação do regime quimioterápico de forma que a segunda hipótese mencionada anteriormente possa ser adequadamente investigada e confrontada com a primeira explicação apresentada.

A maior contribuição deste trabalho talvez seja a inédita demonstração das alterações de permeabilidade intestinal nos pacientes portadores de CCR metastático tratados com o regime IFL em primeira linha de quimioterapia. O teste de permeabilidade intestinal mostrou-se bastante útil na monitorização funcional das consequências intestinais da toxicidade dos agentes anti-neoplásicos aqui utilizados. De maneira inédita, este estudo também contribui para afirmar a correlação significativa entre a magnitude das alterações de permeabilidade detectáveis pelo teste com lactulose e manitol e a intensidade das manifestações clínicas observadas nos pacientes.

6 CONCLUSÕES

- 1) Já no seu primeiro ciclo, o tratamento em primeira linha de pacientes portadores de CCR metastático baseado no regime IFL produz alterações de permeabilidade intestinal detectáveis pelo teste de permeabilidade com lactulose e manitol.
- 2) Estas alterações se correlacionam significativamente em intensidade com escores clínicos de diarreia e dor abdominal, porém não estão associadas aos eventos de toxicidade hematológica (anemia e neutropenia).
- 3) A dosagem sérica de citocinas, feita no 15º dia do ciclo foi incapaz de detectar alterações na concentração dos mediadores inflamatórios em comparação com o status dos pacientes pré-tratamento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[ACS] American Cancer Society. **Cancer facts & figures 2011**. Available from: <URL:<http://www.cancer.org/Research/CancerFactsFigures/CancerFactsFigures/cancer-facts-figures-2011>> [2012 jan 12]

[Anonymous]. Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer. **Conn Med** 1990; 54:573-81.

[Anonymous] Toxicity of fluorouracil in patients with advanced colorectal cancer: effect of administration schedule and prognostic factors. Meta-Analysis Group in Cancer. **J Clin Oncol** 1998a; 16:3537-41.

[Anonymous]. Efficacy of intravenous continuous infusion of fluorouracil compared with bolus administration in advanced colorectal cancer. Meta-analysis Group in Cancer. **J Clin Oncol** 1998b; 16:301-8.

[Anonymous]. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in B2 colon cancer. International Multicentre Pooled Analysis of B2 Colon Cancer Trials (IMPACT B2) Investigators. **J Clin Oncol** 1999; 17:1356-63.

[Anonymous]. Palliative chemotherapy for advanced or metastatic colorectal cancer. Cochrane Colorectal Meta-analysis Collaboration. **Cochrane Database Syst Rev** 2000; (2):CD001545.

Al-Dasooqi N, Gibson RJ, Bowen JM, Logan RM, Stringer AM, Keefe DM. Matrix metalloproteinases are possible mediators for the development of alimentary tract mucositis in the dark agouti rat. **Exp Biol Med (Maywood)** 2010; 235:1244-56.

Al-Dasooqi N, Bowen JM, Gibson RJ, Logan RM, Stringer AM, Keefe DM. Irinotecan-induced alterations in intestinal cell kinetics and extracellular matrix component expression in the dark agouti rat. **Int J Exp Pathol** 2011; 92:357-65.

Alexander DD, Weed DL, Cushing CA, Lowe KA. Meta-analysis of prospective studies of red meat consumption and colorectal cancer. **Eur J Cancer Prev** 2011; 20:293-307.

Alimonti A, Satta F, Pavese I, Burattini E, Zoffoli V, Vecchione A. Prevention of irinotecan plus 5-fluorouracil/leucovorin-induced diarrhoea by oral administration of neomycin plus bacitracin in first-line treatment of advanced colorectal cancer. **Ann Oncol** 2003; 14:805-6.

Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol** 2008; 26:1626-34.

André T, Boni C, Navarro M, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. **J Clin Oncol** 2009; 27:3109-16.

Basch E, Prestrud AA, Hesketh PJ, et al. Antiemetics: American Society of clinical oncology clinical practice guideline update. **J Clin Oncol** 2011; 29:4189-98.

Benson AB 3rd, Ajani JA, Catalano RB, et al. Recommended guidelines for the treatment of cancer treatment-induced diarrhea. **J Clin Oncol** 2004; 22:2918-26.

Bijlsma PB, Peeters RA, Groot JA, Dekker PR, Taminiau JA, Van Der Meer R. Differential in vivo and in vitro intestinal permeability to lactulose and mannitol in animals and humans: a hypothesis. **Gastroenterology** 1995; 108:687-96.

Bingham SA, Day NE, Luben R, et al. Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. **Lancet** 2003; 361:1496-501.

Blijlevens NM, Donnelly JP, de Pauw BE. Prospective evaluation of gut mucosal barrier injury following various myeloablative regimens for haematopoietic stem cell transplant. **Bone Marrow Transplant** 2005; 35:707-11.

Bow EJ, Loewen R, Cheang MS, Shore TB, Rubinger M, Schacter B. Cytotoxic therapy-induced D-xylose malabsorption and invasive infection during remission-induction therapy for acute myeloid leukemia in adults. **J Clin Oncol** 1997; 15:2254-61.

Bow EJ, Meddings JB. Intestinal mucosal dysfunction and infection during remission-induction therapy for acute myeloid leukaemia. **Leukemia** 2006; 20:2087-92.

Braden B, Halliday J, Aryasingha S, et al. Risk for colorectal neoplasia in patients with colonic Crohn's disease and concomitant primary sclerosing cholangitis. **Clin Gastroenterol Hepatol** 2012; 10:303-8.

Carneiro-Filho BA, Lima IP, Araujo DH, et al. Intestinal barrier function and secretion in methotrexate-induced rat intestinal mucositis. **Dig Dis Sci** 2004; 49:65-72.

Chan AT, Arber N, Burn J, et al. Aspirin in the chemoprevention of colorectal neoplasia: an overview. **Cancer Prev Res (Phila)** 2012; 5:164-78.

Côté JF, Kirzin S, Kramar A, et al. UGT1A1 polymorphism can predict hematologic toxicity in patients treated with irinotecan. **Clin Cancer Res** 2007; 13:3269-75.

Cross AJ, Ferrucci LM, Risch A, et al. A large prospective study of meat consumption and colorectal cancer risk: an investigation of potential mechanisms underlying this association. **Cancer Res** 2010; 70:2406-14.

Cross HS, Nittke T, Kallay E. Colonic vitamin D metabolism: implications for the pathogenesis of inflammatory bowel disease and colorectal cancer. **Mol Cell Endocrinol** 2011; 347:70-9.

Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. **Lancet** 1998; 352:1413-8.

Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. **N Engl J Med** 2004; 351:337-45.

Daenen S, Muskiet FA, Marrink J, Halie MR. Aggressive chemotherapy for acute leukaemia frequently causes intestinal protein leakage. **Eur J Cancer** 1991; 27:552-6.

Daniele B, Perrone F, Gallo C, et al. Oral glutamine in the prevention of fluorouracil induced intestinal toxicity: a double blind, placebo controlled, randomised trial. **Gut** 2001a; 48:28-33.

Daniele B, Secondulfo M, De Vivo R, et al. Effect of chemotherapy with 5-fluorouracil on intestinal permeability and absorption in patients with advanced colorectal cancer. **J Clin Gastroenterol** 2001b; 32:228-30.

Davies JM, Goldberg RM. Treatment of metastatic colorectal cancer. **Semin Oncol** 2011; 38:552-60.

De Boissieu D, Dupont C, Badoual J. Allergy to nondairy proteins in mother's milk as assessed by intestinal permeability tests. **Allergy** 1994; 49:882-4.

De Gramont A, Figer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. **J Clin Oncol** 2000; 18:2938-47.

Delellis Henderson K, Duan L, Sullivan-Halley J, et al. Menopausal hormone therapy use and risk of invasive colon cancer: the California Teachers Study. **Am J Epidemiol** 2010; 171:415-25.

Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. **Lancet** 2000; 355:1041-7.

Douillard JY, Siena S, Cassidy J, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. **J Clin Oncol** 2010; 28:4697-705.

Dvorák J, Melichar B, Hyspler R, et al. Intestinal permeability, vitamin A absorption, alpha-tocopherol, and neopterin in patients with rectal carcinoma treated with chemoradiation. **Med Oncol** 2010; 27:690-6.

Dworakowska D, Gueorguiev M, Kelly P, et al. Repeated colonoscopic screening of patients with acromegaly: 15-year experience identifies those at risk of new colonic neoplasia and allows for effective screening guidelines. **Eur J Endocrinol** 2010; 163:21-8.

Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. **AJCC cancer staging manual**. 7^a ed. New York: Springer-Verlag, 2010. Colon and rectum; p.143-64.

Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). **Eur J Cancer** 2009; 45:228-47.

Ellis M, Zwaan F, Hedstrom U, et al. Recombinant human interleukin 11 and bacterial infection in patients with [correction of] haematological malignant disease undergoing chemotherapy: a double-blind placebo-controlled randomised trial. **Lancet** 2003; 361:275-80.

Engelking C, Rutledge DN, Ippoliti C, Neumann J, Hogan CM. Cancer-related diarrhea: a neglected cause of cancer-related symptom distress. **Oncol Nurs Forum** 1998; 25:859-60.

Enker WE. Total mesorectal excision--the new golden standard of surgery for rectal cancer. **Ann Med** 1997; 29:127-33.

Fazeny-Dorner B, Veitl M, Wenzel C, et al. Alterations in intestinal permeability following the intensified polydrug-chemotherapy IFADIC (ifosfamide, Adriamycin, dacarbazine). **Cancer Chemother Pharmacol** 2002; 49:294-8.

Ferlay J, Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. **Int J Cancer** 2010; 127:2893-917.

Ferraldeschi R, Minchell LJ, Roberts SA, et al. UGT1A1*28 genotype predicts gastrointestinal toxicity in patients treated with intermediate-dose irinotecan. **Pharmacogenomics** 2009; 10:733-9.

Figueredo A, Charette ML, Maroun J, Brouwers MC, Zuraw L. Adjuvant therapy for stage II colon cancer: a systematic review from the Cancer Care Ontario Program in evidence-based care's gastrointestinal cancer disease site group. **J Clin Oncol** 2004; 22:3395-407.

Flick ED, Habel LA, Chan KA, et al. Statin use and risk of colorectal cancer in a cohort of middle-aged men in the US: a prospective cohort study. **Drugs** 2009; 69:1445-57.

Freitas HC. **Envolvimento da Interleucina 18 (IL-18) na patogênese da mucosite gastrointestinal induzida por cloridrato de irinotecano.** Fortaleza; 2007. [Dissertação de Mestrado-Universidade Federal do Ceará].

Fuchs CS, Marshall J, Barrueco J. Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: updated results from the BICC-C study. **J Clin Oncol** 2008; 26:689-90.

Gala M, Chung DC. Hereditary colon cancer syndromes. **Semin Oncol** 2011; 38:490-9.

Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. **J Clin Oncol** 2007; 25:1539-44.

Gifoni JMM. **Mucosite e disfunção da barreira intestinal: modelo de estudo experimental em ratos com o uso de metotrexate e em pacientes portadores de Câncer submetidos a tratamento quimioterápico.** Fortaleza; 2003. [Tese de Doutorado-Universidade Federal do Ceará].

Gill S, Loprinzi CL, Sargent DJ, et al. Pooled analysis of fluorouracil-based adjuvant therapy for stage II and III colon cancer: who benefits and by how much?. **J Clin Oncol** 2004; 22:1797-806.

Goldberg RM, Sargent DJ, Morton RF, et al. A randomized controlled trial of fluorouracil plus leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin combinations in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol** 2004; 22:23-30.

Grimes DA, Lobo RA. Perspectives on the Women's Health Initiative trial of hormone replacement therapy. **Obstet Gynecol** 2002; 100:1344-53.

Grothey A, Sargent D, Goldberg RM, Schmoll HJ. Survival of patients with advanced colorectal cancer improves with the availability of fluorouracil-leucovorin, irinotecan, and oxaliplatin in the course of treatment. **J Clin Oncol** 2004; 22:1209-14.

Grothey A, Sargent D. Overall survival of patients with advanced colorectal cancer correlates with availability of fluorouracil, irinotecan, and oxaliplatin regardless of whether doublet or single-agent therapy is used first line. **J Clin Oncol** 2005; 23:9441-2.

Haller DG, Tabernero J, Maroun J, et al. Capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and folinic acid as adjuvant therapy for stage III colon cancer. **J Clin Oncol** 2011; 29:1465-71.

Hebels DG, Sveje KM, de Kok MC, et al. Red meat intake-induced increases in fecal water genotoxicity correlate with pro-carcinogenic gene expression changes in the human colon. **Food Chem Toxicol** 2012; 50:95-103.

Hjartaker A, Langseth H, Weiderpass E. Obesity and diabetes epidemics: cancer repercussions. **Adv Exp Med Biol** 2008; 630:72-93.

Hoff PM, Ansari R, Batist G, et al. Comparison of oral capecitabine versus intravenous fluorouracil plus leucovorin as first-line treatment in 605 patients with metastatic colorectal cancer: results of a randomized phase III study. **J Clin Oncol** 2001; 19:2282-92.

Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. **N Engl J Med** 2004; 350:2335-42.

Ikuno N, Soda H, Watanabe M, Oka M. Irinotecan (CPT-11) and characteristic mucosal changes in the mouse ileum and cecum. **J Natl Cancer Inst** 1995; 87:1876-83.

Inutsuka S, Takesue F, Yasuda M, et al. Assessment of the intestinal permeability following postoperative chemotherapy for human malignant disease. **Eur Surg Res** 2003; 35:22-5.

Iyer L, Ratain MJ. Clinical pharmacology of camptothecins. **Cancer Chemother Pharmacol** 1998; 42:S31-S43.

Jawad N, Direkze N, Leedham SJ. Inflammatory bowel disease and colon cancer. **Recent Results Cancer Res** 2011; 185:99-115.

Jiang Y, Ben Q, Shen H, Lu W, Zhang Y, Zhu J. Diabetes mellitus and incidence and mortality of colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Eur J Epidemiol** 2011; 26:863-76.

Johnson MR, Diasio RB. Importance of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients exhibiting toxicity following treatment with 5-fluorouracil. **Adv Enzyme Regul** 2001; 41:151-7.

Katsanos KH, Tatsioni A, Pedersen N, et al. Cancer in inflammatory bowel disease 15 years after diagnosis in a population-based European Collaborative follow-up study. **J Crohns Colitis** 2011; 5:430-42.

Kawato Y, Aonuma M, Hirota Y, Kuga H, Sato K. Intracellular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect of CPT-11. **Cancer Res** 1991; 51:4187-91.

Kawato Y, Sekiguchi M, Akahane K, et al. Inhibitory activity of camptothecin derivatives against acetylcholinesterase in dogs and their binding activity to acetylcholine receptors in rats. **J Pharm Pharmacol** 1993; 45:444-8.

Keefe DM, Cummins AG, Dale BM, Kotasek D, Robb TA, Sage RE. Effect of high-dose chemotherapy on intestinal permeability in humans. **Clin Sci (Lond)** 1997; 92:385-9.

Keefe DM, Brealey J, Goland GJ, Cummins AG. Chemotherapy for cancer causes apoptosis that precedes hypoplasia in crypts of the small intestine in humans. **Gut** 2000; 47:632-7.

Keefe DM, Schubert MM, Elting LS, et al. Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. **Cancer** 2007; 109:820-31.

Kemeny N, Seiter K. Colon and rectal carcinoma. In: Droz JP, Cvitkovic E, Armand JP, Krouy S, editors. **Handbook of chemotherapy in clinical oncology**. London: SCI Ltd; 1993. p.589-94.

Kohout P, Cerman J, Bratova M, Zadak Z. Small bowel permeability in patients with cytostatic therapy. **Nutrition** 1999; 15:546-9.

Koopman M, Antonini NF, Douma J, et al. Sequential versus combination chemotherapy with capecitabine, irinotecan, and oxaliplatin in advanced colorectal cancer (CAIRO): a phase III randomised controlled trial. **Lancet** 2007; 370:135-42.

Kuebler JP, Wieand HS, O'Connell MJ, et al. Oxaliplatin combined with weekly bolus fluorouracil and leucovorin as surgical adjuvant chemotherapy for stage II and III colon cancer: results from NSABP C-07. **J Clin Oncol** 2007; 25:2198-204.

Lalla RV, Pilbeam CC, Walsh SJ, Sonis ST, Keefe DM, Peterson DE. Role of the cyclooxygenase pathway in chemotherapy-induced oral mucositis: a pilot study. **Support Care Cancer** 2010; 18:95-103.

Leitão RF, Brito GA, Oria RB, et al. Role of inducible nitric oxide synthase pathway on methotrexate-induced intestinal mucositis in rodents. **BMC Gastroenterol** 2011; 11:90.

Lima AA, Silva TM, Gifoni AM, et al. Mucosal injury and disruption of intestinal barrier function in HIV-infected individuals with and without diarrhea and cryptosporidiosis in northeast Brazil. **Am J Gastroenterol** 1997; 92:1861-6.

Lima AA, Moore SR, Barboza MS, Jr., et al. Persistent diarrhea signals a critical period of increased diarrhea burdens and nutritional shortfalls: a prospective cohort study among children in northeastern Brazil. **J Infect Dis** 2000; 181:1643-51.

Lima-Junior RC. **Estudo morfofuncional e dos mediadores inflamatórios envolvidos na patogênese da mucosite intestinal induzida por irinotecano (CPT-11) em camundongos: Papel da Caspase-1, Interleucina-18 e óxido nítrico.** Fortaleza; 2008. [Tese de Doutorado-Universidade Federal do Ceará].

Lima-Junior RC, Figueiredo AA, Freitas HC, et al. Involvement of nitric oxide on the pathogenesis of irinotecan-induced intestinal mucositis: role of cytokines on inducible nitric oxide synthase activation. **Cancer Chemother Pharmacol** 2012; 69:931-42.

Logan RM, Gibson RJ, Bowen JM, Stringer AM, Sonis ST, Keefe DM. Characterisation of mucosal changes in the alimentary tract following administration of irinotecan: implications for the pathobiology of mucositis. **Cancer Chemother Pharmacol** 2008a; 62:33-41.

Logan RM, Stringer AM, Bowen JM, Gibson RJ, Sonis ST, Keefe DM. Serum levels of NFkappaB and pro-inflammatory cytokines following administration of mucotoxic drugs. **Cancer Biol Ther** 2008b; 7:1139-45.

Lopes NN, Plapler H, Chavantes MC, Lalla RV, Yoshimura EM, Alves MT. Cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor expression in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters: evaluation of two low-intensity laser protocols. **Support Care Cancer** 2009; 17:1409-15.

Luo W, Cao Y, Liao C, Gao F. Diabetes mellitus and the incidence and mortality of colorectal cancer: A meta-analysis of twenty four cohort studies. **Colorectal Dis** 2012; 14:1307-12.

Lynch HT, Lynch JF. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer. **Semin Surg Oncol** 2000; 18:305-13.

Maddens S, Charruyer A, Plo I, et al. Kit signaling inhibits the sphingomyelin-ceramide pathway through PLC gamma 1: implication in stem cell factor radioprotective effect. **Blood** 2002; 100:1294-301.

Mamounas E, Wieand S, Wolmark N, et al. Comparative efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with Dukes' B versus Dukes' C colon cancer: results from four National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project adjuvant studies (C-01, C-02, C-03, and C-04). **J Clin Oncol** 1999; 17:1349-55.

Maughan TS, Adams R, Smith CG, et al. Identification of potentially responsive subsets when cetuximab is added to oxaliplatin-fluoropyrimidine chemotherapy (CT) in first-line advanced colorectal cancer (aCRC): mature results of the MRC COIN Trial. **J ClinOncol** 2010; 28:15s. [Presented at Annual Meeting-ASCO; 2010 June 4-8; Chicago (USA)].

Melichar B, Dvorak J, Kohout P, Melicharova K, Solichova D, Zadak Z. Intestinal permeability in colorectal cancer patients treated by raltitrexed or irinotecan. **J Clin Gastroenterol** 2003; 37:192-3.

Melichar B, Hyspler R, Dragounova E, Dvorak J, Kalabova H, Ticha A. Gastrointestinal permeability in ovarian cancer and breast cancer patients treated with paclitaxel and platinum. **BMC Cancer** 2007; 7:155.

Melichar B, Hyspler R, Dragounova E, Kalabova H, Dvorak J. Intestinal permeability and toxicity of second-line therapeutic agents in ovarian cancer. **Tumori** 2008; 94:624-6.

Melichar B, Dvorak J, Kalabova H, et al. Intestinal permeability, vitamin A absorption and serum alpha-tocopherol during therapy with gefitinib. **Scand J Clin Lab Invest** 2010; 70:180-7.

Melichar B, Zezulova M. The significance of altered gastrointestinal permeability in cancer patients. **Curr Opin Support Palliat Care** 2011; 5:47-54.

Melo ML, Brito GA, Soares RC, et al. Role of cytokines (TNF-alpha, IL-1beta and KC) in the pathogenesis of CPT-11-induced intestinal mucositis in mice: effect of pentoxifylline and thalidomide. **Cancer Chemother Pharmacol** 2008; 61:775-84.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Atlas de mortalidade por câncer**. 2011a. Disponível em: <URL:<http://mortalidade.inca.gov.br/Mortalidade/>> [2011 dez 10].

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativas/2012: incidência do câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2011b.

Mota MLS. **Avaliação dos efeitos do agente citoprotetor amifostina na mucosite oral e disfunção da barreira intestinal: modelos experimentais em ratos e em pacientes portadores de câncer submetidos a quimioterapia**. Fortaleza; 2004. [Tese de Doutorado-Universidade Federal do Ceará].

[NCI] National Cancer Institute. **Common terminology criteria for adverse events version 4.0**. Available from: <URL:<http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/About.html>> [2011 dez 12].

Newman LA, Lee CT, Parekh LP, et al. Use of the National Cancer Data Base to develop clinical trials accrual targets that are appropriate for minority ethnicity patients: a report from the American College of Surgeons Oncology Group (ACOSOG) Special Population Committee. **Cancer** 2006; 106:188-95.

Nordlinger B, Sorbye H, Glimelius B, et al. Perioperative chemotherapy with FOLFOX4 and surgery versus surgery alone for resectable liver metastases from colorectal cancer (EORTC Intergroup trial 40983): a randomised controlled trial. **Lancet** 2008; 371:1007-16.

Odegaard AO, Koh WP, Yu MC, Yuan JM. Body mass index and risk of colorectal cancer in Chinese Singaporeans: the Singapore Chinese Health Study. **Cancer** 2011; 117:3841-9.

Parrilli G, Iaffaioli RV, Capuano G, Budillon G, Bianco AR. Changes in intestinal permeability to lactulose induced by cytotoxic chemotherapy. **Cancer Treat Rep** 1982; 66:1435-6.

Parrilli G, Iaffaioli RV, Martorano M, et al. Effects of anthracycline therapy on intestinal absorption in patients with advanced breast cancer. **Cancer Res** 1989; 49:3689-91.

Pearson AD, Craft AW, Pledger JV, Eastham EJ, Laker MF, Pearson GL. Small bowel function in acute lymphoblastic leukaemia. **Arch Dis Child** 1984; 59:460-5.

Peeters M, Price TJ, Cervantes A, et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol** 2010; 28:4706-13.

Peterson DE, Bensadoun RJ, Roila F, ESMO Guidelines Working Group. Management of oral and gastrointestinal mucositis: ESMO clinical recommendations. **Ann Oncol** 2008; 19(Suppl 2):ii122-5.

Pham NM, Mizoue T, Tanaka K, et al. physical activity and colorectal cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. **Jpn J Clin Oncol** 2012; 42:2-13.

Pledger JV, Pearson AD, Craft AW, Laker MF, Eastham EJ. Intestinal permeability during chemotherapy for childhood tumours. **Eur J Pediatr** 1988; 147:123-7.

Printz C. Folate may help lower risk of colorectal cancer. **Cancer** 2011; 117:5249.

Quasar Collaborative Group, Gray R, Barnwell J, et al. Adjuvant chemotherapy versus observation in patients with colorectal cancer: a randomised study. **Lancet** 2007; 370:2020-9.

Raman M, Milestone AN, Walters JR, Hart AL, Ghosh S. Vitamin D and gastrointestinal diseases: inflammatory bowel disease and colorectal cancer. **Therap Adv Gastroenterol** 2011; 4:49-62.

Raymond E, Faivre S, Woynarowski JM, Chaney SG. Oxaliplatin: mechanism of action and antineoplastic activity. **Semin Oncol** 1998; 25(Suppl 5):4-12.

Renahan AG, O'Connell J, O'Halloran D, et al. Acromegaly and colorectal cancer: a comprehensive review of epidemiology, biological mechanisms, and clinical implications. **Horm Metab Res** 2003; 35:712-25.

Richardson G, Dobish R. Chemotherapy induced diarrhea. **J Oncol Pharm Pract** 2007; 13:181-98.

Rocha-Filho DR. **Estudo prospectivo da incidência, das características clínico-patológicas e da hiperalgesia na síndrome mão-pé induzida por capecitabina.** São Paulo; 2010. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antonio Prudente].

Rosen LS, Abdi E, Davis ID, et al. Palifermin reduces the incidence of oral mucositis in patients with metastatic colorectal cancer treated with fluorouracil-based chemotherapy. **J Clin Oncol** 2006; 24:5194-200.

Rothenberg ML, Meropol NJ, Poplin EA, Van CE, Wadler S. Mortality associated with irinotecan plus bolus fluorouracil/leucovorin: summary findings of an independent panel. **J Clin Oncol** 2001; 19:3801-7.

Rothenberg ML, Oza AM, Bigelow RH, et al. Superiority of oxaliplatin and fluorouracil-leucovorin compared with either therapy alone in patients with progressive colorectal cancer after irinotecan and fluorouracil-leucovorin: interim results of a phase III trial. **J Clin Oncol** 2003; 21:2059-69.

Rougier P, Van Cutsem E, Bajetta E, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. **Lancet** 1998; 352:1407-12.

[RTOG] Radiation Therapy Oncology Group. **Acute radiation morbidity scoring criteria.** Available from:

<URL:<http://www.rtog.org/ResearchAssociates/AdverseEventReporting/AcuteRadiationMorbidityScoringCriteria.aspx>> [2011 dez 12].

Saliba F, Hagipantelli R, Misset JL, et al. Pathophysiology and therapy of irinotecan-induced delayed-onset diarrhea in patients with advanced colorectal cancer: a prospective assessment. **J Clin Oncol** 1998; 16:2745-51.

Saltz LB, Cox JV, Blanke C, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. **N Engl J Med** 2000; 343:905-14.

Saltz, L, Clarke S, Diaz-Rubio E, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: A randomized phase III study. **J Clin Oncol** 2008; 26:2013-9.

Sargent DJ, Niedzwiecki D, O'Connell MJ, Schilsky RL. Recommendation for caution with irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for colorectal cancer. **N Engl J Med** 2001; 345:144-5.

Sauer R, Becker H, Hohenberger W, et al. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. **N Engl J Med** 2004; 351:1731-40.

Schmitt A, Jahnke K, Thiel E, Keilholz U. Neomycin as secondary prophylaxis for irinotecan-induced diarrhea. **Ann Oncol** 2004; 15:1296.

Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. **Immunity** 2005; 23:479-90.

Schulz C, Boeck S, Heinemann V, Stemmler HJ. UGT1A1 genotyping: a predictor of irinotecan-associated side effects and drug efficacy? **Anticancer Drugs** 2009; 20:867-79.

Selby PJ, Lopes N, Mundy J, Crofts M, Millar JL, McElwain TJ. Cyclophosphamide priming reduces intestinal damage in man following high dose melphalan chemotherapy. **Br J Cancer** 1987; 55:531-3.

Seymour MT, Maughan TS, Ledermann JA, et al. Different strategies of sequential and combination chemotherapy for patients with poor prognosis advanced colorectal cancer (MRC FOCUS): a randomised controlled trial. **Lancet** 2007; 370:143-52.

Shulman K, Cohen I, Barnett-Griness O, et al. Clinical implications of UGT1A1*28 genotype testing in colorectal cancer patients. **Cancer** 2011; 117:3156-62.

Siber GR, Mayer RJ, Levin MJ. Increased gastrointestinal absorption of large molecules in patients after 5-fluorouracil therapy for metastatic colon carcinoma. **Cancer Res** 1980; 40:3430-6.

Simon MS, Rosenberg CA, Rodabough RJ, et al. Prospective analysis of association between use of statins or other lipid-lowering agents and colorectal cancer risk. **Ann Epidemiol** 2012; 22:17-27.

Slatter JG, Schaaf LJ, Sams JP, et al. Pharmacokinetics, metabolism, and excretion of irinotecan (CPT-11) following I.V. infusion of [(14)C]CPT-11 in cancer patients. **Drug Metab Dispos** 2000; 28:423-33.

Soares PM, Lima-Junior RC, Mota JM, et al. Role of platelet-activating factor in the pathogenesis of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. **Cancer Chemother Pharmacol** 2011; 68:713-20.

Sobrero A, Guglielmi A, Grossi F, Puglisi F, Aschele C. Mechanism of action of fluoropyrimidines: relevance to the new developments in colorectal cancer chemotherapy. **Semin Oncol** 2000; 27(Suppl 10):72-7.

Sobrero AF, Maurel J, Fehrenbacher L, et al. EPIC: phase III trial of cetuximab plus irinotecan after fluoropyrimidine and oxaliplatin failure in patients with metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol** 2008; 26:2311-9.

Sonis ST, Elting LS, Keefe D, et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. **Cancer** 2004; 100:1995-2025.

Sonis ST. New thoughts on the initiation of mucositis. **Oral Dis** 2010; 16:597-600.

Spence RR, Heesch KC, Brown WJ. A systematic review of the association between physical activity and colorectal cancer risk. **Scand J Med Sci Sports** 2009; 19:764-81.

Srikrishna G, Freeze HH. Endogenous damage-associated molecular pattern molecules at the crossroads of inflammation and cancer. **Neoplasia** 2009; 11:615-28.

Stringer AM, Gibson RJ, Bowen JM, Logan RM, Yeoh AS, Keefe DM. Chemotherapy-induced mucositis: the role of gastrointestinal microflora and mucins in the luminal environment. **J Support Oncol** 2007; 5:259-67.

Sundstrom GM, Wahlin A, Nordin-Andersson I, Suhr OB. Intestinal permeability in patients with acute myeloid leukemia. **Eur J Haematol** 1998; 61:250-4.

Takasuna K, Hagiwara T, Hirohashi M, et al. Involvement of beta-glucuronidase in intestinal microflora in the intestinal toxicity of the antitumor camptothecin derivative irinotecan hydrochloride (CPT-11) in rats. **Cancer Res** 1996; 56:3752-7.

Tepper RE, Simon D, Brandt LJ, Nutovits R, Lee MJ. Intestinal permeability in patients infected with the human immunodeficiency virus. **Am J Gastroenterol** 1994; 89:878-82.

Tooley KL, Howarth GS, Butler RN. Mucositis and non-invasive markers of small intestinal function. **Cancer Biol Ther** 2009; 8:753-8.

Toriola AT, Kurl S, Laukanen JA, Mazengo C, Kauhanen J. Alcohol consumption and risk of colorectal cancer: the Findrink study. **Eur J Epidemiol** 2008; 23:395-401.

Tournigand C, Andre T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study. **J Clin Oncol** 2004; 22:229-37.

Tveit K, Guren T, Glimelius B, Randomized phase III study of 5-fluorouracil, folinate, oxaliplatin given continuously or intermittently with or without cetuximab, as first line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC VII study. [periódico online]. **J Clin Oncol** 2011; 29.

van Cutsem E, Twelves C, Cassidy J, et al. Oral capecitabine compared with intravenous fluorouracil plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: results of a large phase III study. **J Clin Oncol** 2001; 19:4097-106.

van Cutsem E, Peeters M, Siena S, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. **J Clin Oncol** 2007; 25:1658-64.

van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. **N Engl J Med** 2009; 360:1408-17.

van Cutsem E, Kohne CH, Lang I, et al. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. **J Clin Oncol** 2011; 29:2011-9.

van Vliet MJ, Tissing WJ, Rings EH, et al. Citrulline as a marker for chemotherapy induced mucosal barrier injury in pediatric patients. **Pediatr Blood Cancer** 2009; 53:1188-94.

Verwaal VJ, van Ruth S, de Bree E, et al. Randomized trial of cytoreduction and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus systemic chemotherapy and palliative surgery in patients with peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer. **J Clin Oncol** 2003; 21:3737-43.

Vogelsang H, Schwarzenhofer M, Oberhuber G. Changes in gastrointestinal permeability in celiac disease. **Dig Dis** 1998; 16:333-6.

Wang D, DuBois RN. The role of COX-2 in intestinal inflammation and colorectal cancer. **Oncogene** 2010; 29:781-8.

Welch S, Spithoff K, Rumble RB, Maroun J, Gastrointestinal Cancer Disease Site Group. Bevacizumab combined with chemotherapy for patients with advanced colorectal cancer: a systematic review. **Ann Oncol** 2010; 21:1152-62.

[WHO] World Health Organization. **WHO handbook for reporting results of cancer treatment**. Geneva: World Health Organization; 1979.

Wu ZQ, Han XD, Wang Y, et al. Interleukin-1 receptor antagonist reduced apoptosis and attenuated intestinal mucositis in a 5-fluorouracil chemotherapy model in mice. **Cancer Chemother Pharmacol** 2011; 68:87-96.

Yeoh AS, Gibson RJ, Yeoh EE, et al. A novel animal model to investigate fractionated radiotherapy-induced alimentary mucositis: the role of apoptosis, p53, nuclear factor-kappaB, COX-1, and COX-2. **Mol Cancer Ther** 2007; 6:2319-27.

Zhang Y, Lee B, Thompson M, et al. Lactulose-mannitol intestinal permeability test in children with diarrhea caused by rotavirus and cryptosporidium. Diarrhea Working Group, Peru. **J Pediatr Gastroenterol Nutr** 2000; 31:16-21.

Apêndice 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

MUCOSITE, ALTERAÇÕES DE PERMEABILIDADE INTESTINAL E POLIMORFISMOS DA ENZIMA UGT1A1 EM PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL METASTÁTICO TRATADOS COM 5 FLUOROURACIL (5-FU) E IRINOTECAN (CPT-11).

Neste momento, você receberá um tratamento com remédios injetáveis através da corrente sanguínea para combater as células do tumor que se originou no intestino. Os remédios indicados pelo seu médico são os mais eficazes, no combate a doença, disponíveis para o atual momento. Entretanto, estas medicações costumam produzir lesões na mucosa oral e intestinal, provocando sinais e sintomas como aftas, úlceras, alteração do gosto dos alimentos, dor ao engolir e diarreia, além de diminuir o número de glóbulos brancos, células responsáveis pela defesa do seu organismo, muitas vezes prejudicando o andamento do tratamento e a sua eficácia.

O Hospital do Câncer do Instituto do Câncer do Ceará e o Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC promovem uma pesquisa que pretende estudar os efeitos indesejáveis destes medicamentos. Você é nosso convidado a participar de um estudo sobre a mucosite intestinal provocada pela quimioterapia baseada em 5-fluoruracil e Irinotecan. Os dados obtidos pelo estudo servirão para que se possa diminuir futuramente estes efeitos indesejáveis.

Para tanto, você deverá realizar os exames de sangue nos dias indicados pela equipe médica que o atende, bem como ingerir uma solução com dois açúcares no período indicado pela equipe. Os testes com a solução contendo açúcares serão feitos em três oportunidades no primeiro ciclo de quimioterapia (uma antes de começar, uma no 15º e a outra no 29º dia do ciclo do tratamento). Este ciclo compreende um período de seis semanas.

Durante este período, você terá visitas semanais ao seu médico, quando ele fará o acompanhamento clínico dos efeitos colaterais produzidos pela quimioterapia. Você irá receber um diário de sintomas para preencher em casa, com a ajuda dos seus familiares com perguntas simples sobre os possíveis efeitos colaterais e

medicações que vier a usar. Este diário será devolvido à equipe médica e substituído por outro em todas as semanas do primeiro ciclo de tratamento. É extremamente importante que você seja **cuidadoso** e **atento** no preenchimento do diário.

Nos dias de teste, você deverá comparecer em jejum ao ICC, quando receberá a solução com os açúcares, será colhida a urina das 5 horas seguintes, quando você poderá retornar à sua residência.

Um exame de endoscopia digestiva alta poderá ser programado durante o primeiro ciclo de quimioterapia com data programada pelo seu médico. Este exame pretende observar com maior precisão se existe alguma alteração nos seus órgãos internos, bem como obter amostras de tecido (biópsias) do intestino delgado para estudo mais preciso de alterações microscópicas.

É importante que você saiba que a Endoscopia não é realizada de rotina nesta situação, sendo um procedimento estabelecido pela pesquisa com o propósito de melhor estudar as lesões do intestino. Como trata-se de procedimento invasivo com biópsia, você fará exames de sangue até 24 horas da realização da endoscopia. Trata-se de um exame realizado habitualmente no nosso hospital e os riscos associados ao procedimento serão minimizados com base em critérios rigorosos de segurança.

Neste mesmo estudo você autoriza a análise genética da expressão da enzima de metabolismo do irinotecano (UDPGT 1A1). Nesta análise pretendemos identificar o DNA de pessoas mais sensíveis aos efeitos colaterais do tratamento. Você deve saber que estes dados da análise genética serão mantidos em total sigilo e armazenados, estando à sua disposição para a consulta dos resultados. Em hipótese alguma este material poderá sofrer qualquer outra análise genética sem o seu conhecimento e prévia autorização.. Caso você não autorize, nenhum outro estudo genético poderá ser realizado neste material. Durante a pesquisa, você poderá ordenar a retirada do material de análise genética a qualquer momento do estudo se for da sua vontade.

Sua identidade será mantida em sigilo, sendo a divulgação dos resultados dos exames totalmente proibida a terceiros, ficando restrita à discussão em ambiente acadêmico com propósito científico, sem qualquer possibilidade de identificação dos pacientes por outros componentes da equipe de saúde, exceto pelos responsáveis diretos por seu tratamento.

A sua participação deverá ser voluntária e consciente. Você não receberá qualquer pagamento por sua participação neste estudo. Entretanto, será reembolsado pelos custos razoáveis de alimentação e transporte.

Em qualquer momento, você terá o direito de desistir da pesquisa sem necessidade de dar explicações. A eventual desistência não acarretará prejuízo ou discriminação quanto à manutenção do seu tratamento

EU CONCORDO LIVREMENTE EM PARTICIPAR DESTE ESTUDO

_____ (SUJEITO DA PESQUISA - LETRA DE FORMA)	_____ DATA	_____ ASSINATURA
--	---------------	---------------------

_____ INVESTIGADOR	_____ DATA	_____ ASSINATURA
-----------------------	---------------	---------------------

_____ NOME DA TESTEMUNHA	_____ DATA	_____ ASSINATURA
-----------------------------	---------------	---------------------

Apêndice 2 – Diário De Sintomas

Diário dos sintomas:

Dia ____ Semana ____ Ciclo ____
Data ____/____/____ Paciente _____

Você hoje teve diarreia ?

☐ Sim ☐ Não

Se sim, quantos episódios?

- ☐ menos de 4 vezes, sem diarreia à noite
- ☐ de 4 a 6 vezes, pelo menos uma à noite
- ☐ sete vezes ou mais, perda de fezes (sujando a roupa) sem perceber

Quantos comprimidos de loperamida (Imosec) você consumiu?

- ☐ 2
- ☐ 3/4
- ☐ 5/6
- ☐ mais de 6

Você teve feridas na boca ?

☐ Sim ☐ Não

Se sim, isso atrapalhou a alimentação?

☐ Sim ☐ Não

Você sentiu enjojo (gastura, ânsia ou vontade de vomitar ou aversão à comida) ou dificuldade para se alimentar?

- ☐ Não
- ☐ Sim, mas não prejudicou minha alimentação.
- ☐ Sim, e prejudicou minha alimentação.
- ☐ Sim, e impossibilitou minha alimentação.

Você vomitou?

☐ Sim ☐ Não

Quantas vezes?

- ☐ 1
- ☐ 2/3
- ☐ 4/5
- ☐ Mais de 5

Anexo 1 – Estadiamento do Câncer Colorretal

- Tumor Primário (T)

Tx – não avaliável

T0 – não há evidência de tumor primário

Tis – carcinoma *in situ*: intra-epitelial ou invasão da lamina propria

T1 – Tumor invade a submucosa

T2 – Tumor invade a camada muscular propria

T3 – Tumor atravessa a muscular própria e invade até o tecido pericólico

T4a – Tumor penetra a superfície visceral do peritônio

T4b – Tumor invade diretamente ou está aderido aos órgãos vizinhos

- Linfonodos regionais (N)

Nx – não avaliável

N0 – ausência de linfonodos regionais comprometidos

N1 – comprometimento de 1-3 linfonodos

N1a – comprometimento de 1 linfonodo

N1b – comprometimento de 2-3 linfonodos

N1c – depósitos tumorais na subserosa, mesentério ou tecidos perirretais ou pericólicos não peritonizados, sem metástases regionais linfonodais

N2 – comprometimento de 4 ou mais linfonodos regionais

N2a – comprometimento de 4 -6 linfonodos

N2b – comprometimento de 7 ou mais linfonodos

- Metástase à distância (M)

M0 – sem metástases à distância

M1 – presença de metástases à distância

M1a – metástase presente em um único sítio (ex: fígado, pulmão, ovário)

M1b – metástases em múltiplos órgãos ou sítios ou peritônio

Estadiamento agrupado do Câncer Colorretal.

Estágio	T	N	M	Dukes ^a	MAC ^μ
0	Tis	N0	M0	-	-
I	T1	N0	M0	A	A
	T2	N0	M0	A	B1
IIA	T3	N0	M0	B	B2
IIB	T4a	N0	M0	B	B2
IIC	T4b	N0	M0	B	B3
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0	C	C1
	T1	N2a	M0	C	C1
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0	C	C2
	T2-T3	N2a	M0	C	C1/C2
	T1-T2	N2b	M0	C	C1
IIIC	T4a	N2a	M0	C	C2
	T3-T4a	N2b	M0	C	C2
	T4b	N1-N2	M0	C	C3
IVA	qq T	qqN	M1a	-	-
IVB	qqT	qqN	M1b	-	-

NOTA: ^a=classificação de Dukes ^μ= classificação de Dukes modificada por Astler-Coller

Fonte: EDGE et al. (2010)

Anexo 2 - Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST).

Progressão de Doença (PD)	aumento > 20 % na carga tumoral ou surgimento de nova lesão
Doença estável (DE)	Modificação na carga tumoral de modo a não representar aumento de 20% ou redução de 30%. Ausência de novas lesões
Resposta Parcial (RP)	Redução superior a 30% na carga tumoral. Ausência de novas lesões
Resposta Completa (RC)	Desaparecimento das lesões avaliáveis.

Somatório dos maiores diâmetros das lesões mensuráveis (máximo 5 total, sendo 2 por órgão) = carga tumoral

Fonte: EISENHAUER et al. (2009)