

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

Karine Andrade Oliveira Zanini

**FATORES PREDITIVOS DE RESPOSTA A AZATIOPRINA
EM PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN SUBOCLUSIVA**

Juiz de Fora

2016

KARINE ANDRADE OLIVEIRA ZANINI

**FATORES PREDITIVOS DE RESPOSTA A AZATIOPRINA
EM PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN SUBOCLUSIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli

Juiz de Fora

2016

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Zanini, Karine Andrade Oliveira.

Fatores preditivos de resposta a azatioprina em pacientes com doença de Crohn suboclusiva / Karine Andrade Oliveira Zanini. -- 2016.

51 f.

Orientador: Julio Maria Fonseca Chebli

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2016.

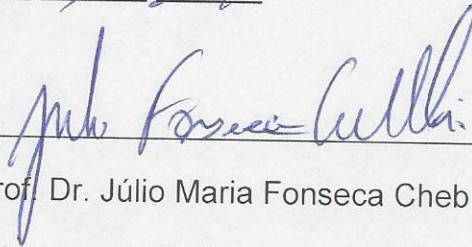
1. Doença de Crohn. 2. Obstrução intestinal. 3. Azatioprina. 4. Marcadores inflamatórios. 5. Proteína C reativa. I. Chebli, Julio Maria Fonseca, orient. II. Título.

KARINE ANDRADE OLIVEIRA ZANINI

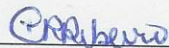
**FATORES PREDITIVOS DE RESPOSTA A AZATIOPRINA EM
PACIENTES COM DOENÇA DE CROHN SUBOCLUSIVA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Saúde.

APROVADA EM: 04/03/2016



Prof. Dr. Júlio Maria Fonseca Chebli
Universidade Federal de Juiz de Fora



Profa. Dra. Tarsila Campanha da Rocha Ribeiro
Universidade Federal de Juiz de Fora



Profa. Dra. Katia Valeria Bastos Dias Barbosa
Faculdade de Medicina - Suprema

Juiz de Fora

2016

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família.

Alexandre, meu marido e companheiro de vida pelo apoio e incentivo para alterar minha trajetória de vida e me dedicar à vida acadêmica.

Aos meus pais, Maly e Joaquim, entusiastas da boa educação, esteio da minha vida e maior exemplo de amor e dedicação a que uma filha pode experimentar.

Ao meu irmão, Leonardo, meu grande e incondicional amigo.

E por fim, às minhas meninas, Elisa e Carolina, amor e alegria maiores em minha vida. Tudo é para vocês e por vocês!

AGRADECIMENTOS

Ao meu professor e orientador Julio Chebli que me escolheu e acolheu como orientanda. Anteviu meu pendor acadêmico, incentivou, motivou e despendeu toda atenção, meus sinceros agradecimentos.

Alexandre Zanini, marido, professor, estatístico, colaborador e maior incentivador. Nossa convivência e seu entusiasmo despertaram em mim o encantamento pelo universo acadêmico.

Ao amigo, eterno mestre e grande exemplo de vida, Fernando Vidigal. Continuarei seguindo seus passos.

A todos os amigos e colegas que sempre me incentivaram e, desta forma, não me deixaram desistir.

Aos pacientes que voluntariamente participaram deste trabalho, minha gratidão.

RESUMO

Introdução: Apesar dos avanços recentes no tratamento de pacientes com doença de Crohn (DC), os sintomas oclusivos e suboclusivos observados na presença de estenoses clinicamente significativas permanecem um problema clínico desafiador. Na DC, a identificação de fatores que se associam à redução do risco de cirurgia é importante.

Materiais e Métodos: Neste estudo retrospectivo, avaliamos os possíveis fatores preditivos, incluindo os marcadores inflamatórios associados à redução da necessidade de intervenção cirúrgica em pacientes com DC que apresentaram o primeiro episódio de suboclusão intestinal clinicamente resolvido e tratados, subsequentemente, com azatioprina (AZA) durante três anos.

Resultados: Trinta e seis pacientes com DC suboclusiva foram incluídos, dos quais, 24 não necessitaram de ressecção intestinal. Nenhum dado demográfico ou clínico associou-se com a resposta à AZA. Apenas a proteína C reativa (PCR) apresentou correlação com a eficácia da AZA. Para cada aumento de 1 mg na PCR, houve uma redução do risco de cirurgia em 8% (RR 0,92; IC 0,86-0,98; p=0,008). O grupo PCR>6 (elevada) apresentou 81% de redução de risco de cirurgia em relação ao grupo PCR<6 (OR 0,19 IC 0,05-0,64; p=0,008).

Conclusões: Os pacientes que apresentaram PCR elevada tiveram uma menor taxa de cirurgia a médio e longo prazos durante a terapia com AZA. A PCR pode identificar pacientes com estenoses predominantemente inflamatórias e responsivas ao tratamento clínico.

Palavras-chave: Doença de Crohn. Obstrução intestinal. Azatioprina. Mesaslazina. Marcadores inflamatórios. Proteína C reativa (PCR).

ABSTRACT

Background: Despite recent advances in the treatment of patients with Crohn's disease (CD), occlusive and subocclusive symptoms observed in the presence of clinically significant stenosis remains a challenging clinical problem. In inflammatory bowel diseases (IBD), the identification of factors associated with reduced risk of surgery in this context is important.

Materials and methods: In this retrospective study, we evaluated the possible predictive factors, including inflammatory markers associated with reduced need for surgical intervention in patients with CD who presented the first episode of clinically solved subocclusion and treated subsequently with azathioprine (AZA) for three years.

Results: Thirty-six patients with subocclusive CD were included, of these, 24 has not required bowel resection. No demographic or clinical data associated with the response to AZA. Only C reactive protein (CRP) was correlated with the effectiveness of AZA. For each increase of 1 mg CRP, there was a reduction of surgery risk in 8% (RR 0.92, CI 0.86-0.98; P = 0.008). The CRP group > 6 (elevated) had 81% of surgery risk reduction compared to PCR group <6 (OR 0.19 CI 0.05-0.64; P = 0.008).

Conclusions: Patients with elevated CRP has a lower rate of surgery in the medium and long term during therapy with AZA. CRP can identify patients with inflammatory stenosis and responsive to clinical treatment.

Keywords: Crohn disease. Intestinal obstruction. Azathioprine. Mesalazine. Laboratory markers. C reactive protein (CRP).

Sumário

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO.....	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUÇÃO	9
1.1 Considerações gerais.....	9
1.2 Considerações terapêuticas	10
1.3 Doença de Crohn fibroestenossante.....	11
1.4 Marcadores inflamatórios na Doença de Crohn	13
2 OBJETIVOS	17
3 HIPÓTESE	18
4 MATERIAL E MÉTODO	19
4.1 População de pacientes	19
4.2 Esquemas de tratamento	20
4.3 Desenho do estudo e acompanhamento clínico-laboratorial.....	22
4.4 Análise dos dados	23
4.5 Análise estatística	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6 CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXO – Comprovante de submissão do artigo	31
APÊNDICE – Artigo.....	32

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações gerais

As doenças inflamatórias intestinais (DII) constituem afecções multissistêmicas e multifatoriais, de etiologia desconhecida com provável implicação de fatores genéticos e imunológicos. Além disto, vários fatores de risco ambientais contribuem para a sua patogênese, entre eles a dieta, o tabagismo, o sarampo e as apendicectomias (LAKATOS *et al.*, 2010; PLEVY *et al.*, 2013). Apresentam períodos de recorrências e remissões durante todo seu curso clínico (ABRAHAM PB, THIRUMURTHI S; 2009; KISS *et al.*, 2012). Enquanto a retocolite ulcerativa (RCU) caracteriza-se por inflamação restrita à mucosa colônica, na doença de Crohn (DC) observa-se inflamação crônica de caráter transmural, com lesões descontínuas, podendo afetar qualquer parte do trato gastrointestinal (MINDERHOULD *et al.*, 2007). Em muitos pacientes, estas afecções acarretam substancial custo pessoal, decorrente dos sintomas flutuantes imprevisíveis, do absenteísmo ao trabalho, da necessidade, muitas vezes, do uso de drogas de custo elevado, de cirurgias ou de cuidados multidisciplinares. Além disso, estas condições acarretam significativo impacto nos recursos públicos de cuidados de saúde (FRIEDMAN, 2004). Em vista do frequente início da doença em jovens, da morbidade, e dos possíveis efeitos adversos do tratamento medicamentoso, a DII repercute negativamente na qualidade de vida destes pacientes (GABURRI *et al.*, 1998).

Além de afetar o trato gastrointestinal a DC pode levar a potenciais complicações extra-intestinais envolvendo vários órgãos sistêmicos (STJERNMAN *et al.*, 2009). Ainda hoje, 70% dos pacientes com DC necessitarão de cirurgia durante a evolução da doença, apesar da terapia otimizada (NAKARAI *et al.*, 2014). Além disto, cerca de metade destes pacientes irão evoluir para um novo procedimento cirúrgico devido à recorrência da doença (VAN OVERSTRAETEN *et al.*, 2012).

1.2 Considerações terapêuticas

Até recentemente, não apenas o tratamento da DC, mas também os estudos clínicos tinham como único objetivo a melhora clínica dos pacientes, baseando-se no índice de atividade clínica da DC (IADC). Entretanto, a despeito da melhora clínica dos doentes, não havia mudança na história natural da doença. Atualmente, vários estudos têm demonstrado a importância de alcançarmos a cicatrização da mucosa com o tratamento clínico, quer seja com medicamentos biológicos ou mesmo com a terapêutica tradicional (NAKARAI *et al.*, 2014). Como consequência deste efeito, alguns estudos relataram redução das hospitalizações, número de cirurgias, absenteísmo ao trabalho e melhora na qualidade de vida dos pacientes (SOUZA *et al.*, 2013). Desde então, a cicatrização da mucosa passou a ser um dos principais objetivos a ser alcançado com o tratamento, sendo considerado um preditor de remissão clínica sustentada, com menor risco de novas ressecções intestinais (REENAERS; BELAICHE; LOUIS, 2012).

Atualmente, existe uma grande variedade de medicamentos a serem empregados nas DII. Na DC a terapêutica consiste de corticosteróides, antibióticos, aminossalicilatos, imunomoduladores e as terapias biológicas (por exemplo, os bloqueadores do fator de necrose tumoral alfa) (KWAK *et al.*, 2014; PEYRIN-BIROULET *et al.*, 2011). Para a maioria destas drogas, ainda não está completamente definido em que momento devem ser introduzidas. Em particular, não está claro se o tratamento mais agressivo após o diagnóstico inicial irá retardar o curso natural da doença (VERMEIRE *et al.*, 2006).

O uso dos corticóides é restrito a pacientes com doença ativa e não há evidências de que eles possam manter o paciente em remissão (BERNSTEIN *et al.*, 2012; KRUIS *et al.*, 2013). O tempo de uso deve compreender um curto período devido aos seus efeitos colaterais.

Os aminossalicilatos (5-ASA) são indicados para o tratamento das DII, com principal indicação para o tratamento da RCU, nas formas leve e moderada (SOUZA *et al.*, 2013).

A principal indicação dos imunomoduladores (azatioprina - AZA, 6-mercaptopurina e metotrexate) é nos pacientes com doença refratária e nos corticodependentes

(KENNEDY *et al.*, 2014). Os imunomoduladores têm se mostrado superiores na indução e, particularmente, na manutenção da remissão da DC (CANDY *et al.*, 1995; PAPAY *et al.*, 2009; PARK *et al.*, 2012).

Entre os antibióticos, o metronidazol e/ou ciprofloxacina (VERMEIRE *et al.*, 2006) têm demonstrado efeito favorável na DC perianal.

Nos anos 1990, foi introduzida a terapia biológica, projetada para bloquear ou neutralizar citocinas pró-inflamatórias. O fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa) é a principal citocina envolvida na patogênese da DC, com concentrações aumentadas no soro, tecidos e fezes dos pacientes acometidos (VERMEIRE *et al.*, 2006). Dentre os medicamentos utilizados na terapia biológica, encontramos o infliximabe, o adalimumabe e o certolizumabe pegol. Estes medicamentos têm como principais indicações a DII corticodependente ou a doença refratária, a DC fistulizante, o pioderma gangrenoso e a espondilite anquilosante e a DC metastática. Embora nenhum estudo comparativo tenha avaliado a eficácia entre os três inibidores do TNF, eles mostram eficácia similar, particularmente na manutenção da remissão (BEHM, BICKSTON, 2008; BERNSTEIN *et al.*, 2012; CLARK *et al.*, 2007).

1.3 Doença de Crohn fibroestenotante

O comportamento e a história natural da DC são muito heterogêneos. Comumente, a apresentação inicial da DC é puramente inflamatória, sem complicações obstrutivas ou perforativas; entretanto, mais de 70 % dos pacientes irão progredir para uma forma mais complicada da doença após os 10 primeiros anos do diagnóstico da mesma (PAPAY *et al.*, 2009; SAUTER *et al.*, 2014). Mais de um terço destes pacientes desenvolverão o fenótipo fibroestenotante da doença com estenose progressiva do lúmen e potencial obstrução intestinal (GOLOVICS *et al.*, 2014; RIEDER *et al.*, 2010). Semelhante às outras complicações da DC, a prevalência de estenose, aumenta com a duração da doença. A maioria das estenoses ocorre no delgado, principalmente no íleo terminal. O processo primário envolve inflamação que resulta em lesão tecidual e é seguido por um processo de reparo que leva à fibrose tecidual (LAHAT *et al.*, 2007).

Devido à sintomatologia similar, a diferenciação entre obstrução associada à DC daquela resultante de outras causas, como por exemplo, o adenocarcinoma é difícil e a malignidade pode ser encontrada inesperadamente durante a cirurgia. O risco de desenvolvimento de adenocarcinoma de delgado aumenta após 10 anos da doença e o diagnóstico raramente é feito no pré-operatório (PALASCAK *et al.*, 2005).

O diagnóstico de obstrução intestinal secundária à DC é sugerido pela apresentação clínica e não difere dos casos de obstrução por outras etiologias. Em 10,8% dos casos, constitui a primeira manifestação da doença (LOUIS *et al.*, 2001).

A determinação do mecanismo responsável pela obstrução (inflamação ou fibrose) é de importância fundamental para o planejamento do tratamento. Portanto, quando a causa da estenose se deve a componente inflamatório, o tratamento clínico pode oferecer bons resultados, enquanto que, na estenose fibrótica, medidas mecânicas são necessárias. Além dos sinais e sintomas, marcadores inflamatórios como a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a proteína C reativa (PCR), métodos endoscópicos e de imagem podem oferecer alguma orientação a respeito do componente inflamatório de uma estenose, mas uma indicação clara nem sempre é possível (LAHAT *et al.*, 2007).

A história natural da DC ileocecal, após o primeiro episódio de suboclusão intestinal resolvida sem cirurgia, ainda não foi bem estabelecida, mas, evidências crescentes sugerem uma progressão em direção à oclusão intestinal irreversível, necessitando finalmente de ressecção cirúrgica (PAPAY *et al.*, 2009). Embora o tratamento cirúrgico seja necessário na maioria desses pacientes, as estenoses sintomáticas tendem a recidivar após a remissão induzida cirurgicamente, o que leva a ressecções repetidas e, eventualmente à síndrome do intestino curto e falência intestinal tardia (BLUN; KATZ, 2009).

Com base nestes conceitos, o tratamento clínico que potencialmente controle a inflamação intestinal e talvez retarde ou previna a evolução para obstrução intestinal fibrótica seria uma abordagem lógica (VIDIGAL *et al.*, 2014). A prevenção da obstrução intestinal recorrente é um desafio, assim como sua predição através de marcadores inflamatórios (BARNES *et al.*, 2004).

1.4 Marcadores inflamatórios na Doença de Crohn

A DC é uma desordem do sistema gastrointestinal que cursa com remissões e recorrências. A diferenciação da DC de outros distúrbios gastrointestinais, incluindo infecções e doenças funcionais, pode ser difícil, principalmente, quando apresentam sintomas inespecíficos como diarreia e dor abdominal. Muitas vezes, é necessária investigação mais aprofundada, incluindo procedimentos invasivos (ABRAHAM BP, THIRUMURTHI S, 2009). Além disto, durante o curso da doença, muitos pacientes com DC podem, eventualmente, desenvolver complicações como estenoses ou perfurações. Também, um significativo número de pacientes necessitará de cirurgia no decorrer da doença. Nos últimos anos, as pesquisas têm focado na determinação dos importantes fatores de predição do curso da doença, para melhorar a estratificação dos pacientes e identificar os perfis individuais dos mesmos, incluindo marcadores clínicos, laboratoriais e moleculares, com o objetivo de auxiliar no planejamento apropriado em termos da terapia e intensidade do seguimento (MENDOZA; ABREU, 2009). Desta forma, nos últimos anos, tem se dado muita ênfase à determinação dos fatores preditivos para as complicações no curso da DC (LAKATOS; KISS, 2010).

Os sintomas recorrentes podem requerer endoscopias e internações repetidas. Um teste laboratorial simples que possa aumentar ou substituir parte deste processo seria de grande importância clínica (MOSLI *et al.*, 2015). O marcador ideal deveria ser de realização simples e rápida, com bom custo-benefício, minimamente ou não invasivo, com boa acurácia e reprodutível entre pacientes e laboratórios. Além do mais, este marcador deveria identificar o risco individual para a doença, fazer o diagnóstico específico da inflamação, e monitorar sua atividade, avaliando a resposta ao tratamento e predizendo suas recorrências (ABRAHAM; THIRUMURTHI, 2009).

Durante a resposta aguda a uma infecção, inflamação, necrose, neoplasia, trauma, estresse importante e no parto, o organismo humano reage, por autorregulação, com a produção de várias proteínas de fase aguda (MURDOCH *et al.*, 2015). Com a resolução do processo agudo, as concentrações destas proteínas tendem a voltar a seus valores normais, porém não na mesma velocidade. A presença de inflamação intestinal aguda como a que ocorre na DII é associada a uma reação de fase aguda

e migração de leucócitos, com a produção de várias proteínas, que são detectadas no plasma ou nas fezes (VERMEIRE *et al.*, 2007).

A PCR é uma das mais importantes proteínas de fase aguda em humanos (HENDERSON *et al.*, 2015). Em circunstâncias normais a PCR é produzida pelos hepatócitos em pequenas quantidades (<1 mg/l). Entretanto, após um estímulo de fase aguda, como uma inflamação, os hepatócitos aumentam rapidamente a produção de PCR sob influência da interleucina (IL)-6, fator de necrose tumoral α (TNF- α) e IL-1 β , podendo atingir picos de 350-400 mg/l. Geralmente, os níveis de PCR de 10-40 mg/l são encontrados em casos de inflamação moderada ou infecções virais. Inflamações ativas intensas ou infecções bacterianas, tipicamente, geram níveis de PCR de 50-200 mg/l, e altos níveis > 200-250 mg/l somente são encontrados em condições mais graves e grandes queimaduras. A PCR tem meia vida curta (19 horas) quando comparada a outras proteínas de fase aguda, tendo um aumento precoce após o início da inflamação com rápida diminuição após a resolução da mesma. A função da PCR *in vivo* ainda não está completamente esclarecida; apesar de sua resposta estar presente na maioria das doenças inflamatórias, incluindo a DII, existe uma reconhecida heterogeneidade de resposta entre a DC e a RCU. Enquanto na DC a PCR é associada a uma resposta inflamatória forte, na RCU ocorre uma resposta modesta ou até ausente; sendo este um importante fato quando a utilizamos na prática clínica. Pacientes com DC que tem PCR baixo com IADC elevado tendem a apresentar doença ileal isolada (VERMEIRE *et al.*, 2007). Não existe uma boa explicação para esta heterogeneidade, o polimorfismo genético pode ser responsável pela variação de resposta da PCR em pacientes com DC e pode dar pistas quanto ao fenótipo da doença (ABRAHAM; THIRUMURTHI, 2009). Outra explicação pode estar no fato de que na RCU a inflamação está confinada à mucosa, enquanto que na DC é transmural (VERMEIRE *et al.*, 2007).

A velocidade de migração dos eritrócitos através do plasma consiste no VHS. Inevitavelmente, o VHS dependerá da concentração, número e tamanho dos eritrócitos no plasma. Portanto, condições como anemia, policitemia e talassemia afetam o VHS. Comparado ao PCR, o VHS aumenta de maneira bem mais lenta e leva vários dias para diminuir após um episódio de inflamação (VERMEIRE *et al.*, 2007).

Outros marcadores inflamatórios geralmente utilizados são a contagem de leucócitos, plaquetas e albumina. Os leucócitos estão aumentados como parte da reação de fase aguda. Entretanto, a leucocitose não é um achado específico da DII, podendo ser encontrada em muitas outras condições inflamatórias e eventos de stress. A contagem de leucócitos também pode ser influenciada por muitos dos tratamentos utilizados na DII, como os corticóides (aumento) ou AZA e 6-mecaptopurina (diminuição). A contagem de plaquetas também está aumentada, indicando uma inflamação, porém não é específica e, portanto, é menos usada com marcador. A albumina é um exemplo típico de reagente negativo de fase aguda e níveis diminuídos podem ser encontrados durante a inflamação. Entretanto, outras condições como a desnutrição e síndromes disabsortivas também podem cursar com níveis diminuídos de albumina (VERMEIRE *et al.*, 2007).

Outros reagentes de fase aguda incluem o ácido siálico, α_1 glicoproteína ácida ou orosomucóide, fibrinogênio, lactoferrina, β_2 microglobulina, amiloide A sérica, α_2 globulina e α_1 antitripsina. A maioria destes marcadores ainda não foi bem avaliada na DII e muitos estudos têm demonstrado resultados conflitantes (BASSO; ZAMBOM; PLEBANI, 2014). Em sua maioria, seu uso na DII não se mostrou superior à PCR, principalmente devido à meia vida longa destas proteínas. A β_2 microglobulina é uma proteína de baixo peso molecular liberada pela ativação de linfócitos T e B. A meia vida estimada é de duas horas. A β_2 microglobulina sofre ação da filtração glomerular e seus níveis aumentam com a idade e também com a diminuição da função renal. Orosomucóide tem demonstrado boa correlação com a atividade inflamatória, mas sua meia vida de cinco dias faz com que tenha menos utilidade na prática clínica (VERMEIRE *et al.*, 2007).

Muitos biomarcadores imunes já foram reconhecidos. Eles são anticorpos que se desenvolvem nos pacientes com DII devido aos defeitos na integridade da mucosa intestinal e na imunidade colônica. Sua ausência em controles sadios pode refletir uma menor tolerância à flora intestinal normal em pacientes com DII. Estes biomarcadores imunológicos prevalecem em pacientes com DC e RCU, podendo diferenciar a DII de outras condições e distinguir entre a DC e a RCU (KEKILLI *et al.*, 2013). Uma alta titulação do anticorpo perinuclear antineutrófilo citoplasmático (p-ANCA) é encontrado predominantemente em portadores de RCU, mas também

pode ocorrer em pacientes com DC (mais comumente na doença colônica e não na ileal). A prevalência de anticorpos anti-*Saccharomyces cerevistae* (ASCA) em pacientes com DC é maior que em portadores de RCU (PLEVY *et al.*, 2013). A reprodutibilidade é um importante fator para estes testes, demonstrando até 90% de concordância entre dois laboratórios para o p-ANCA e o ASCA (ABRAHAM; THIRUMURTHI, 2009).

Uma razão óbvia para se procurar por marcadores fecais é seu fácil acesso em portadores de DII. Além do mais, os marcadores séricos podem estar aumentados por várias outras condições que não a inflamação intestinal e, portanto, os marcadores fecais têm maior especificidade para DII na ausência de infecção gastrointestinal. Algumas proteínas derivadas dos neutrófilos presentes nas fezes têm sido estudadas, incluindo a lactoferrina fecal, lisozima, elastase, lieloperoxidase e a calprotectina. A calprotectina é uma proteína ligada ao cálcio e ao zinco, e é, provavelmente, o mais promissor dos marcadores (WRIGHT *et al.*, 2015). Em contraste com outros marcadores de neutrófilos, a calprotectina representa 60% das proteínas citosólicas nos granulócitos (CACCARO; D'INCA; STURNIOLO, 2010). A presença da calprotectina nas fezes tem proporção direta com a migração dos neutrófilos para o trato gastrointestinal. Por outro lado, apesar da calprotectina ser um sensível marcador inflamatório do trato gastrointestinal, não é um marcador específico e níveis aumentados podem ser encontrados nas neoplasias, DII, infecções e pólipos. Torna-se mais atraente por ser um marcador estável (estável por mais de uma semana em temperatura ambiente) e resistente à degradação. Níveis elevados de calprotectina fecal também são encontrados após uso de antiinflamatórios não esteroides e com o aumento da idade (ABRAHAM; THIRUMURTHI, 2009).

Um importante passo para o tratamento e controle da DII será, portanto, a descoberta de um marcador sérico de grande acurácia para a predição das recorrências. Quando este marcador for descoberto, poderemos instituir precocemente a terapia para prevenir ou atenuar as remissões. Até o momento, no entanto, nenhum dos marcadores séricos e fecais utilizados para o diagnóstico e o tratamento da DC têm todas estas qualidades, mas estamos cada vez mais próximos, sendo que, muitos biomarcadores de interesse já foram identificados.

2 OBJETIVO

O objetivo desta subanálise foi avaliar a utilidade dos marcadores inflamatórios em prever a redução do risco de cirurgia em pacientes com DC do íleo terminal e/ou cólon direito que apresentaram o primeiro episódio de suboclusão intestinal clinicamente resolvido e que foram tratados subsequentemente com AZA.

3 HIPÓTESE

Tem-se como hipótese que, em pacientes com DC suboclusiva que apresentaram o primeiro episódio de obstrução clinicamente resolvido, os marcadores inflamatórios elevados predizem menor taxa de cirurgia a médio e longo prazos durante o tratamento com AZA.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 População de pacientes

Entre dezembro de 2003 e novembro de 2007, pacientes do Centro de doenças inflamatórias intestinais do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU/UFJF), Minas Gerais, Brasil, com DC limitada ao íleo terminal e/ou cólon direito, apresentando o primeiro episódio de suboclusão intestinal com resolução sem necessidade de intervenção cirúrgica dentro das 72 horas de instalação dos sintomas, foram convidados a participar do estudo. O diagnóstico de DC foi estabelecido previamente por uma combinação de achados clínicos típicos, radiológicos, endoscópicos e anatomopatológicos. (FREEMAN, 2009; LAHAT; CHOWERS, 2007)

À admissão, os pacientes foram caracterizados como portadores de suboclusão se apresentassem: 1) sintomas clássicos de instalação recente sugestivos de obstrução mecânica, tais como, dor abdominal tipo cólica, vômitos, distensão abdominal e constipação intestinal. 2) à ausculta, presença de ruídos hidroaéreos hiperativos, metálicos, de alta intensidade. 3) características peculiares de dilatação do intestino delgado e presença de níveis hidroaéreos na radiografia de abdome em ortostatismo e decúbito dorsal. 4) achados sugestivos de obstrução do intestino delgado na tomografia computadorizada de abdome realizada na admissão, que também permitiu excluir a presença de um abscesso abdominal.

Critérios de inclusão foram: idade igual ou maior que 18 anos e igual ou menor que 65 anos, DC restrita à região ileocecal e primeiro episódio de sub-oclusão intestinal resolvida sem necessidade de tratamento cirúrgico. Pacientes também eram aptos a participar se eles vinham recebendo concomitantemente tratamento com aminossalicilatos, com uma dosagem estável por pelo menos quatro semanas, antes do ingresso no estudo.

Critérios de exclusão incluíram: idade abaixo de 18 anos ou acima de 65 anos, oclusão intestinal refratária ao tratamento clínico instituído durante 72 horas,

necessidade de intervenção cirúrgica de urgência para outras complicações relacionadas à DC, estenoses intestinais múltiplas, fístulas internas, infecções sistêmicas em andamento, evidências de um abscesso intra-abdominal, intolerância conhecida ou contraindicações ao uso de AZA ou mesalazina, uso de terapias investigacionais ou esteróides sistêmicos nas quatro semanas anteriores à inscrição no estudo, história de doença dependente de corticóides e uso anterior de terapia com antagonistas do fator de necrose tumoral alfa, talidomida ou qualquer droga imunossupressora. Foram também excluídos os pacientes com história prévia de neoplasia, cirurgia abdominal ou pélvica anterior, infecção grave nos três meses anteriores, uso abusivo de álcool ou drogas ilícitas, ou doenças associadas clinicamente significantes. Pacientes que desejavam engravidar durante o estudo, grávidas ou amamentando também foram impedidas de participar e aquelas com potencial para engravidar necessitaram apresentar teste de gravidez negativo, sendo solicitado que utilizassem um método efetivo de contracepção durante todo o período do estudo.

O protocolo do estudo foi definido de acordo com a declaração de Helsinki, normas de boa prática clínica e requisitos regulatórios aplicáveis. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em humanos do nosso hospital foi obtida, assim como, termo de consentimento livre e esclarecido de todos os pacientes antes de sua inscrição. Um supervisor de dados de segurança, não conhecedor dos dados dos pacientes, revisou todos os eventos adversos graves, com atenção particular a qualquer óbito ocorrido durante a pesquisa. Um processo foi fornecido para notificar os dois principais pesquisadores se quaisquer tendências fossem identificadas.

4.2 Esquemas de tratamento

À admissão hospitalar, todos os pacientes foram tratados clinicamente de uma maneira similar, incluindo: terapia de reanimação ou de suporte com infusão de líquidos e eletrólitos, suspensão da dieta oral, inserção de cateter nasogástrico e administração de hidrocortisona intravenosa na dose de 100 mg (três vezes ao dia) durante um tempo máximo de 72 horas. Pacientes refratários ao tratamento clínico durante este período foram submetidos à intervenção cirúrgica e não foram incluídos no presente estudo, enquanto aqueles que responderam e satisfizeram os critérios

de inclusão e concordaram em participar da pesquisa foram programados para randomização.

Pacientes que responderam ao tratamento clínico foram instruídos a utilizar uma dieta pobre em fibras, modificar a administração de esteróides por via oral numa dose equivalente e receberam alta hospitalar. Portanto, após a remissão do quadro de obstrução intestinal, todos os indivíduos foram tratados com prednisona na dose de 40 mg ao dia durante dez dias. A partir daí, a dose foi gradualmente reduzida em 5 mg por semana até a suspensão total no final de oito semanas.

A droga do estudo (mesalazina ou AZA) fornecida para cada paciente foi determinada por um esquema de randomização preparado pelo grupo de bioestatística de nosso centro usando um programa de computador que incorpora um procedimento padrão para gerar números aleatórios. Um programa de randomização foi preparado em blocos equilibrados para assegurar que igual número de pacientes fosse designado para cada braço de tratamento sobre o total da população do estudo. Os números aleatórios foram deixados em envelopes fechados pela farmácia e usados sequencialmente à medida que os pacientes fossem incluídos. A farmácia dispensou as drogas do estudo seguindo a inscrição dos pacientes.

A AZA foi fornecida em comprimidos de 50 mg e a mesalazina, em comprimidos de 400 mg. A dose de AZA foi calculada de acordo com o peso corporal (isto é, na dose de 2 a 3 mg/ Kg/ dia). Portanto, pacientes cujo peso corporal era menor do que 55 Kg receberam dois comprimidos (100 mg), pacientes pesando entre 56 e 75 Kg receberam 150 mg, enquanto aqueles com peso maior do que 75 Kg receberam 200 mg de AZA. A mesalazina, em uma formulação de liberação pH dependente, foi administrada na dose de 3,2 g ao dia, dividida em três tomadas (isto é, 1,6 g no café da manhã, 0,8 g no almoço e no jantar), enquanto os comprimidos de AZA foram administrados no café da manhã.

Normalmente, os pacientes começaram a tomar sua medicação (mesalazina ou AZA) assim que eles eram capazes de retomar a alimentação oral e continuaram o tratamento por 36 meses ou até a retirada do estudo. O uso concomitante das seguintes drogas não foi permitido durante o estudo: corticosteroides sistêmicos (com exceção durante o tratamento clínico da obstrução intestinal), antibióticos (por

um período maior que 14 dias), anti-inflamatórios não esteroides (com uma duração cumulativa maior que sete dias), antagonista do fator de necrose tumoral alfa, talidomida ou qualquer droga imunossupressora.

4.3 Desenho do estudo e acompanhamento clínico-laboratorial

A presente pesquisa consiste de uma subanálise de um estudo controlado, prospectivo, randomizado e cego para os investigadores e que teve por objetivo avaliar a eficácia da AZA quando comparada com a mesalazina na prevenção ou no retardo da obstrução intestinal recorrente em pacientes com DC do íleo terminal e/ou cólon direito que apresentaram o primeiro episódio de suboclusão (VIDIGAL *et al.*, 2014). Os pacientes e o coordenador do estudo (Júlio Maria Fonseca Chebli) que supervisionou a randomização estavam cientes do tratamento. Os dois principais investigadores (Fernando Mendonça Vidigal, Lílina Andrade Chebli), que desconheciam a alocação do tratamento, avaliaram a eficácia clínica a cada visita de controle programada e ao final do estudo. Os pacientes internados foram inscritos para receber AZA ou mesalazina durante um período de três anos, com seguimento que incluía uma visita inicial de avaliação dois dias antes do início do tratamento. Na inclusão no estudo foram avaliados critérios de elegibilidade, características demográficas e história médica de cada paciente; assim como, medicações de uso corrente foram registradas e amostras de sangue obtidas para avaliação hematológica e bioquímica. Exame radiológico do intestino delgado e colonoscopia foram realizados em todos os pacientes nos 18 meses prévios aos sintomas de suboclusão ou logo após a resolução do episódio agudo, assegurando que a doença estava confinada ao íleo distal e/ou cólon direito.

Os exames laboratoriais foram realizados no próprio HU/UFJF, conforme já é rotina no acompanhamento dos pacientes portadores de DII, não havendo risco para a saúde diferente do que há num exame de sangue comum.

Os seguintes dados demográficos, clínicos e laboratoriais foram registrados à admissão: idade, tabagismo, idade de instalação da DC, duração da doença, hemograma completo, PCR e VHS.

Cada paciente foi submetido à monitorização laboratorial com hemograma completo, PCR e VHS na inclusão e então, mensalmente durante o primeiro trimestre e, subsequentemente, a cada dois ou três meses. Os pacientes compareceram para controle ambulatorial a cada mês durante os primeiros seis meses e depois, com intervalo de dois ou três meses até completar 36 meses.

Foram considerados os seguintes valores de referência:

Exame	Valor de referência
Eritrócitos	4,0 – 6,0 milhões/mm ³
Hemoglobina	12-17 g/dl
Hematócrito	37-54 %
HGM	27-36 pg
VGM	80-98 Fl
CHGM	30-36 %
RDW	11-15 %
Leucócitos	3600-11000 / mm ³
Segmentados	45-66 % 2900 – 6600/ mm ³
Linfócitos	20-35 % 1000 - 3500/ mm ³
Eosinófilos	0-7 % 0 - 500/mm ³
Bastões	0-5 % 0 - 500/mm ³
Mielócitos	0 0
Pró-mielócitos	0 0
Basófilos	0-3 % 0 - 200/ mm ³
Monócitos	2-10 % 100 -1000/mm ³
Blastos	0 0
Plaquetas	140.000 – 500.000/ mm ³
PCR	< 6mg/L
VHS – primeira hora	0-10 mm
VHS – segunda hora	0-20 mm

4.4 Análise dos dados

Para análise dos dados, os pacientes foram divididos em dois grupos: todos os pacientes (grupo AZA + grupo mesalazina) e apenas pacientes do grupo AZA. Como já tínhamos o resultado de dois estudos anteriores, com o mesmo banco de dados, que indicava um menor risco de cirurgia (VIDIGAL *et al.*, 2014) e de

rehospitalizações (SOUZA *et al.*, 2013) no grupo de pacientes do grupo AZA, optamos por fazer a análise adicional do grupo total de pacientes (grupo AZA + grupo mesalazina), ainda que este não fosse nosso objetivo, como o grupo controle.

Em adição, nós realizamos a análise do subgrupo de pacientes recebendo AZA com e sem ressecção intestinal ao longo dos 36 meses.

4.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada usando o programa SPSS 14.0 (SPSS, Chicago IL, USA). Variáveis quantitativas foram expressas como mediana e variação ou como média \pm desvio padrão quando normalmente distribuídas. Utilizou-se o teste qui-quadrado para as variáveis categóricas e o teste t de student para as variáveis métricas. Para o cálculo do risco relativo e odds ratio utilizou-se a análise de regressão logística. Para comparação, o nível de significância estatística será estabelecido com o valor de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e a discussão são apresentados no formato do artigo científico (apêndice). Este artigo foi submetido à revista indexada conforme norma do programa, e o comprovante de submissão consta no anexo.

6 CONCLUSÕES

Em pacientes com DC suboclusiva ileocecal que apresentaram o primeiro episódio de obstrução clinicamente resolvido, os níveis séricos elevados de PCR foram preditivos de resposta à AZA e, conseqüentemente, de menor necessidade de ressecção intestinal a médio e longo prazos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, B. P.; THIRUMURTHI, S. Clinical significance of inflammatory markers. **Current Gastroenterology Reports**, v.11, p. 360-367. 2009.

BARNES, B. H.; BOROWITZ, S. M.; SAULSBURY, T. F., *et al.* Discordant erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in children with inflammatory bowel disease taking azathioprine or 6-mercaptopurine, **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 38, p. 509-512. 2004.

BASSO, D.; ZAMBON, C. F.; PLEBANI, M. Inflammatory bowel diseases: from pathogenesis to laboratory testing, **Clin Chem Lab Med**, v. 52, n. 4, p. 471-481. 2014.

BEHM, B. W.; BICKSTON, S. J. Tumor necrosis factor-alpha antibody for maintenance of remission in Crohn's disease. **Cochrane Database Syst Rev**, v.1, CD 006893. 2008.

BERNSTEIN, C. N.; LOFTUS JR, E. V.; NG, S. C., *et al.* Hospitalizations and surgery in Crohn's disease. **Gut**, 61: 622-629. 2012.

BLUN, E.; KATZ, J. A. Postoperative therapy for Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 15, n. 4, p. 463-472. 2009.

CACCARO, R.; D'INCÀ, R.; STURNIOLO, C. Clinical utility of calprotectin and lactoferrin as markers of inflammation in patients with inflammatory bowel disease. **Expert Rev. Clin. Immunol**, 6(4), p. 551-558. 2010.

CANDY, S.; WRIGHT, J.; GERBER, M., *et al.* A controlled double blind study of Azathioprine in the management of Crohn's disease. **Gut**, v. 37, n. 5, p. 674-678. 1995.

CLARK, M.; COLOMBEL, J. F.; FEAGAN, B. G., *et al.* American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment on inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 133, n.1, p. 312-339. 2007.

FREEMAN, H. J. Long-term natural history of Crohn's disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 15, n. 11, p. 1315-1318. 2009.

FRIEDMAN, S. General principles of medical therapy of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology clinic NAM** 33; 191-208, 2004.

GABURRI, P.D.; CHEBLI, J.M.; *et al.* Epidemiology clinical features and clinical course of Crohn's disease: a study of 60 cases. **Arq. Gastroenterology**. v. 35, n. 4, p. 240-246, 1998.

GOLOVICS, P. A.; MANDEL, M. D.; LOVASZ, B. D., *et al.* Inflammatory bowel disease course in Crohn's disease: Is the natural history changing? **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 12, p. 3198-3207. 2014.

HENDERSON, P.; KENNEDY, N.A.; van LIMBERGEN, J. E., *et al.* Serum C-reactive protein and CRP genotype in pediatric inflammatory bowel disease: Influence on phenotype, natural history, and response to therapy. **Inflamm Bowel Dis**, v. 21, n. 3, p. 596-605. 2015.

KEKILLI, M.; BEYAZIT, Y; TAS, A., *et al.* Atypical pANCA as a marker of indeterminate colitis for the prediction of ulcerative colitis and Crohn's disease. **Wien Klin Wochenschr**, v. 125, p. 279-282. 2013.

KENNEDY, N.A.; KALLA, R.; WARNER, B., *et al.* Thiopurine withdrawal during sustained clinical remission in inflammatory bowel disease: relapse and recapture rates, with predictive factors in 237 patients. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 40, p. 1313-1323. 2014.

KISS, L.S.; PAPP, M.; LOVASZ, B. D., *et al.* High-sensitivity C-reactive protein for identification of disease phenotype, active disease, and clinical relapses in Crohn's disease: A marker for patient classification? **Inflamm Bowel Dis**, v 18, n. 9, p. 1647-1654. 2012.

KRUIS, W.; KATALINIC, A.; KLUGMANN, T., *et al.* Predictive factors for an uncomplicated long term course of Crohn's disease: A retrospective analysis. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 7, p. e263-e270. 2013.

KWAK, M.S.; KIM, D.H.; PARK, S. J., *et al.* Efficacy of early immunomodulator therapy on the outcomes of Crohn's disease. **BMC Gastroenterology**, 14;85. 2014.

LAHAT, A.; CHOWERS, Y. The patient with recurrent (sub) obstruction due to Crohn's disease. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 21, n. 3, p. 427-444. 2007.

LAKATOS, P. L; KISS, L. S. Is the disease course predictable in inflammatory bowel diseases? **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 21, p. 2591-2599. 2010.

LOUIS, E.; COLLARD, A.; OGER, A. F., *et al.* Behavior of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease. **Gut**, v. 49, n. 6, p. 777-782. 2001.

MENDOZA, J.L.; ABREU, M.T. Biological markers in inflammatory bowel disease: Practical consideration for clinicians. **Gastroentérologie Clinique et Biologique**, v. 33, n. 3, p. S158-S173. 2009.

MINDERHOUD, I. M.; SAMSOM, M.; OLDENBURG, B. What predicts mucosal inflammation in Crohn's disease patients? **Inflamm Bowel Dis**, v. 13, n. 12, p. 1567-1572. 2007.

MOSLI, M.H.; ZOU, G.; GARG, S. K., *et al.* C-Reactive protein, fecal calprotectin, and stool lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: A systematic review and meta-analysis. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 110, p. 802-819. 2015.

MURDOCH, T.B.; O'DONNELL, S.; SILVERBERG, M. S., *et al.* Biomarkers as potential treatment targets in inflammatory bowel disease: A systematic review. **Can J Gastroenterol Hepatol**, v. 29, n. 4, p. 203-208. 2015.

NAKARAI, A; KATO, J.; *et al.* Slight increases in the disease activity index and platelet count imply the presence of active intestinal lesions in C-reactive protein-negative Crohn's disease patients. **Internal Medicine**, 53, p. 1905-1911. 2014.

PALASCAK, J. U. I. F. V.; BOUVIER, A. M.; COSNES J., *et al.* Small bowel adenocarcinoma in patients with Crohn's disease compared with small bowel adenocarcinoma de novo. **Inflamm Bowel Dis**, v. 11, n. 9, p. 828-832. 2005.

PAPAY, P.; REINISCH, W.; HO, E., *et al.* The impact of thiopurines on the risk of surgical recurrence in patients with Crohn's disease after first intestinal surgery. **Am J Gastroenterol**, v. 105, p. 1158-1164. 2010.

PARK, J.J.; CHEON, J.H.; HONG, S. P., *et al.* Outcome predictors for thiopurine maintenance therapy in patients with Crohn's disease. **Dig Dis Sci**, v. 57, p. 133-141. 2012.

PEYRIN-BIROULET, L.; OUSSALAH, A.; WILLIET, N., *et al.* Impact of Azathioprine and tumor necrosis factor antagonists on the need for surgery in newly diagnosed Crohn's disease. **Gut**, v. 60, p. 930-936. 2011.

PLEVY, S.; SILVERBERG, M.S.; LOCKTON, S., *et al.* Combined serological, genetic, and inflammatory markers differentiate non-IBD, Crohn's disease, and ulcerative colitis patients. **Inflamm Bowel Dis**, v. 19, n. 6, p. 1139-1148. 2013.

REENAERS, C.; BELAICHE, J.; LOUIS, E. Impact of medical therapies on inflammatory bowel disease complication rate. **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 29, p. 3823-3827. 2012.

RIEDER, F.; LAWRENCE, I.C.; LEITE, A., *et al.* Predictors of fibrostenotic Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 17, n. 9, p. :2000-2007. 2010.

SAUTER, B.; BEGLINGER, C.; GIRARDIN, M., *et al.* Monitoring disease activity and progression in Crohn's disease. A Swiss perspective on the IBD ahead 'optimised monitoring' recommendations. **Digestion**, v. 89, p.299-309. 2014.

SOUZA, G. S.; VIDIGAL, F. M.; CHEBLI, L. A., *et al.* Effect of azathioprine or mesalazine therapy on incidence of re-hospitalization in sub-occlusive ileocecal Crohn's disease patients. **Med Sci Monit**, v. 19, p. 716-722. 2013.

STJERNMAN, H.; TYSK, C.; ALMER, S., *et al.* Factors predicting the outcome of disease activity assessment in Crohn's disease. **Inflamm Bowel Dis**, v. 15, n. 12, p. 1859-1866. 2009.

van OVERSTRAETEN, A.B.; WOLTHUIS, A.; D'HOORE, A. Surgery for Crohn's disease in the era of biological: A reduced need or delayed verdict? **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 29, p. 3828-3832. 2012.

VERMEIRE, S.; van ASSCHE, G.; RUTGEERTS, P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? **Gut**, v. 55, p. 426-431. 2006.

VIDIGAL, F. M.; SOUZA, G. S.; CHEBLI, L. A., *et al.* Azathioprine is more effective than mesalazine at preventing recurrent bowel obstruction in patients with ileocecal Crohn's disease. **Med Sci Monit**, v. 20, p. 2165-2170. 2014.

WRIGHT, E. K.; KAMM, M. A.; DE CRUZ, P., *et al.* Measurement of fecal calprotectin improves monitoring and detection of recurrence of Crohn's disease after surgery. **Gastroenterology**, v. 148, p. 938-947. 2015.

ANEXO - Comprovante de submissão do artigo

Submission Confirmation



Thank you for your submission

Submitted to Revista da Associação Médica Brasileira

Manuscript ID RAMB-2016-0017

Title Fatores preditivos de resposta a azatioprina em pacientes com doença de Crohn suboclusiva

Authors

Zanini, Karine
Vidigal, Fernando
Souza, Glaucio
Furtado, Maria Cristina
Chebli, Líliliana
Ribeiro, Tarsila
Gaburri, Pedro
Zanini, Alexandre
Chebli, Julio

Date Submitted 03-Feb-2016

[Author Dashboard](#) ▶

APÊNDICE - Artigo