

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS
MÉDICAS**

**AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE EPITELIAL PULMONAR EM
PACIENTES SUBMETIDOS A ESQUEMAS DE QUIMIOTERAPIA
CONTENDO BLEOMICINA ATRAVÉS DA TAXA DE DEPURAÇÃO
PULMONAR DO ^{99M}TC-DTPA.**

**Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina:
Ciências Médicas da UFRGS para a obtenção do título de Mestre**

EVANDRO DE AZAMBUJA

**Orientador: Prof. Sérgio Saldanha Menna Barreto
Co-orientador: Prof. James Freitas Fleck**

2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS
MÉDICAS**

**AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE EPITELIAL PULMONAR EM
PACIENTES SUBMETIDOS A ESQUEMAS DE QUIMIOTERAPIA
CONTENDO BLEOMICINA ATRAVÉS DA TAXA DE DEPURAÇÃO
PULMONAR DO ^{99M}TC-DTPA.**

**Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina:
Clínica Médica da UFRGS para a obtenção do título de Mestre**

EVANDRO DE AZAMBUJA

Orientador: Prof. Sérgio Saldanha Menna Barreto

Co-orientador: Prof. James Freitas Fleck

2002

1.1 A991A AZAMBUJA, EVANDRO

Avaliação da permeabilidade epitelial pulmonar em pacientes submetidos a esquemas de quimioterapia contendo bleomicina através da taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc-DTPA / Evandro Azambuja ; orient. Sérgio Saldanha Menna Barreto ; co-orient. James Freitas Fleck. – 2002.

123 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Clínica Médica e Ciências Médicas, Porto Alegre – RS, 2002.

1. Pulmão: Efeitos de drogas 2. Pulmão : Patologia 3. Permeabilidade 4. Bleomicina : Toxicidade 5. Pulmão : Metabolismo 6. Pentateo de tecnécio TC 99m : Uso diagnóstico I. Menna Barreto, Sérgio Saldanha II. Fleck, James Freitas III. Título.

NLM: WF 658

AGRADECIMENTOS

À minha família, que sempre colocou os estudos entre as prioridades e que não poupou esforços para que eu chegasse aqui.

Aos meus amigos, que sempre estiveram presentes em todos os momentos de minha vida.

À Vânia Naomi Hirakata, pela ajuda com os cálculos estatísticos.

À Elaine Maria Lopes dos Santos, auxiliar-administrativo da Medicina Nuclear e Cleonisse Klanne, auxiliar-administrativo do Serviço de Pneumologia, que sempre oportunizaram os exames em tempo adequado e atenderam os pacientes com muito carinho.

Aos meus pacientes que, em um momento tão difícil em suas vidas, optaram por participar do estudo e confiaram plenamente na equipe médica.

Aos residentes da Oncologia do HCPA que, mesmo eu não estando junto a eles diariamente, sempre me ajudaram para a inclusão de pacientes.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre, pelo interesse e empenho no desenvolvimento da pesquisa clínica, o que me proporcionou a oportunidade de trabalhar em um estudo tão gratificante.

Ao Dr. Renato Cunha, que sempre esteve prestativo para a realização da cintilografia pulmonar, o que foi muito importante para a conclusão deste estudo.

À Revisione pela revisão da Língua Portuguesa.

A Reneé Claire Stein, pela revisão da Língua Inglesa.

Ao meu orientador, Dr. Sérgio Saldanha Menna Barreto, que sempre me motivou nesse estudo de pesquisa e disponibilizou todas dependências do Serviço de Pneumologia.

Ao meu co-orientador, Dr James Fleck, que foi uma imagem profissional durante a residência médica e sempre me incentivou à pesquisa clínica como uma forma de realização profissional.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER.....	11
1.2 A IMPORTÂNCIA DA BLEOMICINA EM COMBINAÇÃO QUIMIOTERÁPICA PARA O TUMOR DE TESTÍCULO E DOENÇA DE HODGKIN.....	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 A BLEOMICINA	14
2.1.1 A bleomicina: molécula e mecanismo de ação	14
2.1.2 A bleomicina: metabolismo e efeitos adversos	16
2.1.3 A bleomicina: toxicidade pulmonar	16
2.1.4 A bleomicina: fatores predisponentes para a toxicidade pulmonar	17
2.1.5 A bleomicina: manifestações clínicas da toxicidade pulmonar	21
2.1.6 A bleomicina: manifestações radiológicas da toxicidade pulmonar	22
2.1.7 A bleomicina: alteração nas provas de função pulmonar	23
2.1.8 A bleomicina: alteração gasométrica	26
2.1.9 A bleomicina: patogenia da toxicidade pulmonar	26
2.2 A BARREIRA ALVÉOLO-CAPILAR E SUA PERMEABILIDADE	30

2.3	A TAXA DE DEPURAÇÃO DO ^{99m} Tc-DTPA COMO ÍNDICE DA PERMEABILIDADE EPITELIAL PULMONAR.....	35
2.4	MODO DE REALIZAÇÃO DO EXAME.....	41
3	JUSTIFICATIVA.....	47
4	OBJETIVOS DO ESTUDO.....	51
4.1	OBJETIVO GERAL.....	51
4.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	51
5	REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA.....	52
6	ARTIGO CIENTÍFICO REDIGIDO EM INGLÊS.....	68
7	VERSÃO EM PORTUGUÊS DO ARTIGO.....	89
8	CONCLUSÕES.....	112
9	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	113
	APÊNDICES.....	115

LISTA DE ABREVIATURAS

^{99m}Tc -DTPA – dietilenotriaminopentacetato marcado com tecnécio- 99m

^{99m}Tc - O_4 – ^{99m}Tc -pertechnetato

ABVD – adriamicina + bleomicina + vinblastina + dacarbazina

ABVD/MOPP – adriamicina + bleomicina + vinblastina + dacarbazina alternando mecloretamina + oncovin + procarbazona + prednisona

ACE – Angiotensin Converting Enzyme – enzima conversora de angiotensina

ARDS – Adult Respiratory Distress Syndrome – síndrome da angústia respiratória aguda

ASCO – American Society of Clinical Oncology – Sociedade Americana de Oncologia Clínica

BAL - Bronchioalveolar Lavage – lavado brônquio-alveolar

BEP – Bleomicina + etoposide + cisplatina

$\text{CD8}^+\text{CD44}^+$ T-cell – Linfócitos T que expressam CD8 e CD44

COP/ABVD – ciclofosfamida + oncovin +procarbazona + adriamicina + bleomicina + vinblastina + dacarbazina

CTGF – Connective Tissue Growth Factor – fator de crescimento de tecido conectivo

DES – Dietilestilbestrol

DLCO – Diffusing Capacity of the Lung for Carbon Monoxide – capacidade de difusão pulmonar do monóxido de carbono

DNA – desoxiribonucleic acid – ácido desoxirribonucléico – ADN

ECOG – Eastern Cooperative Oncology Group – Grupo Cooperativo do Leste em Oncologia

EORTC – European Organization for Research and Treatment of Cancer – Organização Européia para a Pesquisa e Tratamento do Câncer

EP - Etoposide + Cisplatina

Fe - Ferro

FEV1 – Forced Expiratory Volume in 1 second – volume expiratório no primeiro segundo

FiO2 – Inspired Oxygen Concentration – concentração de oxigênio inspirada

FVC – Forced Vital Capacity – capacidade vital forçada

G2 – Gap 2 - fase do ciclo celular

GCSF – Granulocyte Colony Stimulating Factor – fator estimulante de colônias de granulócitos

GMCSF – Granulocyte Monocyte Colony Stimulating Factor – fator estimulante de colônias de granulócitos e monócitos

HIV – Human Immunodeficiency Virus – vírus da imunodeficiência humana

HRCT – High Resolution Computed Tomography – tomografia computadorizada de alta resolução

IL – interleucina

INCA – Instituto Nacional do Câncer

IPEN-TEC - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – São Paulo

M – fase de mitose do ciclo celular

M-BACOD- metotrexate + bleomicina + doxorubicina + ciclofosfamida + vincristina + dexametasona + leucovorin

MBq/ml – Mega Becquerels

mCi - miliCuries

MIP-1 α - Macrophage Inflammatory Protein 1 α - proteína macrofágica inflamatória

mRNA – messenger Ribonucleic Acid – ácido nucléico mensageiro

PAF - Platelet Activated Factor - fator ativador de plaquetas

PDGF – Platelet Derived Growth Factor – fator de crescimento derivado de plaquetas

PFT – Pulmonary Function Tests – testes de função pulmonar

PVB – Cisplatina + vinblastina + bleomicina

ROI – Region of Interest – região de interesse

SIDA – síndrome da imunodeficiência adquirida

T $\frac{1}{2}$ - metade do tempo da depuração do pulmão para o sangue

TGF – Transforming Growth Factor – fator de crescimento transformador

TLC – Total Lung Capacity – capacidade pulmonar total

TMO – Transplante de medula óssea

TNF – Tumor Necrosis Factor – fator de necrose tumoral

VC – Vital Capacity – capacidade vital

WHO – World Health Organization – Organização Mundial de Saúde

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classificação patológica dos tumores de testículo (WHO)	122
Figura 2 - Estrutura bioquímica da bleomicina	155
Figura 3 - Fatores de risco para a toxicidade pulmonar da bleomicina.....	188
Figura 4 - Sinais e sintomas de toxicidade pulmonar pela bleomicina	221
Figura 5 - Membrana alvéolo-capilar - Ep: parede epitelial celular; BM: membrana basal; End: parede endotelial celular; Int: espaço intersticial; ABM: membrana basal alveolar; CBM: membrana capilar basal; Cap: lúmen capilar; End nucl: núcleo de células endoteliais; J: junção inter-epitelial celular; RBC: eritrócitos.	331
Figura 6 - Patologias que alteram a taxa de depuração pulmonar do ^{99m} Tc-DTPA	35
Figura 7 - Aerogama – visão externa.....	42
Figura 8 - Aerogama – visão interna	42
Figura 9 - Paciente nebulizando o radioaerossol.....	43
Figura 10 - Gama-câmara GE Starcam 4000i	44
Figura 11 - Regiões de interesse e curvas de decaimento antes do uso de bleomicina.	45
Figura 12 - Regiões de interesse e curvas de decaimento após 360 mg de bleomicina.....	46

1 INTRODUÇÃO

1.1 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER

A doença de Hodgkin é rara antes dos 5 anos de idade, apresentando o primeiro pico de incidência entre os 15 e 34 anos e um segundo pico após os 50 anos. O subtipo histológico mais freqüente é a esclerose nodular em homens e mulheres, dos 15 aos 34 anos. O segundo subtipo mais freqüente é a celularidade mista e segue o padrão bimodal descrito. O subtipo predominância linfocitária é muito raro, ocorrendo mais freqüentemente, entre homens na terceira e quarta décadas de vida. [1]

No Brasil, segundo dados do Globocan, no ano de 2000, ocorreram 1704 casos de doença de Hodgkin e 646 mortes por essa patologia. [2]

Durante as idades de 20 – 34 anos, o câncer de testículo é a neoplasia mais freqüente nos homens norte-americanos. Entretanto, os tumores germinativos são responsáveis por somente 5% dos tumores ovarianos. Dados de literatura sugerem que os fatores envolvidos no risco de neoplasia de testículo são: criptorquidismo (20 – 40 vezes maior); administração pré-natal de estrógenos, especialmente, o dietilestilbestrol (DES), por aumentar o risco de criptorquidismo.[1]

No Brasil, conforme dados do Globocan, no ano de 2000, ocorreram 1428 casos de tumor de testículo e 251 mortes por essa patologia. [2]

Os subtipos histológicos mais utilizados são os adotados pela World Health Organization (WHO) e estão na figura 1. [3]

TUMOR DE CÉLULAS GERMINATIVAS
<i>Tumores de um subtipo histológico</i>
Seminoma
Seminoma Espermatocítico
Carcinoma Embrionário
Tumor Yolk Sac
Poliembrioma
Coriocarcinomas
Teratomas (maturo, imaturo e transformação maligna)
<i>Tumores com mais de um subtipo histológico</i>
Carcinoma embrionário + teratoma (teratocarcinoma)
Coriocarcinomas + qualquer outro subtipo
Outras combinações
TUMORES ESTROMAIS
<i>Formas bem diferenciadas</i>
Tumor das células de Leydig
Tumor das células de Sertoli
Tumores das células granulosas
<i>Formas mistas</i>
<i>Formas incompletamente diferenciadas</i>

Figura 1 - Classificação patológica dos tumores de testículo (WHO)

1.2 A IMPORTÂNCIA DA BLEOMICINA EM COMBINAÇÃO QUIMIOTERÁPICA PARA O TUMOR DE TESTÍCULO E DOENÇA DE HODGKIN

Um estudo prospectivo avaliou 395 pacientes com tumor de testículo não seminomatoso, sendo que 169, de 195 pacientes que receberam EP (87%), e 189, de 200 pacientes que receberam BEP (95%), atingiram resposta completa somente com quimioterapia. Esse resultado foi significativamente diferente ($p=0.0075$). Dois pacientes do grupo BEP morreram por toxicidade pulmonar. Apesar desses 2 óbitos, a bleomicina não pode ser suprimida do esquema de tratamento de pacientes com tumor de testículo, mesmo com bom prognóstico. [4]

Oitenta e cinco pacientes com doença de Hodgkin foram tratados com o protocolo COP/ABVD e radioterapia entre maio de 1980 e setembro de 1990, sendo a grande maioria (67%) estágios III e IV. Cinquenta pacientes apresentaram alterações insignificantes ou não tiveram alterações na difusão pulmonar para o monóxido de carbono (DLCO). Somente 1 paciente apresentou-se sintomático do ponto de vista pulmonar. Esse paciente recebeu quimioterapia e radioterapia em manto de todo o pulmão. Oito, dos 27 pacientes com DLCO alterada, continuavam a apresentar alteração após um ano do tratamento. A sobrevida livre de doença e a sobrevida total do grupo foram de 93% (5%) e 93% (4%) em 5 anos. Esses dados mostram excelentes resultados com a associação de quimioterapia e radioterapia para pacientes com doença de Hodgkin. [5]

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A BLEOMICINA

2.1.1 A bleomicina: molécula e mecanismo de ação

A bleomicina é uma droga pertencente à família dos antibióticos e foi isolada, em 1966, por Umezawa et al. [6] Seus glicopeptídeos são, originalmente, oriundos do *Streptomyces verticillus*. [7] Apresenta 2 formas disponíveis, A2 e B2, sendo que a forma A2 é a mais frequentemente utilizada (55-70%). Possui um ácido bleomicínico como espinha dorsal e um grupo de compostos formados pela substituição do amino terminal, como demonstrado na figura 2. [6]

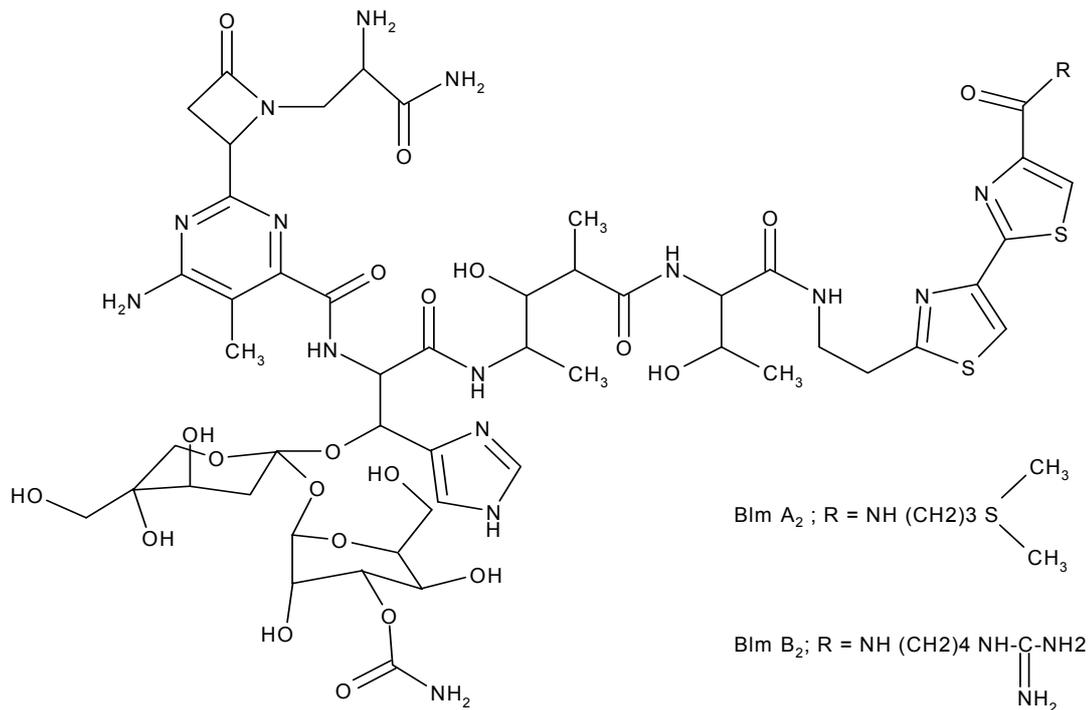


Figura 2 - Estrutura bioquímica da bleomicina

Possui um efeito antibiótico e antitumoral, produzindo a quebra das hélices de DNA resultante da produção de radicais livres pelo complexo bleomicina – Fe(II) [7]. Todo esse processo é dependente da presença de oxigênio e ferro. Entretanto, pode-se ligar ao cobre, manganês, vanádium e cobalto. [6] Retirada de forma lenta da célula é inativada por uma enzima aminohidrolase, a bleomicina hidrolase, encontrada em células normais e tumorais. [6] [7] [8] Existe uma considerável variação de quantidade dessa enzima em diferentes células pulmonares, sendo maiores quantidades nas células endoteliais dos capilares pulmonares e fibroblastos, e em menor proporção nas células epiteliais do tipo II. [6] As células são mais suscetíveis à bleomicina durante as fases G₂ e M do ciclo celular. [6] [7] [9]

O complexo bleomicina com o ferro tem sido o mais estudado. A bleomicina liga-se simultaneamente ao DNA e ao Fe(II) e, na presença de oxigênio molecular, libera radicais hidroxil. Após isso, ocorre o dano ao DNA e a oxidação do Fe(II). Na presença de um agente redutor, o Fe(III) é capaz de substituir o Fe(II). Essa ligação de uma mistura bitiazólica com uma cadeia polipeptídica com carga negativa, provavelmente, ativa os componentes do complexo ferro-oxigênio, levando ao dano do DNA. [6]

Sausville et al. acreditam que o Fe(II) é o co-fator na quebra de DNA pela bleomicina, independente da presença ou ausência de agentes redutores. A oxidação do Fe(II) pelo oxigênio pode ocorrer e produzir uma variedade de reações de radicais livres. [10] [11]

2.1.2 A bleomicina: metabolismo e efeitos adversos

A bleomicina é excretada principalmente pelos rins, sendo 50% da dose excretada em 4 horas e 70% nas primeiras 24 horas. Sua meia-vida ($T_{1/2}$) não é influenciada até que a depuração de creatinina diminua para menos de 25 – 35 ml/min. [6] [7]

Os efeitos adversos menos freqüentes são mielossupressão, náuseas, vômitos, febre e, ocasionalmente, reações alérgicas (urticária e edema pulmonar), mucosite, alopecia, hipopigmentação, eritema, hiperkeratose, ulceração e artrite aguda. Nos pacientes que desenvolvem febre (20 - 50%), alguns apresentam hiperpirexia. [6] [7]

O efeito tóxico mais preocupante da bleomicina é sem dúvida a toxicidade pulmonar, que pode estar presente em 2 – 46% dos pacientes que estão utilizando a droga. [6] [8] [12] A mortalidade por essa complicação varia de 1- 2% dos pacientes. [6] [13] [14] Esse efeito tóxico pulmonar foi descrito, pela primeira vez, em 1972. [15]

2.1.3 A bleomicina: toxicidade pulmonar

O dano pulmonar causado pela bleomicina tem sido descrito em vários estudos, tanto como dano agudo quanto efeito tardio nesses pacientes.

Balikian et al. estudaram 137 pacientes que receberam bleomicina em 2 combinações quimioterápicas (M-BACOD e VBP). No grupo VBP, 80% apresentavam alteração radiológica subclínica e 90% apresentavam alterações crônicas. No grupo M-BACOD, somente 30% apresentavam alteração pulmonar. [16]

Ngan et al. revisaram, retrospectivamente, 109 pacientes com linfoma não-Hodgkin, sendo 30% tabagistas. O risco de desenvolver alteração nas provas de função pulmonar, após a dose de 90 mg, era de 0.49. [17] Shapiro et al. avaliaram 207 pacientes com linfoma não-Hodgkin e observaram que o metotrexate utilizado nos esquemas quimioterápicos poderia ser um fator de risco para pneumonite. [18]

Bossi et al. analisaram 27 pacientes com Doença de Hodgkin submetidos à dose baixa de irradiação seguida de quimioterapia (ABVD). Houve alteração de DLCO em 40% dos pacientes. Essa alteração foi mais importante naqueles pacientes que utilizavam doses maiores de radioterapia (> 20 Gy; $p=0.054$) e maior quantidade de quimioterapia ($p=0.003$). [19]

Hansen estudou, tardiamente, 39 pacientes submetidos à quimioterapia (PVB) e encontrou uma significativa e persistente queda em DLCO, com aproximadamente 72% do valor previsto nos fumantes. Não foram encontradas alterações permanentes em radiografias ou volumes pulmonares. [20]

2.1.4 A bleomicina: fatores predisponentes para a toxicidade pulmonar

Vários fatores têm sido citados como fatores predisponentes para a toxicidade pulmonar. Entre eles estão idade maior que 70 anos [6] [8] [9] [14] [15] [21] [22] [23], dose cumulativa de bleomicina maior que 450 mg [6] [14] [15] [21] [22] [23] [24], irradiação pulmonar [6] [8] [14] [15] [22] [23] [25] [26] [27], insuficiência renal [6] [8] [13] [15] [22] [24] [28], rota de administração da droga [6] [8] [9] [15] [22] [29], exposição ao oxigênio [6] [8] [14] [15] [21] [22] [24] [27] [28] [30] [31] [32] [33], tabagismo [9] [22], uso de GCSF [22] [24] [34] [35], uso de múltiplos quimioterápicos [8] [15] [18], a reposição exacerbada de volume durante procedimento cirúrgico. [24] Na figura 3, estão representados os principais fatores de risco para a toxicidade pulmonar pela bleomicina.

Idade maior que 70 anos
Dose cumulativa de bleomicina maior que 450 mg
Irradiação pulmonar
Insuficiência renal
Rota de administração da droga
Exposição ao oxigênio
Tabagismo
Uso de GCSF
Múltiplos quimioterápicos
Reposição hídrica trans-operatória

Figura 3 - Fatores de risco para a toxicidade pulmonar da bleomicina

Vários estudos demonstraram que o nível sérico de creatinina influencia no risco de desenvolver toxicidade pulmonar. Kawai et al. mostraram que a elevação da creatinina foi o fator de risco mais importante para a diminuição no valor da DLCO. [36] Rabinowits et al. observaram que, em 7 pacientes com perda de função renal com o uso concomitante de cisplatina, 5 desenvolveram toxicidade pulmonar pela bleomicina, apresentando uma correlação forte ($p=0.001$). [37] Sleijfer et al. avaliaram 54 pacientes utilizando cisplatina e bleomicina e obtiveram uma associação significativa entre DLCO e a taxa de depuração de creatinina ($r = 0.29$; $p = 0.001$). [38]

Gerson et al. demonstraram que pacientes que utilizavam bleomicina em infusão contínua, mesmo com doses altas (dose média de 813 mg (450 – 1350 mg)), não apresentavam redução significativa em DLCO. Entretanto, esses testes não foram realizados em períodos regulares para detectar o dano pulmonar. [29] Alguns estudos têm mostrado que

a infusão contínua de bleomicina pode ter menor toxicidade que a aplicação em bolus. Entretanto, esses dados ainda são insuficientes. [8]

O uso de Granulocyte Colony Stimulating Factor (GCSF) foi estudado como um fator predisponente à toxicidade pulmonar por Saxman et al. Nesse estudo, 29 pacientes receberam bleomicina + GCSF (grupo A) e 57 pacientes receberam somente bleomicina (grupo B). Não houve diferença na incidência de toxicidade pulmonar entre os grupos ($p=1.00$). [35] Dirix et al. relataram um caso de pneumonite fatal em um paciente que recebeu bleomicina + GCSF. [39] Bastion e Coiffier publicaram um estudo em que 278 pacientes foram tratados com bleomicina. No grupo que recebeu GCSF, não houve complicações pulmonares evidentes, sugerindo que não há aumento na incidência de toxicidade pulmonar pela bleomicina com o uso de GCSF. [40]

Andreutti et al. estudaram a administração de GM-CSF em ratos e observaram que, 10 horas após a administração de bleomicina, a amplificação do m-RNA GM-CSF era de 4 vezes o valor inicial. Esse aumento era de 2.8 em 6 horas e 4.8 em 12 horas, retornando ao normal após 24 horas. Apesar dessa alteração, ainda não é sabido se o aumento é responsável pela fibrose pulmonar clínica ou experimental. [41]

Ingrassia III et al. relataram que pacientes que utilizaram bleomicina e que necessitaram suporte de oxigênio durante transoperatório, mesmo em doses baixas (FiO_2 33%), pela maior parte do tempo, podem apresentar toxicidade pulmonar devido a aumentos transitórios de FiO_2 . Acredita-se que a toxicidade da bleomicina deve estar relacionada à liberação de fatores quimiotáticos, liberados pelos polimorfonucleares e que induzem a produção de ânion superóxido. Outro mecanismo poderia ser o efeito direto na transcrição dos fibroblastos, aumentando a produção de colágeno. Também é sabido que o oxigênio, por si só, na concentração de menos de 50%, pode causar lesão pulmonar [30]. Jackson descreveu que, na presença de hiperóxia, a produção celular de superóxidos e os subseqüentes produtos da reação excedem a capacidade das enzimas antioxidantes para detoxificá-los. Os radicais livres de oxigênio podem inativar essas enzimas, perturbando as funções celulares e causando dano ao material genético. O resultado final é morte e lise das células que são sensíveis ao oxigênio, resultando em injúria das células alveolares típicas e da microvasculatura. [31]

Santini e Giles relataram que o uso de amifostina poderia ser um fator protetor para a toxicidade pulmonar induzida pela bleomicina, mas ainda os dados são insuficientes. [7] [42]

Lan Tran et al. relataram que o uso de anticorpos de adenovírus recombinantes (Ad.RSVble e Ad.CMVble) poderia induzir a produção de proteínas resistentes à bleomicina. Para isso, mais estudos são necessários para definir a real proteção. [43] Conforme descrito por Conklin, o uso de agentes antioxidantes na dieta poderia reduzir a toxicidade da bleomicina. A vitamina C é um antioxidante solúvel em água, sendo capaz de proteger contra a peroxidação dos lipídios. Estudos *in vitro* mostram que muitas linhagens tumorais podem ter sua citotoxicidade melhorada com o uso da vitamina C, entre as drogas utilizadas está a bleomicina. O β -caroteno é um antioxidante lipídio-solúvel, sendo sua forma Cis a mais eficaz. Estudos pré-clínicos mostram que há possibilidade de melhorar a citotoxicidade causada pela bleomicina em culturas de células. [44] O uso de N-acetil-cisteína tem sido avaliado como atenuante na fibrose pulmonar induzida pela bleomicina, provavelmente, pela inibição parcial do depósito de colágeno que se segue após a administração de bleomicina. [6]

Em relação à dose de bleomicina, em doses menores que 450 mg, a toxicidade pulmonar é 3 – 5 %. Em doses de 450 – 549 mg, essa toxicidade aumenta para 13% e, em doses maiores que 550 mg, chega a 17%. [8] Samuels et al. avaliaram 101 pacientes com tumor de testículo que haviam sido submetidos à quimioterapia com doses de, aproximadamente, 300 mg de bleomicina em esquema quinzenal e em esquema de infusão contínua, e observaram pneumonite secundária à bleomicina em 6 e 3 pacientes respectivamente. [45] Simpson et al. encontraram 5 casos de toxicidade fatal entre 194 pacientes com tumores germinativos de testículo, os quais haviam recebido dose total de 120 – 330 unidades. Todos esses pacientes apresentavam taxa de filtração glomerular menor do que o grupo sem toxicidade ($p < 0.001$). [24]

Estudos mostram que doses baixas de bleomicina podem causar toxicidade fatal. Iacovino et al. descreveram toxicidade fatal em 2 pacientes que utilizaram 165 e 100 unidades de bleomicina. [46] O'Neill et al. encontram toxicidade fatal em uma paciente após 133 mg. Entretanto, essa paciente havia recebido irradiação do tórax em manto. [47] McLeod et al. relataram toxicidade fatal após 60 unidades de bleomicina. O grande fator envolvido era que o paciente apresentava insuficiência renal. [48] Mesmo efeito e com mesma dose foi descrita por Sannohe et al. Havia um fator complicador que foi utilizada instilação intra-esofágica de quimioterapia. [49] Bechard et al. relataram toxicidade fatal com doses de 20 unidades de bleomicina, mas esse paciente havia utilizado ciclofosfamida como combinação quimioterápica. [50]

2.1.5 A bleomicina: manifestações clínicas da toxicidade pulmonar

As manifestações clínicas da toxicidade pela bleomicina são muito semelhantes a uma reação de hipersensibilidade, sendo, geralmente, manifestadas por febre, infiltrado difuso na radiografia de tórax e eosinofilia. Os sinais e sintomas mais frequentemente associados são tosse, dispnéia ao exercício físico, evoluindo para dispnéia em repouso, taquipnéia, febre e cianose. Ao exame físico, são encontrados crepitações bi-basilares finos e, mais grosseiros, em terços inferiores dos pulmões, roncosp, atrito pleural e retração intercostal. [15] [21] [22] [28] Geralmente, a dispnéia inicia-se 4 – 10 semanas após o início do tratamento. [51] A febre, em geral, é baixa. Raramente, ocorre a produção de escarro. Podem ocorrer dores subesternal e pleurítica em até 20% dos casos. [8] Pneumonite de hipersensibilidade foi descrita em 6 casos e dor torácica sugerindo eventos cardíacos ou pulmonares ocorreram em 10 pacientes em infusão contínua de bleomicina. [28]

Na figura 4 descrevem-se os principais sinais e sintomas da toxicidade pulmonar causada pela bleomicina.

SINAIS	SINTOMAS
Febre	Dispnéia
Taquipnéia	Escarro
Cianose	Dor torácica
Creptantes bibasais	Dor pleurítica
Atrito pleural	Dor subesternal
Retração intercostal	

Figura 4 - Sinais e sintomas de toxicidade pulmonar pela bleomicina

2.1.6 A bleomicina: manifestações radiológicas da toxicidade pulmonar

Os achados radiológicos mais comumente encontrados pela toxicidade pulmonar da bleomicina são infiltrados bibasais, às vezes, seguidos por infiltrado intersticial e alveolar difuso, com posterior consolidação pulmonar. Entretanto, pode estar manifestada como alterações unilaterais e infiltrado focal. [8] [21] [22] [28] Anormalidades nos seios costofrênicos podem ser notadas como a primeira manifestação. [8] [15] Sendo possível, ainda, ocorrerem espessamento e derrame pleural, simulando outras condições clínicas. Raramente, manifesta-se como nódulos pulmonares, simulando doença metastática. [8] [52] [53] [54] [55] [56] [57] Elevação do diafragma é vista em 88% dos casos. [8] [15] Já foram descritos casos de pneumotórax [28] e pneumomediastino espontâneos. [8] [58] Apesar disso, uma radiografia de tórax normal não exclui a presença de dano citotóxico, mas esse achado é muito incomum. [59]

A toxicidade pulmonar da bleomicina, também, já foi avaliada por tomografia computadorizada de tórax. Em um grupo de 100 pacientes que haviam recebido bleomicina, achados tomográficos foram vistos em 38 pacientes, sendo que, somente, 15 deles apresentavam alterações na radiografia de tórax. As alterações mais importantes consistem de borramento reticular, às vezes, associado com nódulos, em terços inferiores e médios dos pulmões. Opacidades confluentes simulando metástases podem ser vistas. [8] As alterações tomográficas aparecem antes das alterações radiológicas. [22] Apesar dos resultados, não existem conclusões definitivas sobre o real papel da tomografia na toxicidade induzida pela bleomicina. [60]

Rimmer et al. avaliaram 18 pacientes que haviam recebido entre 300 e 360 mg de bleomicina e encontraram alterações na tomografia de tórax em 15 pacientes (83%). [61] Bellamy et al. estudaram 100 pacientes que haviam recebido entre 360 e 720 mg de bleomicina e encontraram alterações na tomografia de tórax em 38 pacientes (38%), sendo que alterações na radiografia de tórax foram vistas em 15 pacientes (40%). Nesses pacientes com tomografia alterada, as provas de função pulmonar estavam alteradas também ($p < 0.01$). [62] Kuhlman, em uma revisão sobre o papel da tomografia de tórax no diagnóstico de reações associadas a drogas, descreveu que os achados tomográficos da toxicidade pela bleomicina correlacionam-se com as áreas de pneumonite intersticial, inflamação e fibrose identificadas ao exame histológico. Também, descreve que a tomografia seriada pode ser um

método efetivo para monitorizar progressão ou a resolução do dano causado pelas drogas. [63]

A tomografia computadorizada de alta resolução (HRCT) pode ser um método útil para o diagnóstico precoce da doença pulmonar intersticial devido à bleomicina. Padley et al. estudaram 23 pacientes com doença pulmonar induzida por drogas. Cinco desses pacientes haviam recebido bleomicina. HRCT estava alterada em todos os pacientes e a radiografia de tórax em 17 pacientes. Desses 17 pacientes, 10 apresentavam mais alterações em HRCT do que na radiografia de tórax. A manifestação mais freqüente foi fibrose com ou sem consolidação. [64]

2.1.7 A bleomicina: alteração nas provas de função pulmonar

A função pulmonar tem sido o método mais utilizado para avaliar a toxicidade pulmonar em pacientes que estão recebendo bleomicina. Apesar de ser a mais usada, não é a melhor, pois existem muitas dúvidas em como devem ser interpretados os resultados e quando a bleomicina deve ser descontinuada. Os exames mais estudados têm sido a capacidade de difusão pulmonar para o monóxido de carbono (DLCO), também chamada de fator de transferência para o monóxido de carbono (TLCO), a capacidade vital (VC) e capacidade pulmonar total (TLC).

Um grande número de estudos foi desenvolvido para avaliar o papel da DLCO como um indicador de toxicidade pulmonar. McKeage et al, após avaliarem 81 pacientes com toxicidade clínica da bleomicina, obtiveram uma sensibilidade de 16.7% e uma especificidade de 84% com o uso de DLCO. A cada aumento para a sensibilidade, havia elevação de falsos-positivos. Foram considerados valores anormais de DLCO aqueles que eram menores ou iguais a 65% do valor pré-tratamento. [65] Nessa mesma publicação, um editorial de Robert L Comis mostrou que ainda existem muitas dúvidas sobre o DLCO, que não existe um padrão-ouro que possa prever a toxicidade pela bleomicina, quais testes deveriam ser feitos de rotina e se a bleomicina pode ser usada com segurança. [66] Comis et al, em 1979, publicaram a avaliação de 11 pacientes que utilizaram bleomicina, mostrando uma importante diminuição de DLCO após 60 mg de bleomicina, sendo que, com o aumento de dose, a queda de DLCO era linear ($p < 0.001$) e cuidados deveriam ser tomados naqueles pacientes em que o DLCO diminuísse pelo menos 40% do valor inicial. [67] Sorensen et al. estudaram 77 pacientes que haviam recebido bleomicina e observaram uma significativa diminuição de DLCO e

concentração de hemoglobina durante o tratamento. Quando o DLCO não era corrigido para a hemoglobina, havia uma diminuição de mais de 45%. [68] Luursema et al. estudaram 18 pacientes que haviam recebido bleomicina e observaram que, após 240 mg, já havia uma queda significativa de DLCO ($p < 0.01$) e que, mesmo 4 meses após a última dose de bleomicina, não havia normalização dos valores. [69] Achados de queda de DLCO de pelo menos 40%, também, foram descritos em outros estudos. [70] [71]

Pieter et al. descreveram as alterações na função pulmonar, durante e após a quimioterapia, em pacientes com neoplasia de testículo e que haviam recebido bleomicina. DLCO diminuiu significativamente na semana 30 do tratamento ($p < 0.025$) em pacientes que não haviam desenvolvido sintomas pulmonares e na semana 12 nos sintomáticos ($p < 0.0025$). A VC diminuiu significativamente durante o tratamento, mas normalizou durante o acompanhamento ($p < 0.0025$), podendo ser um reflexo do efeito tóxico na vasculatura pulmonar. [72] Marina et al. observaram uma queda de DLCO durante os 6 primeiros meses de quimioterapia e que, essa alteração, permanecia diminuída 1 ano ($p < 0.001$) e 2 anos ($p = 0.03$) após o diagnóstico, sendo mais um reflexo do dano ao leito vascular. [73]

Lewis et al. estudaram 21 pacientes tratados com bleomicina e observaram que mais de 50% dos pacientes apresentavam queda do DLCO de pelo menos 20% do valor inicial. Em 11 pacientes, houve testes falso-positivos para FVC ou DLCO. [74] Wolkowicz et al. estudaram 59 pacientes que haviam recebido bleomicina e observaram alteração na radiografia do tórax em 39%, diminuição significativa de TLC ($p < 0.02$), sendo que 35.6% apresentavam uma diminuição maior de 15%. [75] Piotti et al. estudaram a relação entre alterações nas provas de função pulmonar e os achados morfológicos nos pacientes tratados com bleomicina. Dezesesseis pacientes foram avaliados e não foi encontrada associação entre alterações morfológicas, DLCO e dose cumulativa de bleomicina. Entretanto, existe uma leve tendência em diminuição de DLCO com o acúmulo de dose de bleomicina ($r = 0.403$), sugerindo um valor limitado no DLCO como fator preditivo de toxicidade subclínica. [76]

Lucraft et al. avaliaram as provas de função pulmonar durante a quimioterapia em teratomas testiculares metastáticos como fator preditivo da toxicidade pulmonar da bleomicina. Foram vistos 28 pacientes e nenhum caso de toxicidade pulmonar. DLCO estava significativamente alterada após 90 mg de bleomicina ($p < 0.005$) e as demais provas pulmonares não tiveram alterações significativas. Também não houve correlação entre as

alterações radiológicas e as PFTs. Com isso, sugeriram que PFTs não sejam solicitadas até 360 mg de bleomicina, exceto em casos especiais. [77]

Salloum et al. avaliaram 41 pacientes com doença de Hodgkin tratados com ABVD ou ABVD/MOPP e dose baixa de irradiação mediastinal (20-25 Gy). A dose média de bleomicina foi de 921 UI/m². Vinte e quatro pacientes tinham PFTs alteradas, incluindo 6 tabagistas. DLCO estava menor de 70% do valor esperado em 4 pacientes. TLC e FVC não estavam significativamente alteradas. Devido aos pacientes tabagistas, não foi possível determinar se a alteração nas PFTs era consequência da quimioterapia ou do tabagismo. [78]

Lehne et al. estudaram os efeitos tardios, após 6 – 12 anos, na função pulmonar de 94 pacientes com neoplasia de testículo que estavam curados e que receberam quimioterapia com bleomicina. Nenhum desses pacientes desenvolveu sintomas pulmonares durante o tratamento. Não houve correlação significativa entre DLCO e valor de hemoglobina por regressão linear ($r = 0.071$). Também, não foi vista associação entre o tabagismo e os resultados de FVC e VEF1. A DLCO dos tabagistas era 85% do valor esperado comparado com 102% dos não tabagistas ($p=0.005$). Não houve diferença, nos tabagistas, de DLCO entre os casos e os controles ($p=0.827$). Não foi, portanto, confirmado o prejuízo de função pulmonar, a longo prazo, nesses pacientes. [79]

Sleijfer, em uma revisão sobre a pneumonite induzida pela bleomicina, recomenda que a droga deve ser descontinuada quando a DLCO diminui 60% do valor basal ou quando o valor cai para menos de 40%. Comis recomenda que quando o valor da DLCO diminui 40% do valor inicial, a droga deve ser suspensa, pois pode ocorrer risco de morte. [21] Segundo Baehner et al., não existem parâmetros clínicos sensíveis para a detecção precoce da toxicidade da bleomicina e a droga deve ser suspensa se o valor da DLCO diminui 40% do valor inicial. [27] Para Weiss, a bleomicina deve ser suspensa quando o valor da DLCO apresenta queda de 20% do valor inicial. [28] A VC e TLC diminuem durante o uso da bleomicina e devem ser correlacionadas com dados clínicos para tentar associar ao uso da droga. [22]

Jules-Elysee et al. descreveram que as alterações que ocorrem nas PFTs podem ser um marcador de dano subclínico naqueles pacientes que estão assintomáticos. O primeiro problema está que, para a validação da DLCO, é necessário que o paciente tenha seu exame corrigido para a anemia, visto que muitos pacientes desenvolvem anemia durante a

quimioterapia. Outro problema é que a capacidade vital forçada pode estar reduzida em função de fraqueza, dor ou obnubilação secundária a opiáceos. [8]

Segundo Cooper JAD, a anormalidade fisiológica mais comum da toxicidade pulmonar da bleomicina é um defeito restritivo que reduz o volume pulmonar e a capacidade de difusão do monóxido de carbono. A hipoxemia associada ao exercício pode ocorrer precocemente na doença, sendo que, em repouso, só ocorre em uma fase mais tardia. [15]

2.1.8 A bleomicina: alteração gasométrica

O valor dos gases sanguíneos arteriais pode ser normal ou alterado, dependendo da severidade da doença. Dois estudos mostraram que há um aumento do gradiente alvéolo-arterial ou a presença de hipoxemia. [8]

2.1.9 A bleomicina: patogenia da toxicidade pulmonar

A toxicidade pulmonar pela bleomicina já foi descrita com doses tão baixas quanto 20 mg. [25] [26] A regra é que a toxicidade não ocorra com doses menores que 300 mg, especialmente, se o paciente é jovem, tem um tumor germinativo e não existam outros fatores de risco associados. Estudos experimentais em ratos sugerem a seguinte sequência de eventos que leva à fibrose pulmonar irreversível: 1) edema de capilar endotelial e intersticial; 2) proliferação de pneumócitos tipo II e super produção de surfactante; 3) necrose dos pneumócitos tipo II e liberação do excesso do surfactante; 4) fagocitose do surfactante pelos macrófagos alveolares; 5) liberação de mediadores pelos macrófagos, causando o estímulo à produção de fibroblastos. [15] [28]

Os achados histológicos no pulmão incluem dano alveolar difuso, pneumonia intersticial e fibrose pulmonar intersticial. Também, tem sido notada a descamação das células epiteliais e liberação de hemossiderina dos macrófagos. Alterações ultra-estruturais incluem acúmulo de fibroblastos, o desaparecimento de pneumócitos tipo I e a proliferação dos pneumócitos tipo II. Esses últimos pneumócitos apresentam microvilos curtos e com corpos de extrusão lamelar variáveis com ampla diferença em tamanho e com formas bizarras e alongadas. [25]

Elysee et al. descreveram os achados patológicos em pacientes com toxicidade pulmonar pela bleomicina. Ao exame macroscópico, existe fibrose intersticial, espessamento subpleural,

fibrose da pleura, especialmente, a parede posterior. Numerosas bandas em forma de favo de mel são notadas. Existe uma predisposição para a toxicidade nos lobos inferiores. Histologicamente, não existem alterações patognômicas do dano pulmonar causado pela bleomicina. O achado mais freqüente é alterações no revestimento epitelial, com as células apresentando alterações em forma e tamanho, com um citoplasma abundante e um nucléolo evidente. Sugere-se destruição dos pneumócitos tipo I e II. O septo alveolar encontra-se espessado pelo acúmulo de edema, depósito focal de colágeno e infiltração de células mononucleares. Os pneumócitos tipo I são muito suscetíveis à toxicidade, sendo substituídos pelos pneumócitos tipo II, que apresentam uma replicação mais demorada e, geralmente, resistentes ao dano. Com o aumento dos pneumócitos tipo II, ocorrem inclusões lamelares, que representam os precursores do surfactante. Nesse momento, já existem alterações detectáveis em lipoproteínas do lavado bronco-alveolar (BAL). O estágio final é a fibrose pulmonar devido à invasão de fibrina alveolar pelos fibroblastos. Nódulos colagenosos aumentam e progridem até o processo fibrótico dos septos, paredes e vasos sanguíneos. [8]

Segundo Cooper e Allen, existem 2 mecanismos capazes de causar o dano tóxico pulmonar pela bleomicina. A toxicidade direta ocorre através da formação de radicais livres na presença de oxigênio e pela menor quantidade da hidrolase que degrada a bleomicina no pulmão. Indiretamente, há aumento no número de linfócitos e polimorfonucleares no BAL, o que causaria a liberação de citocinas tóxicas ao tecido pulmonar. A modulação da toxicidade pulmonar, também, pode estar envolvida com os mastócitos, macrófagos e fibroblastos. [80]

Para Comis, a patogenia da toxicidade pulmonar induzida pela bleomicina continua desconhecida, apesar de muitas evidências da resposta pulmonar aos macrófagos para a capacidade da molécula em quelar o ferro e gerar radicais livres através de um shunt oxidativo estabelecido entre os íons ferroso e férrico. Dados mais recentes apontam para o papel dos macrófagos, linfócitos e TNF. [21]

Sleijfer relatou que o primeiro evento observado era o dano endotelial a vasculatura pulmonar acompanhado de edema. Isso é seguido de um influxo de células inflamatórias, tais como macrófagos, linfócitos e neutrófilos ao parênquima pulmonar com subsequente fibrose pulmonar pelos fibroblastos. O mecanismo do dano endotelial ocorre através da indução de citocinas e radicais livres. *In vitro*, bleomicina ativa os macrófagos alveolares que produzem citocinas, tais como TNF- α e IL- β . [22]

Para Chandler, o exato mecanismo associado com a quelatação do ferro não é bem conhecido. A remoção do ferro e a diminuição na formação de radicais livres podem afetar com a seqüela das células, bem como a fibrose induzida pela bleomicina. A redução na formação de radicais livres pela remoção do ferro e/ou remoção do ferro livre da dieta ou a quelatação pela deferoxamina pode contribuir para a diminuição na quantidade de colágeno pulmonar pela inibição da hidroxilação da prolina. Entretanto, isso ainda é muito controverso. Durante a fibrose pulmonar, os níveis de prostaglandina E2 estão, precocemente, elevados. Em contraste, prostaglandina I2 e tromboxane A2 encontram-se elevados durante o acúmulo de colágeno. A prostaglandina E2 tem papel em inibir a proliferação de fibroblastos, bem como a captação de prolina para dentro da célula. Também, é capaz de inibir a função de linfócitos e macrófagos. [81]

Em estudos de BAL em pacientes com fibrose induzida pela bleomicina, os neutrófilos apresentam um pico precoce e diminuem a níveis quase normais logo após, aumentando, novamente, numa fase mais tardia da fibrose. Os eosinófilos apresentam pequena alteração inicial e grande alteração em torno de 4 semanas. Os macrófagos acumulam-se rapidamente após a exposição a um agente capaz de causar fibrose. Os linfócitos apresentam uma resposta proliferativa em torno de 14 dias após a exposição, coincidindo com a maior taxa de síntese de colágeno. O papel dos eosinófilos na fibrose pulmonar é pouco entendido ainda, estando aumentados na fase final do processo fibrótico. [81]

Estudos mais recentes mostram que existem citocinas envolvidas nos efeitos tóxicos da bleomicina, sendo as duas mais envolvidas, o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e o fator de crescimento- β . [15]

Laskin e Pendino escreveram sobre o papel dos macrófagos e mediadores inflamatórios na lesão pulmonar. Os macrófagos são células secretoras ativas capazes de liberar mais de 100 substâncias diferentes e suas funções variam de indução do crescimento celular até a citotoxicidade. A interação dos macrófagos com os antígenos resulta na ativação celular, o que é associado com alterações na morfologia dos macrófagos, bem como quimiotaxia aumentada, fagocitose, citotoxicidade e produção de mediadores. Todo esse processo parece ser regulado pelos mediadores inflamatórios e citocinas. Após a exposição a um agente tóxico, os macrófagos alveolares liberam mediadores que recrutam e ativam as células inflamatórias no pulmão, amplificando a resposta do seu papel na defesa do organismo. Os macrófagos alveolares, também, liberam oxigênio reativo, intermediários do nitrogênio,

enzimas lisossomais, citocinas, lipídios bioativos e fatores de crescimento polipeptídicos. Os mediadores que estariam envolvidos na toxicidade pulmonar da bleomicina seriam os lipídios, IL-1, TNF- α e fibronectina. [82]

Sleijfer et al. mostraram que os valores de TNF- α estão significativamente aumentados em 3 horas (29.3 (5.3) $p=0.017$), 4.5 horas (34.2.3 (8.3) $p= 0.014$) e 24 horas (20.1 (5.0) $p=0.004$) após a infusão de 30 mg de bleomicina. Não houve diferença no valor de TGF- β (transforming growth factor). Entretanto, para definir o papel das citocinas na toxicidade induzida pela bleomicina, seria necessário avaliar essas citocinas durante as 12 semanas de tratamento. [83]

Smith et al. estudaram a expressão de TNF e IL-6 como mediadores de MIP-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α) na lesão pulmonar pela bleomicina. MIP-1 α é capaz de mediar a fagocitose mononuclear durante a resposta a bleomicina. Não houve aumento de MIP-1 α no BAL em 6 e 12 horas, mas estava aumentado em 24 horas após a exposição a bleomicina ($p<0.05$). [84]

Durante a lesão pulmonar aguda, várias citocinas são liberadas no espaço alveolar e são responsáveis pelo reparo e fibrose local. Uma dessas citocinas é a PDGF (platelet-derived growth factor), um potente mitogênico e proteína catiônica. Existem dois tipos de PDGF: A e B. Walsh et al. mostraram que, após 3 dias de instilação de bleomicina intratecal, o número de células alveolares aumentou em 3 vezes e que, os macrófagos alveolares permaneceram aumentados até 26 dias após. No 3º dia, a atividade mitogênica, detectada por cromatografia, de substâncias similares as PDGF equivalia em potência às autênticas PDGF. Isso mostra que essas substâncias são importantes mitogênicos para as células mesenquimais. [85]

Schwartz et al. estudaram a proteína cisteína neutra, um membro da superfamília da bleomicina hidrolase, e viram que os ratos Bh-/- eram hipersensíveis aos efeitos deletérios da bleomicina, com dose de 25 mg/Kg (fibrose) ou 50 – 100 mg/Kg (letalidade). Aqueles ratos Bh +/+ não apresentavam esse efeito. [86]

Lasky et al. estudaram um novo fibroblasto mitogênico e promotor da deposição de colágeno, o CTGF (connective tissue growth factor). *In vitro*, o TGF- β 1 é o único indutor conhecido da expressão de CTGF mRNA. Os achados do estudo mostraram que TGF- β 1 faz a regulação da expressão de CTGF mRNA em fibroblastos humanos e de ratos. Outras citocinas

são liberadas precocemente, a IL-1 β e TNF- α , mas não fazem a regulação do CTGF. Esse evento de regulação antecede a fase do depósito do colágeno. [87]

Sterling et al., estudando fibroblastos pulmonares fetais IMR-90, mostraram que, após 96 horas de cultura de células com bleomicina, o número de fibroblastos significativamente diminuía em relação ao controle. A síntese de colágeno nas células tratadas estava aumentada em todos os tempos da incubação. A atividade da enzima prolil hidroxilase estava aumentada em 5 vezes nas células tratadas. Com isso, foi observado que a síntese de colágeno encontrase elevada nas células tratadas com bleomicina, mas que a degradação do colágeno está elevada em proporções maiores. [88]

Sorensen et al. avaliaram a alteração no nível sérico da enzima conversora da angiotensina (ACE) durante os primeiros 5 dias e 2 meses após da administração de bleomicina. Durante o tratamento, houve alterações significativas no nível sérico de ACE ($p < 0.05$) e retorno aos níveis normais em 2 meses após o tratamento. Talvez essas alterações sejam um reflexo do dano endotelial. [89] Nussnovitch dosou ACE antes, durante e após o tratamento e observou que ACE aumentava somente após o uso de doses altas de bleomicina. [90]

2.2 A BARREIRA ALVÉOLO-CAPILAR E SUA PERMEABILIDADE

A barreira alvéolo-capilar vem despertando grande interesse desde 1857, quando Claude Bernard introduziu curare nas vias aéreas de um cão e observou que a droga causava paralisia muscular. [91]

A avaliação microscópica da barreira alvéolo-capilar só foi possível após a introdução da microscopia eletrônica. Essa membrana alvéolo-capilar é constituída por uma porção mais fina (0.5 μm) e outra porção um pouco mais espessa. Essa primeira camada mais fina compreende uma camada epitelial de células alveolares do tipo I, endotélio vascular e, entre essas duas camadas, uma membrana basal que é a continuação da membrana basal alveolar. Essa estrutura delicada é devida a necessidade de troca gasosa rápida. Na porção mais espessa, o endotélio adere-se aos capilares da membrana basal, mas existe um espaço entre a membrana basal alveolar com o epitélio que está aderido. [91] [92] Essa estrutura é vista na figura 5. [91]

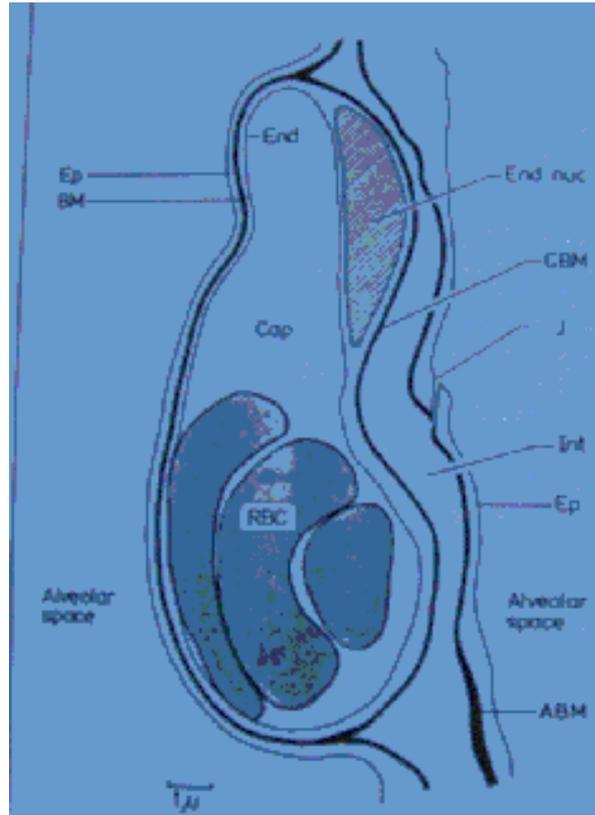


Figura 5 - Membrana alvéolo-capilar - Ep: parede epitelial celular; BM: membrana basal; End: parede endotelial celular; Int: espaço intersticial; ABM: membrana basal alveolar; CBM: membrana capilar basal; Cap: lúmen capilar; End nuc: núcleo de células endoteliais; J: junção inter-epitelial celular; RBC: eritrócitos.

O endotélio capilar é formado por células muito ativas metabolicamente, o que é considerado estar fundamentalmente envolvido no metabolismo da angiotensina I, bradicinina, prostaglandina e fator VIII. [93]

As células endoteliais, ao contrário da superfície de alvéolos tipo I, possuem uma superfície aniônica homogênea. As células tipo II apresentam grandes sítios aniônicos, mas perfazem somente 5 – 10% de todo o epitélio pulmonar. Como observado por Vaccaro e Brody, a membrana basal alveolar tem uma distribuição de carga negativa semelhante à da carga da membrana basal glomerular, entretanto, a membrana basal alveolar apresenta uma carga negativa fixa 5 vezes maior que a membrana basal capilar. [91]

Em relação à permeabilidade da membrana alvéolo-capilar, as junções epiteliais são 10 vezes mais permeáveis do que as junções endoteliais, sendo, freqüentemente, determinante da

difusão de substâncias. Isso pode ser explicado pelas diferenças entre esses dois tipos de junções. Apesar disso, essa alta resistência epitelial pode, subitamente, romper quando houver estresse mecânico ou distensão com líquidos. [91] [92]

Não existe um método único capaz de demonstrar completamente a característica da permeabilidade dos componentes da barreira alvéolo-capilar. Existem técnicas que podem avaliar a permeabilidade epitelial e a endotelial. [91]

Muitas técnicas foram desenvolvidas, em animais, para medir a permeabilidade epitelial, sendo uma delas a cintilografia pulmonar com o radioaerossol de dietilenotriaminopentacetato marcado com tecnécio-99m ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$). Rinderknecht et al., em 1977, introduziram a taxa de depuração pulmonar do $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ [92]. Taplin e Efron, em Los Angeles, usaram $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ como um exame de imagem pulmonar, mas, também, verificaram a taxa de depuração após a inalação de um aerossol para detectar alterações na permeabilidade da barreira alvéolo-capilar em pacientes com doença pulmonar intersticial. [91] O complexo Tecnécio-99m-DTPA é formado por ^{99m}Tc , como pertecnetato, adicionado a uma mistura liofilizada de CaNa_3DTPA e SnCl_2 . [93]

Para estudar a permeabilidade epitelial, o traçador $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ deve apresentar algumas características, isto é ter uma lipossolubilidade muito baixa; possuir um peso molecular muito baixo; possuir uma carga aniônica para evitar sua passagem pela membrana; não deve existir transporte ativo dessa substância e o radiotraçador deve permanecer aderido seguramente a uma molécula inerte. Todas essas características são encontradas no $^{99m}\text{Tc-DTPA}$. Em relação ao peso molecular, o $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ apresenta um peso de 492 daltons, com um raio de 0,6 nm, que é de tamanho similar ao calculado de um poro da membrana epitelial. [91] O $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ deixa o espaço alveolar por difusão, sendo filtrado pelos rins. [91] [92] [94] [95] [96] [97]

Na maioria das vezes, os resultados da $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ são expressos em $T_{1/2}$, ou seja, a metade do tempo da depuração do pulmão para o sangue ($T_{1/2}$), significando o tempo que leva para que o número inicial de partículas caia pela metade. O $T_{1/2}$ é mais utilizado e compreendido do que o valor k . Entretanto, eles estão relacionados, onde $T_{1/2} = 0,693 / k$. [91] O $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ apresenta uma meia-vida de 6.01 horas. [93] [98]

O valor k é, freqüentemente, expresso como a percentagem multiplicada por 100 vezes. [91] O k (em % de decaimento.min⁻¹) é calculado a partir de cada uma das curvas de decaimento do radiotraçador, utilizando-se uma equação monoexponencial:

$$C = C_0 \cdot e^{-k \cdot t}$$

onde C é a contagem radioativa em qualquer t , C_0 é a contagem radioativa no $t = 0$, e é a constante de Euler, k é a constante de transferência para a taxa de depuração do ^{99m}Tc-DTPA e t é o tempo.

Em estudo brasileiro, os valores para indivíduos normais não-fumantes são: k de 0,67 %.min⁻¹ (T ½ de 103 min) [99] e 1,2 %.min⁻¹ (T ½ de 58 min). [100]

Existem alguns determinantes da taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc-DTPA que são o local de depósito e a distensão pulmonar. Devido ao pequeno tamanho da partícula do ^{99m}Tc-DTPA, seu depósito é maior nos bronquíolos e alvéolos, com isso, fica minimizado o efeito da depuração ciliar e a absorção através das vias aéreas condutoras. [93] [98] Em animais, a absorção do ^{99m}Tc-DTPA é de 16% na nasofaringe, 33% na traquéia e 100% nos alvéolos. Segundo Elwood *et al.*, essa diferença não é válida para humanos. Sempre que houver distensão pulmonar, haverá um aumento do fluxo de solutos do pulmão para o sangue. Em animais, a taxa de depuração é inversamente proporcional ao peso molecular do traçador, mas quando o pulmão é distendido, o aumento na depuração torna-se proporcional ao peso molecular. [91] Em pacientes hígidos, a depuração segue uma curva monoexponencial, tornando-se biexponencial quando a depuração está mais rápida devido a dano na membrana alvéolo-capilar, como exemplo, a síndrome da angústia respiratória aguda em mineiros de carvão. [93]

Bennett *et al.* mostraram que a taxa de depuração do ^{99m}Tc-DTPA é 3 vezes a taxa de absorção brônquica (T ½ 107 min X 316 minutos respectivamente). [101]

Tratando-se da dose de radiação administrada com o ^{99m}Tc-DTPA, essa é de, aproximadamente, 555 MBq/ml, que resulta na entrega de 5.16 MBq ao espaço alveolar em 3 minutos, em um fluxo de 8 litros por minuto de oxigênio. [93] O Brodovich avaliou se era necessário fazer uma correção para ^{99m}Tc-DTPA inalado em relação à parede torácica e vasculatura pulmonar e observou que não são necessárias correções para avaliação da permeabilidade da membrana alvéolo-pulmonar. [102] Dados mais recentes mostram que a

dose de radiação que os pacientes recebem nos pulmões é de 20-40 MBq (0.5 – 1.0 mCi). [103]

De acordo com o painel de consenso do National Heart, Lung and Blood Institute, o ^{99m}Tc -DTPA é um método altamente sensível para garantir a ausência de lesão epitelial pulmonar. [96]

Groth et al. avaliaram 39 indivíduos hígidos (17 homens e 22 mulheres), não tabagistas, com ^{99m}Tc -DTPA em relação ao sexo, idade e altura para ver se eram fatores de confusão nos resultados. O valor médio do ^{99m}Tc -DTPA foi de 0.85 (0.25) % min^{-1} , não havendo relação com os fatores supracitados. Entretanto, notou-se que a depuração era maior nas porções inferiores do pulmão, mas esse mecanismo permanece ainda não esclarecido. [104]

Isitman et al. compararam tecnécio-99m pirofosfato e tecnécio-99m DTPA em 8 homens não tabagistas e observaram que a dose de irradiação com pirofosfato é quase três vezes maior que a com DTPA (0.31 X 0.11 rad/mCi respectivamente). Ambas inalações não causaram efeitos adversos e não tiveram aderência significativa nas vias aéreas maiores dos voluntários normais. [105]

Ionoue et al. avaliaram o efeito de furosemide inalatório no tecnécio-99m DTPA em pacientes normais e com asma. A taxa de depuração não foi significativamente diferente antes e após a administração de furosemide inalatório (0.99% (0.11%) min^{-1} X 0.95% (0.15%) min^{-1}). A depuração foi acelerada em asmáticos, mostrando significativa diminuição após inalação de furosemide (1.68% (0.65%) min^{-1} X 1.14 (0.38%) min^{-1} $p < 0.005$). [106]

Evidências experimentais mostram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA constitui-se em um índice da permeabilidade epitelial pulmonar. O interesse crescente por esta técnica diagnóstica decorre de sua natureza não-invasiva, da facilidade de repetições das medidas e de seu relativo baixo custo. Entretanto, ela é influenciada por outros fatores que não a lesão pulmonar. Apesar de sua falta de especificidade, parece haver consenso de que, devido à sua elevada sensibilidade, este método pode ter valor diagnóstico em determinadas circunstâncias da clínica, especialmente, na detecção precoce da lesão pulmonar. Em situações específicas, pode ter utilidade na monitorização da atividade da doença pulmonar e no diagnóstico diferencial entre síndrome da angústia respiratória aguda e edema pulmonar cardiogênico. [92] [93] [96] [97] [107]

2.3 A TAXA DE DEPURAÇÃO DO ^{99m}Tc -DTPA COMO ÍNDICE DA PERMEABILIDADE EPITELIAL PULMONAR

Os relatos iniciais de que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA estava aumentada em pacientes com doença pulmonar crônica surgiram na literatura em 1977 [97]. Estudos subseqüentes confirmaram estes achados na fibrose pulmonar [92] e relataram aumento desta taxa de depuração na doença pulmonar relacionada à esclerose sistêmica [108] [109] [110] [111] [112], na sarcoidose [113], nas pneumoconioses, na alveolite alérgica extrínseca, nas pneumonites intersticiais associadas ao transplantes de medula em pacientes pediátricos, na pneumopatia por amiodarona, na pneumonia por *Pneumocystis carinii* [114] [115] [116] [117] [118] [119], nas alveolites linfocíticas relacionadas ao vírus da imunodeficiência humana [120], na rejeição em transplantes [121], na síndrome da angústia respiratória aguda [122], na toxicidade pulmonar induzida por bleomicina e por outros agentes citotóxicos [109] [123], no lúpus eritematoso sistêmico com doença em atividade [124] e no tabagismo. [125] [126] [127] [128] [129] [130] [131] [132] Essas patologias são demonstradas na figura 6.

Fibrose pulmonar
Esclerose sistêmica
Sarcoidose
Pneumoconiose
Alveolite alérgica extrínseca
Pneumonite intersticial associada ao TMO
Pneumopatia pela amiodarona
<i>Pneumocystis carinii</i>
Alveolite linfocítica – HIV
Rejeição de transplante
ARDS
Drogas
Lúpus eritematoso sistêmico
Tabagismo

Figura 6 - Patologias que alteram a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA

A taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA tem sido proposta como um método de triagem para o diagnóstico da pneumonia por *Pneumocystis carinii*. Os dados sugerem que o método diagnóstico é particularmente útil para a detecção precoce da doença pulmonar quando o exame radiológico do tórax e a gasometria arterial são normais. Além disso, devido à sua elevada sensibilidade, uma taxa de depuração pulmonar de ^{99m}Tc -DTPA normal, virtualmente, exclui doença pulmonar. [114] [115] [116] [117] [118] [119] Em vista desses resultados, têm sido propostas modificações no algoritmo diagnóstico do paciente com SIDA que apresenta febre e/ou sintomas respiratórios: quando o exame radiológico do tórax é normal, na seqüência diagnóstica, deve ser realizada a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA. [118] Quando comparada com a cintilografia com gálio, esta técnica oferece outras vantagens, além da maior sensibilidade, maior disponibilidade, menor custo, mais rápida execução e análise dos resultados mais prontamente disponível. Todavia, sua especificidade (85 e 87% para o diagnóstico de pneumonia por *Pneumocystis carinii* quando a taxa de depuração é superior a $4,5\%.\text{min}^{-1}$) não é suficiente para que seja usada isoladamente para fazer este diagnóstico. [118] O'Doherty et al. relataram que, além do valor da taxa de depuração, a forma bifásica do decaimento curva poderia diferenciar a pneumonia por *Pneumocystis carinii* de outras formas de doenças infecciosas pulmonares na síndrome da imunodeficiência adquirida, que a curva pode retornar à forma monoexponencial em 6 semanas após o tratamento. [116] Mason et al. indicaram que o tratamento com sulfametoxazol-trimetoprim pode fazer com que a depuração do ^{99m}Tc -DTPA retorne próximo ao normal em 1 – 3 semanas. [115] Robinson et al. observaram que não há diferença entre pacientes com Sarcoma de Kaposi endobrônquico e com outras patologias que não *Pneumocystis carinii*. [117] Meignan et al., estudando pacientes infectados pelo HIV e com alveolite linfocítica-T citotóxica, assinalaram que a depuração do ^{99m}Tc -DTPA é diretamente proporcional ao número de CD8+D44+ T-células. [120]

A taxa de depuração do ^{99m}Tc -DTPA tem sido proposta como método não-invasivo para detectar mais precocemente a rejeição em transplantes de pulmão. Um dos desafios, transplantados de pulmão, é o desenvolvimento insidioso de bronquiolite obliterante (em 30 a 40% dos receptores), que é resultado de rejeição pulmonar repetida ou crônica. Muitos dos episódios de rejeição nos transplantes pulmonares não são associados com manifestações clínicas ou radiológicas, havendo dúvida sobre quando realizar a biópsia transbrônquica com vistas a tal diagnóstico. Herve et al. estudando 28 pacientes submetidos a transplante coração-pulmão ou duplo-pulmão, mostraram que a sensibilidade e a especificidade deste método em

detectar rejeição pulmonar são, respectivamente, de 69 e 82%, quando comparadas com às do volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF_1) que são de 45 e 85%. O valor do ^{99m}Tc -DTPA durante a rejeição é maior do que no grupo controle (3.65 (0.41) %/min X 2.62 (0.25) %/min $p < 0.02$). A monitorização, do transplantado pulmonar, com a taxa de depuração do DTPA e com testes de função pulmonar contribui para determinar o momento da realização da biópsia transbrônquica para o diagnóstico precoce de rejeição. [121]

Estudos em pacientes com esclerose sistêmica demonstraram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA detecta a lesão pulmonar mais precocemente que o exame radiológico do tórax e que os testes de função pulmonar. [108] [109] [110] [111] [112] Considerando-se que o envolvimento pulmonar avançado na esclerose sistêmica pode não responder às medidas terapêuticas habituais e que as alterações iniciais respondem prontamente às drogas imunossupressoras, a monitorização de pacientes assintomáticos buscando o diagnóstico precoce da alveolite faz-se necessária. Entretanto, biópsia pulmonar nesses pacientes não está eticamente justificável. [108] Wells et al. estudaram 29 pacientes com alveolite fibrosante criptogênica, confirmados por biópsia pulmonar, e 59 pacientes esclerose sistêmica, assim, e observaram que os pacientes que possuíam taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA diminuída não apresentaram alteração com o tratamento empregado. [112]

Alguns estudos clínicos têm utilizado esta técnica para avaliar a atividade inflamatória pulmonar na sarcoidose [113] [133] [134] [135] [136] Thunberg et al. estudando 10 voluntários hígidos, 5 tabagistas assintomáticos e 9 pacientes com sarcoidose, não conseguiram demonstrar diferença significativa entre pacientes com sarcoidose e voluntários sadios (média de 65.5 min). [113] Chinet et al. evidenciaram, em 37 pacientes com sarcoidose pulmonar, que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA aumenta à medida que as provas de função pulmonar se deterioram; e diminui durante o tratamento com corticóide [134]. Resultado semelhante foi obtido por Dusser et al. [135]

Estudos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico evidenciaram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA está alterada em pacientes com atividade da doença e que estas alterações se correlacionam com a medida do complemento hemolítico total, mas não com os achados de testes de função pulmonar, nem com alterações do exame radiológico do tórax. Este aumento da taxa de depuração pulmonar ocorre mesmo quando considerados apenas pacientes sem lesão parenquimatosa pulmonar. Estes achados sugerem que esta

técnica diagnóstica possa ter papel no diagnóstico precoce e na monitorização da injúria pulmonar causada pelo lúpus eritematoso sistêmico, podendo se constituir em um indicador da atividade pulmonar da doença. [124]

Estudos em pacientes com síndrome da angústia respiratória aguda (ARDS) evidenciaram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA encontra-se muito aumentada. [122] [137] [138] [139] [140] Tennenberg et al. obtiveram com ^{99m}Tc -DTPA uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 44%. [137] Um fator negativo para o uso do ^{99m}Tc -DTPA em pacientes com ARDS e tabagistas, é que não existe diferença entre a ARDS e fumantes normais, não sendo, portanto, útil nessa situação. [138]

Vários estudos analisando a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA observaram que a mesma se encontra aumentada em tabagistas e que, normalmente, normalizam após 1 semana de término do hábito de fumar. [125] [126] [127] [128] [129] [130] [131] [136] Yates et al. estudaram 20 voluntários normais submetidos a tabagismo passivo e encontraram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA encontra-se alterada após 24 horas de exposição. [141] Minty et al. detectaram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA não se altera em pacientes submetidos à exposição de nicotina sob a forma de goma de mascar. [142] Florêncio et al. mostraram, que, em pacientes tabagistas e expostos à sílica, existe um efeito sinérgico, alterando a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA. [132]

Estudos destacam que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA encontra-se aumentada em pacientes com doença pulmonar infiltrativa [143] [144] e alveolite alérgica extrínseca assintomática. [145] Schmekel et al., estudando 7 pacientes com alveolite alérgica extrínseca, observaram que o aumento na taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA não se correlaciona com volumes pulmonares, gasometria arterial e lavado alveolar. [145]

Cheema et al. demonstraram que existe uma aversez entre o ^{99m}Tc -DTPA e o muco da árvore brônquica, o que contra-indica o ^{99m}Tc -DTPA inalado como forma de avaliar permeabilidade pulmonar em pacientes com bronquite crônica. [146]

Kao et al. estudaram 81 pacientes que haviam consumido *S. androgynus* na tentativa de reduzir de peso, e observaram que o ^{99m}Tc -DTPA foi mais sensível (40,7%) que as provas de função pulmonar (22,2%) em detectar injúria pulmonar ($p < 0.05$). [147]

O fator ativador de plaquetas (PAF) é um autacóide endógeno de curta duração produzido em diferentes células e tecidos, podendo ativar a resposta inflamatória e aumentar a permeabilidade microvascular causando até edema de pulmão. Mason et al. estudaram pacientes que receberam PAF e observaram aceleração na taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA após 10 minutos de inalação. [148]

A taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA foi avaliada por Belcher et al. em 12 pacientes com insuficiência renal, em hemodiálise, e observaram que, na primeira hora de diálise, não houve diferença no ^{99m}Tc -DTPA. Contudo, após 4 – 5 horas de diálise, houve uma diminuição na taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA ($p < 0.005$). Sugeriu-se que isso possa ser causado pela sequestração pulmonar de neutrófilos, radicais livres de oxigênio, liberação de metabólitos do ácido aracdônico ou enzimas catalíticas. [149]

Mousa et al. estudaram a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA em 50 pacientes com diagnóstico de diabetes melitus não-insulina dependentes e observaram alteração em 58 % deles, mostrando ser mais sensível que a difusão de monóxido de carbono em detectar, precocemente, lesão pulmonar. [150]

Pacientes que inalam agudamente fumaça em um incêndio apresentaram, segundo Lin *et al*, taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA diferente no pulmão esquerdo e direito, não sendo correlacionados com radiografia de tórax e provas de função pulmonar. [151]

Trinta e três mineiradores foram avaliados através de ^{99m}Tc -DTPA e ^{67}Ga -citrato, por Susskind *et al*, sendo observada grande diferença entre os controles normais e os mineiradores não-tabagistas ($T_{1/2}$ 60.6 min X 123.8 min) e controles tabagistas e mineiradores tabagistas ($T_{1/2}$ 33.1min X 18.4 min) uma correlação excelente ($r = 0.981$, $p < 0.001$) com o ^{67}Ga -citrato, sugerindo que existe um distúrbio de permeabilidade pulmonar associada com atividade inflamatória. [152]

Terra-Filho et al. demonstraram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA encontra-se aumentada na pneumopatia por amiodarona, permitindo a utilização da técnica para o diagnóstico precoce desta situação clínica e, principalmente, para o diagnóstico diferencial entre pneumopatia e insuficiência cardíaca esquerda, em que o erro diagnóstico é freqüente. [153] [154] Também, comparou-se a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA com o ^{67}Ga -citrato, e foi visto que o ^{99m}Tc -DTPA possui uma sensibilidade de 100% e especificidade de 80% comparada com uma sensibilidade de 78% do ^{67}Ga -citrato. Essa

cintilografia alterada retorna aos valores normais em 120 dias após a descontinuação da amiodarona. [155]

A taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA encontra-se alterada em outras drogas, tais como fluoxetina. [156]

O'Doherty et al. pesquisaram a permeabilidade epitelial pulmonar, através da taxa de depuração do ^{99m}Tc -DTPA, em pacientes com neoplasias hematológicas e observaram que os 6 pacientes tratados com agentes citotóxicos apresentavam aumento da permeabilidade epitelial nas regiões pulmonares médias e inferiores, quando comparados com pacientes não-tratados e controles normais. Os pesquisadores concluíram que a administração de agentes citotóxicos altera a permeabilidade epitelial pulmonar e que estudos adicionais são necessários para estabelecer a correlação entre estas alterações e as doses dos quimioterápicos utilizados. [157]

Ugur et al. estudaram a toxicidade pulmonar da bleomicina através da taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA, em 20 pacientes com tumor de células germinativas submetidos a tratamento com 4 cursos de etoposide, cisplatina e bleomicina. Nenhum dos pacientes apresentava, antes do tratamento, evidências clínicas ou radiológicas de doença pulmonar. O estudo cintilográfico foi realizado antes e após a administração de 180 e 360 mg de bleomicina. Os valores pré-tratamento (expressos em k % de decaimento min^{-1}) foram, significativamente, menores que os após a administração de 180 e 360 mg de bleomicina. Os valores obtidos após a administração de 180 e 360 mg de bleomicina também diferiram significativamente entre si. Por outro lado, não foi observada nenhuma alteração significativa nos outros testes de função pulmonar. Os autores concluíram que a taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA pode ser um método de monitorizar o estado funcional de lesão à membrana alvéolo-capilar durante o tratamento com bleomicina. As alterações observadas na permeabilidade epitelial pulmonar correlacionaram-se com a dose cumulativa de bleomicina, demonstrando um efeito cumulativo deste fármaco. [123]

Van Barneveld et al. avaliaram as complicações pulmonares tardias de 93 pacientes com tumor de testículo disseminado e que haviam recebido bleomicina como forma de tratamento. Cintilografias com ^{99m}Tc e ^{133}Xe não apresentavam alterações 2 anos após o tratamento. [158]

2.4 MODO DE REALIZAÇÃO DO EXAME

O complexo $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ é preparado através da adição do $^{99m}\text{Tc-pertecnetato}$ ($^{99m}\text{Tc-O}_4^-$) a uma preparação liofilizada produzida comercialmente contendo o DTPA (DTPATEC-S, SORIN BIOMEDICA S.p.A., Itália). O $^{99m}\text{Tc-O}_4^-$ é obtido através do IPEN-TEC Gerador de ^{99m}Tc (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, SP, Brasil). Inicialmente, 2,5 ml de soro fisiológico 0,9% são acrescentados ao frasco de DTPATEC-S, retirando-se um volume de 1,25 ml ao qual é adicionado a dose de 740 MBq (20 mCi) de $^{99m}\text{Tc-O}_4^-$. A este volume é acrescentado soro fisiológico 0,9% até totalizar 5 ml, constituindo a solução a ser nebulizada. Para minimizar a dissociação do complexo $^{99m}\text{Tc-DTPA}$, o radiofármaco é preparado dentro de 60 minutos antes de sua utilização.

A qualidade do complexo é controlada, cromatograficamente, na solução a ser nebulizada, após cada preparo e, sempre, imediatamente, antes de sua utilização. A cromatografia em camada delgada é realizada em cromatofolhas de alumínio sílica gel 60 (Merck, Darmstadt, Germany), usando-se acetona como solvente. A contagem é realizada através de um espectrômetro (Contador Gamma de Poço para RIA/IRMA, modelo MN 2000 EIP - Injetron Electronica, Buenos Aires, Argentina). A ligação do $^{99m}\text{Tc-O}_4^-$ ao DTPA, na preparação resultante, deve ser superior a 98%.

O radioaerossol é administrado através de um aparelho portátil específico para inalação pulmonar de aerossóis radioativos (Aerogama®, Medical, Porto Alegre, RS, Brasil), sendo utilizado um fluxo contínuo de 9 l/min de oxigênio com duração de 3 minutos e com o paciente em posição sentada, ventilando lentamente em volume de ar corrente conforme visto nas figuras 7, 8 e 9. Durante a realização das nebulizações, os pacientes permanecem sob supervisão médica, possibilitando a constatação do desempenho correto das manobras inalatórias e a correção de eventuais erros de técnicas na inalação do radiofármaco.



Figura 7 - Aerogama – visão externa



Figura 8 - Aerogama – visão interna

Após terminar a nebulização, cada indivíduo é imediatamente encaminhado à sala de exames com a finalidade de adquirir imagens e realizar contagens seqüenciais da radioatividade do tórax através de uma gama-câmara de cintilação tipo Anger, modelo Starcam 4000i (GE, EUA), equipada com um colimador de baixa energia e alta resolução. Todos os pacientes são examinados em decúbito dorsal e a medida da radioatividade do $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ é realizada em projeção posterior, ficando o detector posicionado o mais próximo possível da região dorsal do indivíduo examinado. A contagem da radioatividade torácica será realizada a cada 20 segundos, durante um período total de exame de 30 minutos. O sistema de processamento de dados da própria GE Starcam 4000i possibilita o armazenamento das informações obtidas, a partir das quais é possível determinar a taxa de depuração pulmonar do $^{99m}\text{Tc-DTPA}$.



Figura 9 - Paciente nebulizando o radioaerossol



Figura 10 - Gama-câmara GE Starcam 4000i

A partir dos dados armazenados, são definidas duas regiões de interesse: pulmão esquerdo e pulmão direito. O delineamento de cada região de interesse é feito criando-se uma região de interesse (ROI – region of interest) irregular seguindo o contorno de cada campo pulmonar, o mais próximo possível dos limites da atividade visualizada em cada pulmão. Este delineamento é realizado manualmente sob a orientação visual da imagem conforme visto nas figuras 11 e 12.

Para cada região de interesse é gerada uma curva de tempo-atividade através do software do próprio sistema Starcam. Com o propósito de corrigir possíveis erros de medidas das contagens radioativas e construir uma curva ideal, na qual possa ser aplicada a equação para o cálculo da taxa de depuração, sendo, então, realizado um processo de ajuste de curva, seguindo o modelo matemático mais indicado para a função fisiológica em questão e incluindo a correção para o decaimento do ^{99m}Tc . No caso, o modelo empregado para o ajuste é o modelo de ajuste exponencial da curva, realizado automaticamente pelo software. A inclinação negativa de cada uma das curvas é definida, respectivamente, como taxa de

depuração do pulmão esquerdo e pulmão direito e, a partir de seus valores máximos e mínimos, é calculado o $T_{1/2}$.

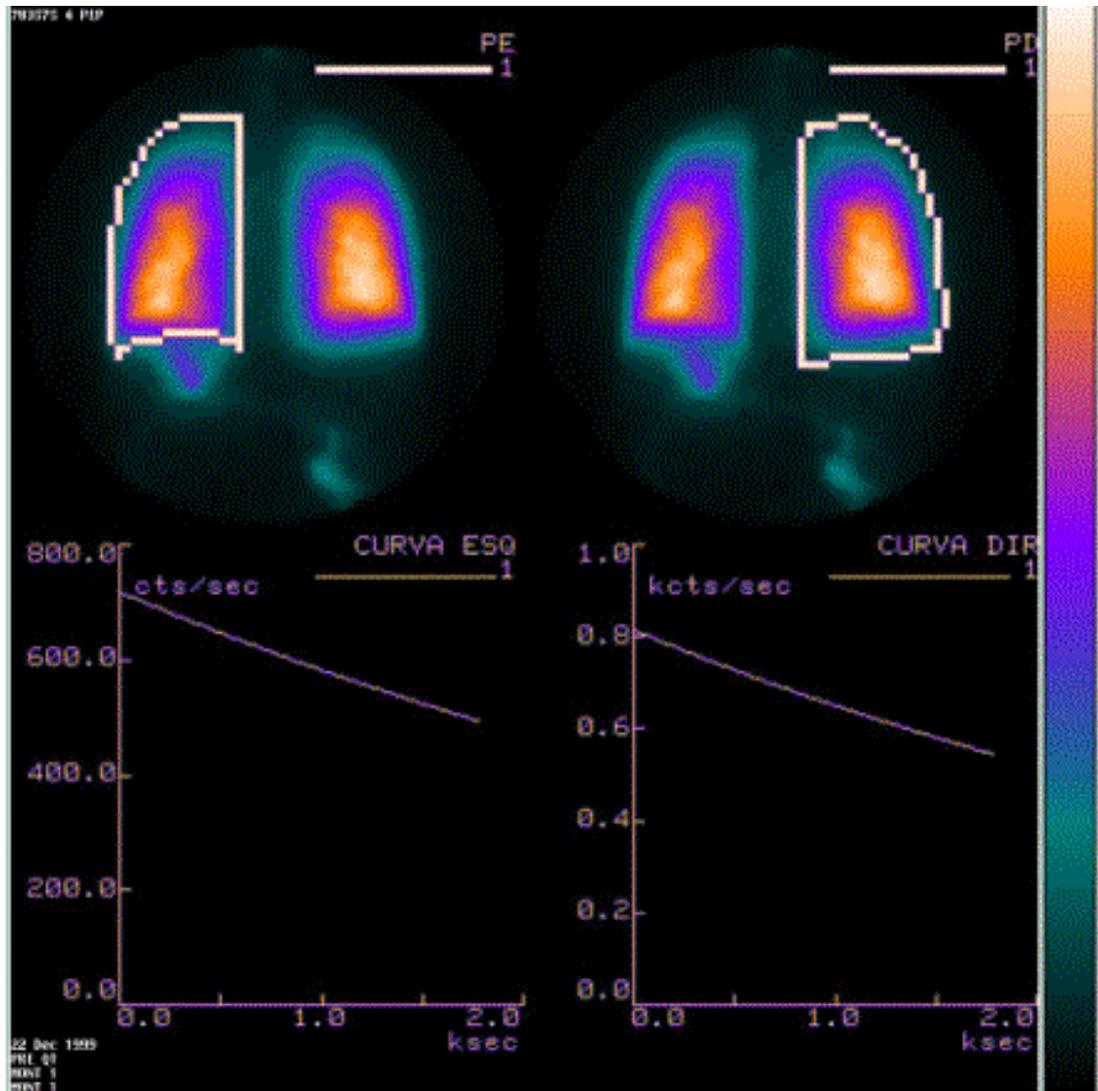


Figura 11 - Regiões de interesse e curvas de decaimento antes do uso de bleomicina.

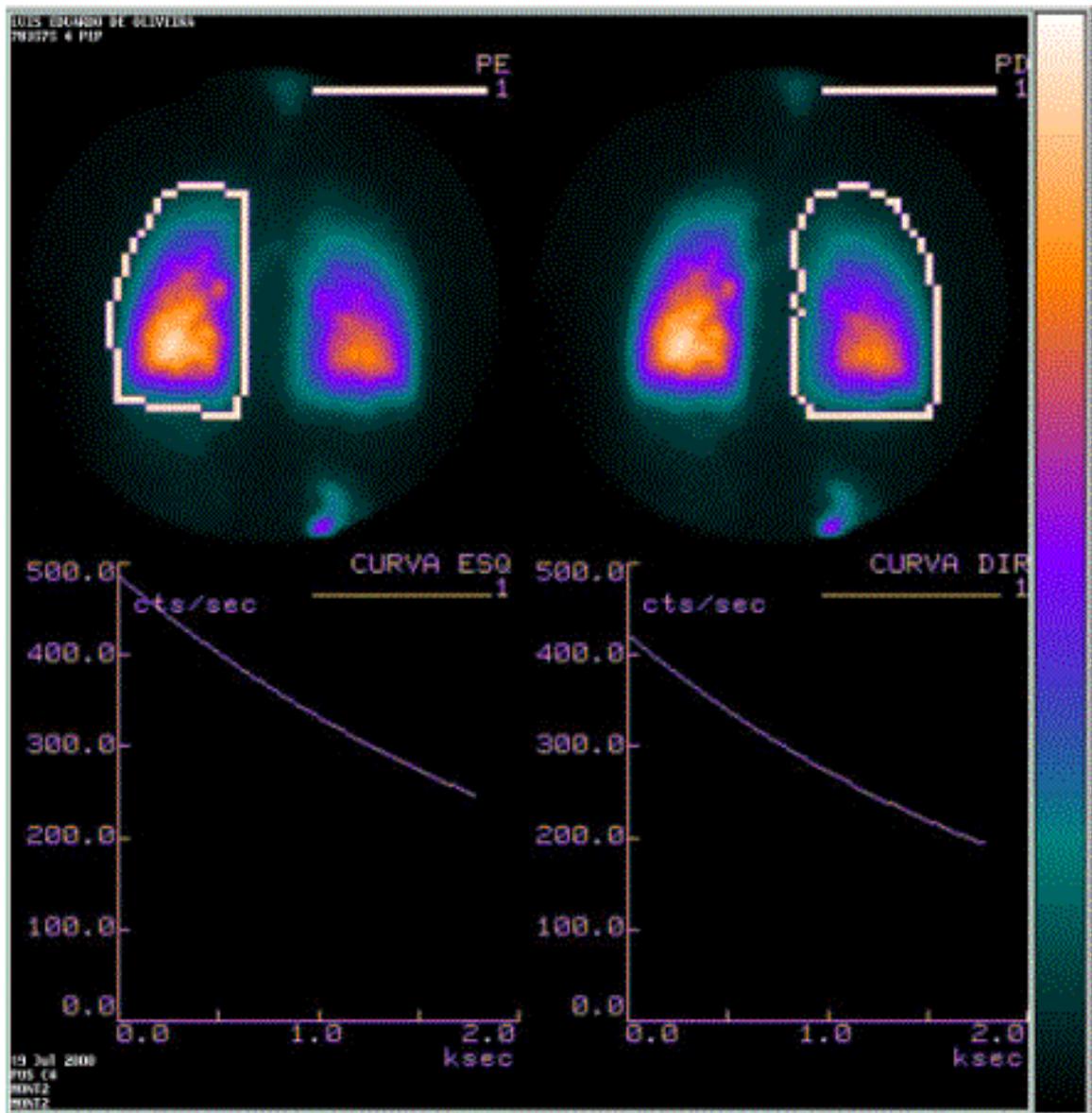


Figura 12 - Regiões de interesse e curvas de decaimento após 360 mg de bleomicina.

3 JUSTIFICATIVA

A bleomicina é parte importante do tratamento da neoplasia de testículo e doença de Hodgkin. Em um estudo com 195 pacientes que haviam recebido BEP, 2 pacientes morreram por toxicidade pulmonar. Entretanto, a bleomicina não pode ser suprimida do esquema de tratamento de pacientes com tumor de testículo, mesmo com bom prognóstico, devido a um maior número de respostas completas obtidas no grupo da bleomicina ($p=.0075$). [4] Oitenta e cinco pacientes com doença de Hodgkin foram tratados com o protocolo COP/ABVD e radioterapia entre maio de 1980 e setembro de 1990. Houve alteração secundária da DLCO em 27 pacientes. Oito, dos 27 pacientes com DLCO alterada, continuavam a apresentar alteração após um ano do tratamento. A sobrevida livre de doença e a sobrevida total do grupo foram de 93% (5%) e 93% (4%) em 5 anos. Esses dados mostram excelentes resultados com a associação de quimioterapia e radioterapia para pacientes com doença de Hodgkin. [5]

A bleomicina possui um efeito antibiótico e antitumoral, produzindo a quebra das hélices de DNA resultante da produção de radicais livres pelo complexo bleomicina – Fe(II). [7] Todo esse processo é dependente da presença de oxigênio e ferro. [6] Existe uma enzima que degrada a bleomicina, a bleomicina hidrolase, que é encontrada em células normais e células tumorais. [6] [7] [32] As maiores concentrações dessa enzima estão nas células endoteliais dos capilares pulmonares e fibroblastos, estando em menor proporção nas células epiteliais do tipo II. [6]

Os achados patológicos nos pacientes com toxicidade pulmonar pela bleomicina são a fibrose intersticial, o espessamento subpleural e a fibrose da pleura, especialmente, da parede posterior. Histologicamente, não existem alterações patognomônicas do dano pulmonar

causado pela bleomicina, sendo o achado mais freqüente as alterações no revestimento epitelial, com as células apresentando alterações em forma e tamanho, um citoplasma abundante e um nucléolo evidente. Sugere-se destruição dos pneumócitos tipo I e II. O septo alveolar encontra-se espessado pelo acúmulo de edema, depósito focal de colágeno e infiltração de células mononucleares. O estágio final é a fibrose pulmonar devido à invasão de fibrina alveolar pelos fibroblastos. [8]

Atualmente, são conhecidos vários fatores predisponentes para a toxicidade pulmonar, sendo os mais freqüentes a idade maior que 70 anos [6] [8] [9] [14] [15] [21] [22] [23], dose cumulativa de bleomicina maior que 450 mg [6] [14] [15] [21] [22] [23] [24], irradiação pulmonar [6] [8] [14] [15] [22] [23] [25] [26] [27], insuficiência renal [6] [8] [13] [15] [22] [24] [28], rota de administração da droga [6] [8] [9] [15] [22] [29], exposição ao oxigênio [6] [8] [14] [15] [21] [22] [24] [27] [28] [30] [31] [32] [33], tabagismo [9] [22], uso de GCSF [22] [24] [35], uso de múltiplos quimioterápicos [8] [15] [18], a reposição exacerbada de volume durante procedimento cirúrgico. [24] Apesar disso, não se pode ainda saber qual paciente desenvolverá a toxicidade pulmonar.

As principais manifestações clínicas são tosse, dispnéia ao exercício físico, evoluindo para dispnéia em repouso, taquipnéia, febre e cianose. Podem ser encontrados crepitanes bibasculares finos, roncos, atrito pleural e retração intercostal. [15] [21] [22] [28] Raramente, ocorre a produção de escarro. As dores subesternal e pleurítica estão presentes em até 20% dos casos. [8]

Existem alterações radiológicas mais freqüentes que são infiltrados bibasais, infiltrado intersticial e alveolar difuso, com posterior consolidação pulmonar. [8] [21] [22] [28] Anormalidades nos seios costo-frênicos podem ser notadas como a primeira manifestação. [8] [15] Podem, ainda, ocorrer espessamento e derrame pleural, simulando outras condições clínicas. Raramente, manifesta-se como nódulos pulmonares simulando doença metastática. [8] [52] [53] [54] [55] [56] [57] Elevação do diafragma é vista em 88% dos casos. [8] [15] Já foram descritos casos de pneumotórax [8] e pneumomediastino espontâneos. [8] [58] Apesar disso, uma radiografia de tórax normal não exclui a presença de dano citotóxico, mas esse achado é muito incomum. [59]

A toxicidade pulmonar da bleomicina, também, foi avaliada por tomografia computadorizada de tórax, mas não existem conclusões definitivas sobre o real papel da tomografia na toxicidade induzida pela bleomicina. [60]

DLCO apresentou ter uma sensibilidade de 16.7% e uma especificidade de 84%. A cada aumento para a sensibilidade, havia aumento de falsos-positivos. [65] Pieter et al. mostraram que a DLCO diminuiu significativamente na semana 30 do tratamento ($p < 0.025$) em pacientes que não haviam desenvolvido sintomas pulmonares e na semana 12 em pacientes sintomáticos ($p < 0.0025$). A VC diminuiu significativamente durante o tratamento, mas normaliza durante o acompanhamento ($p < 0.0025$), podendo ser um reflexo do efeito tóxico na vasculatura pulmonar. [72] Marina et al. descreveram uma queda de DLCO durante os 6 primeiros meses de quimioterapia e que permanecia diminuído 1 ano ($p < 0.001$) e 2 anos ($p = 0.03$) após o diagnóstico, sendo mais um reflexo do dano ao leito vascular. [73]

Vários estudos e relatos de casos mostraram que o corticóide em doses altas pode ser utilizado como tratamento da toxicidade pulmonar instalada, mas ainda continua controverso. [159] [160] [161] [162] Sleijfer recomenda que a droga deve ser descontinuada quando a DLCO diminui 60% do valor basal ou quando o valor cai para menos de 40%. Para Comis, isso deve ocorrer quando o valor da DLCO diminui 40% do valor inicial. [21] Segundo Baehner, não existem parâmetros clínicos sensitivos para a detecção precoce da toxicidade da bleomicina e a droga deve ser suspensa se o valor da DLCO diminui 40% do valor inicial. [27] Para Weiss, a bleomicina deve ser suspensa quando o valor da DLCO apresenta queda de 20% do valor inicial. [28]

Atualmente, não existe um método único capaz de demonstrar completamente a característica da permeabilidade dos componentes da barreira alvéolo-capilar. Existem técnicas que podem avaliar a permeabilidade epitelial e a endotelial. [91] Entre essas técnicas desenvolvidas para medir a permeabilidade epitelial, encontra-se a cintilografia pulmonar com o radioaerossol de dietilenotriaminopentacetato marcado com tecnécio-99m ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$), que foi introduzida por Rinderknecht et al. em 1977. [92] Segundo o painel de consenso do National Heart, Lung and Blood Institute, o $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ é um método altamente sensível para garantir a ausência de lesão epitelial pulmonar. [96]

O interesse no estudo da avaliação da toxicidade pulmonar em pacientes submetidos a esquemas de quimioterapia contendo bleomicina, através da taxa de depuração pulmonar do

^{99m}TC-DTPA, tem uma importância pelo fato de o efeito tóxico mais preocupante ser, sem dúvida, a toxicidade pulmonar, que pode estar presente em 2 – 46% dos pacientes que estão utilizando a droga [6] [8] [12] e a mortalidade por essa complicação variar de 1- 2% dos pacientes [6] [13] [14].

Apesar desses dados, atualmente, não temos um exame que consiga prever qual paciente irá apresentar toxicidade pulmonar pela bleomicina. Também, não existe um consenso em quando suspender a bleomicina durante o tratamento baseando-se nas provas de função pulmonar. O presente estudo tem como proposta definir o papel da cintilografia com Tecnécio-99m-DTPA como um instrumento de diagnóstico precoce e conseqüente redução da incidência da lesão pulmonar pela bleomicina.

4 OBJETIVOS DO ESTUDO

4.1 OBJETIVO GERAL

Estudar a permeabilidade epitelial pulmonar através da taxa de depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA, em pacientes com neoplasia germinativa e doença de Hodgkin submetidos à quimioterapia com bleomicina.

4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Comparar as taxas de depuração do ^{99m}Tc -DTPA com as doses cumulativas da bleomicina.

5 REFERÊNCIAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Schottenfeld D. The epidemiology of cancer: an overview. *Cancer* 1981; 47:1095-1108.
2. Ferlay J, Bray F, Pisani P et al. Parkin. International Agency for Research on Cancer - Globocan 2000: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide, version 1.0, IARC CancerBase No. 5. IARCpress, Lyon 2001
3. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Pathologic basis of disease. WB Saunders Company. 5th Edition. Chapter twenty-two; 1994; 1015p.
4. Wit R, Stoter G, Kaye SB et al. Importance of bleomycin in combination chemotherapy for good-prognosis testicular nonseminoma: a randomized study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Tract Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1997; 15(5):1837-1843.
5. Hudson MM, Greenwald C, Thompson E et al. Efficacy and toxicity of multiagent chemotherapy and low-dose involved-field radiotherapy in children and adolescents with Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1993; 11(1):100-108.
6. Hay J, Shahzeidi S, Laurent G. Mechanisms of bleomycin-induced lung damage. *Arch Toxicol* 1991; 65:81-94.
7. Cheson BD: Pharmacology of Cancer Chemotherapy: Miscellaneous Chemotherapeutic Agents, in De Vita Jr VT, Hellmann S and Rosenberg AS: *Cancer*

- Principles & Practice of Oncology. Lippincott Williams & Wilkins. 6th Edition; 2000-1, 452-459.
8. Jules-Elysee K, White DA. Bleomycin-induced pulmonary toxicity. *Clinics in Chest Med* 1990; 11(1):1-20.
 9. Parvinen LM, Kilkku P, Makinen E et al. Factors affecting the pulmonary toxicity of bleomycin. *Oncology* 1983; 22(6):417-421.
 10. Sausville EA, Peisach J, Horwitz SB. Effect of chelating agents and metal ions on the degradation of DNA by bleomycin. *Biochemistry* 1978; 17(14):2740-2746.
 11. Sausville EA, Stein RW, Peisach J et al. Properties and products of the degradation of DNA by bleomycin and iron(II). *Biochemistry* 1978; 17(14):2746-2754.
 12. Sleijfer S, Van Der Mark TW, Koops HS et al. Decrease in pulmonary function during bleomycin-containing combination chemotherapy for testicular cancer: not only a bleomycin effect. *Br J Cancer* 1995; 71:120-123.
 13. Van Barneveld PWC, Van Der Mark THW, Sleijfer DTH et al. Predictive factors for bleomycin-induced pneumonitis. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130:1078-1081.
 14. Ginsberg SJ, Comis RL. The pulmonary toxicity of antineoplastic agents. *Semin Oncol* 1982; 9(1): 34-51.
 15. Cooper JAD. Drug-induced lung disease. *Adv Intern Med* 1997; 42:231-268.
 16. Balikian JP, Jochelson MS, Bauer KA et al. Pulmonary complications of chemotherapy regimens containing bleomycin. *Am J Roentgen* 1982; 139:455-461.
 17. Ngan HYS, Liang RHS, Lam WK et al. Pulmonary toxicity in patients with non-Hodgkin's lymphoma treated with bleomycin-containing combination chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993; 32:407-409.
 18. Shapiro CL, Yeap BY, Godleski J et al. Drug-related pulmonary toxicity in non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1991; 68:699-705.
 19. Bossi G, Cerveri I, Volpini E et al. Long-term pulmonary sequelae after treatment of childhood Hodgkin's disease. *Ann Oncol* 1997; 8(1):S19-S24.

20. Hansen SW. Late-effects after treatment for germ-cell cancer with cisplatin, vinblastine, and bleomycin. *Dan Med Bull* 1992; 39(5):391-399.
21. Comis RL. Bleomycin pulmonary toxicity: current status and future directions. *Semin Oncol* 1992; 19(2):64-70.
22. Sleijfer S. Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest* 2001; 120:617-624.
23. Hirsch A, Els NV, Straus DJ et al. Effect of ABVD chemotherapy with and without mantle or mediastinal irradiation on pulmonary function and symptoms in early-stage Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 1996; 14:1297-1305.
24. Simpson AB, Paul J, Graham J et al. Fatal bleomycin pulmonary toxicity in the west of Scotland 1991-95: a review of patients with germ cell tumours. *Br J Cancer* 1998; 78(8):1061-1066.
25. Sostman HD, Matthay RA, Putman CE. Cytotoxic drug-induced lung disease. *Am J Med* 1977; 62:608-615.
26. Weiss RB, Muggia FM. Cytotoxic drug-induced pulmonary disease: update 1980. *Am J Med* 1980; 68:259-266.
27. Eigen H, Wyszomierki D. Bleomycin lung injury in children. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1985; 7(1):71-78.
28. Weiss RB. The pulmonary toxicity of antitumor agents. *South-American J Cancer* 1997; 1(1):41-52.
29. Gerson R, Bernal ET, Leon ML et al. Low toxicity with continuous infusion of high-dose bleomycin in poor prognostic testicular cancer. *Am J Clin Oncol* 1993; 16(4):323-326.
30. Ingrassia III TS, Ryu JH, Trastek VF et al. Oxygen-exacerbated bleomycin pulmonary toxicity. *Mayo Clin Proc* 1991; 66:173-178.
31. Jackson RM. Pulmonary oxygen toxicity. *Chest* 1985; 88 (6):900-905.
32. Hande KR. Antitumor antibiotics, epipodophyllotoxins, and vinca alkaloids. *Curr Opin Oncol* 1992; 4:1080-1088.

33. Baniel J, Foster RS, Rowland RG et al. Testis cancer: complications of post-chemotherapy retroperitoneal lymph node dissection. *J Urol* 1995; 153:976-980.
34. Matthews JH. Pulmonary toxicity of ABVD chemotherapy and G-CSF in Hodgkin's disease: possible synergy. *Lancet* 1993; 342:988.
35. Saxman SB, Nichols C, Einhorn LH. Pulmonary toxicity in patients with advanced-stage germ cell tumors receiving bleomycin with and without granulocyte colony stimulating factor. *Chest* 1997; 111:657-660.
36. Kawai K, Hinotsu S, Tomobe M et al. Serum creatinine level during chemotherapy for testicular cancer as a possible predictor of bleomycin-induced pulmonary toxicity. *Jpn J Clin Oncol* 1998; 28(9):546-550.
37. Rabinowits M, Souhami L, Gil RA et al. Increased pulmonary toxicity with bleomycin and cisplatin chemotherapy combinations. *Am J Clin Oncol* 1990; 13(2):132-138.
38. Sleijfer S, Van Der Mark TW, Koops HS et al. Enhanced effects of bleomycin on pulmonary function disturbances in patients with decreased renal function due to cisplatin. *Eur J Cancer* 1996; 32A(3):550-552.
39. Dirix LY, Schrijvers D, Druwe P et al. Pulmonary toxicity and bleomycin. *The Lancet* 1994; 344:56.
40. Bastion Y, Coiffier B. Pulmonary toxicity of bleomycin: is G-CSF a risk factor ? *The Lancet* 1994; 344:474.
41. Andreutti D, Gabbiani G, Neuville P. Early granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expression by alveolar inflammatory cells during bleomycin-induced rat lung fibrosis. *Lab Invest* 1998; 78(12):1493-1502.
42. Santini V, Giles FJ. The potential of amifostine: from cytoprotectant to therapeutic agent. *Haematologica* 1999; 84:1035-1042.
43. Tran PL, Weinbach J, Opolon P et al. Prevention of bleomycin-induced pulmonary fibrosis after adenovirus-mediated transfer of the bacterial bleomycin resistance gene. *J Clin Invest* 1997; 99(4):608-617.

44. Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutrition and Cancer* 2000; 37(1):1-18.
45. Samuels ML, Johnson DE, Holoye PY et al. Large-dose bleomycin therapy and pulmonary toxicity. *JAMA* 1976;235:1117-1120.
46. Iacovino JR, Leitner J, Abbas AK et al. Fatal pulmonary reaction from low doses of bleomycin. *JAMA* 1976; 235:1253-1255.
47. O'Neill TJ, Kardinal CG, Tierney LM. Reversible interstitial pneumonitis associated with low dose bleomycin. *Chest* 1975; 68:265-267.
48. McLeod BF, Lawrence J, Smith DW et al. Fatal bleomycin toxicity from a low cumulative dose in a patient with renal insufficiency. *Cancer* 1987; 60:2617-2620.
49. Sannohe Y, Hirano M, Shirakusa T et al. Fatal interstitial pneumonitis induced by low dosage of bleomycin in an esophageal cancer patient. *Jpn J Surg* 1979; 9(4):366-371.
50. Berchard DE, Fairman RP, DeBlois GG et al. Fatal pulmonary fibrosis from low-dose bleomycin therapy. *South Med J* 1987; 80(5):646-649.
51. Ganick DJ, Peters ME, Hafez GR. Acute bleomycin toxicity. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1980; 2(3):249-252.
52. Talcott JA, Garnick MB, Stomper PC et al. Cavitory lung nodules associated with combination chemotherapy containing bleomycin. *J Urol* 1987; 138:619-620.
53. Cohen MB, Austin JHM, Smith-Vaniz A et al. Nodular bleomycin toxicity. *Am J Clin Pathol* 1989; 92:101-104.
54. Dineen MK, Englander LS, Huben RP. Bleomycin-induced nodular pulmonary fibrosis masquerading as metastatic testicular cancer. *J Urol* 1986; 136:473-475.
55. Santrach PJ, Askin FB, Wells RJ et al. Nodular form of bleomycin-related pulmonary injury in patients with osteogenic sarcoma. *Cancer* 1989; 64:806-811.
56. Habuchi T, Nishimura K, Hida S et al. Pulmonary nodules simulating metastasis of germ cell tumor after aggressive chemotherapy. *Urol Int* 1988; 43:248-252.

57. Zucker PK, Khouri NF, Rosenshein NB. Bleomycin-induced pulmonary nodules: a variant of bleomycin pulmonary toxicity. *Gynecol Oncol* 1987; 28:284-291.
58. Sikdar T, Macvicar D, Husband JE. Pneumomediastinum complicating bleomycin related lung damage. *Br J Radiol* 1998; 71:1202-1204.
59. Sostman HD, Putman CE, Gamsu G. Diagnosis of chemotherapy lung. *Am J Roentgen* 1981; 136:33-40.
60. Cisholm RA, Dixon AK, Willians MV et al. Bleomycin lung: the effect of diferent chemotherapeutic regimens. *Cancer Chemother Pharmacol* 1992; 30:158-160.
61. Rimmer MJ, Dixon AK, Flower DR et al. Bleomycin lung: computed tomographic observations. *Br J Radiol* 1985; 58:1041-1045.
62. Bellamy EA, Husband JE, Blaquiére RM et al. Bleomycin-related lung damage: CT evidence. *Radiology* 1985; 156:155-158.
63. Kuhlman JE. The role of chest computed tomography in the diagnosis of drug-related reactions. *J Thoracic Imaging* 1991; 6(1):52-61.
64. Padley SPG, Adler B, Hansell DM et al. High-resolution computed tomography of drug-induced lung disease. *Clin Radiol* 1992; 46:232-236.
65. McKeage MJ, Evans BD, Atkinson C et al. Carbon monoxide diffusing capacity is a poor predictor of clinically significant bleomycin lung. *J Clin Oncol* 1990; 8(5):779-783.
66. Comis RL. Detecting bleomycin pulmonary toxicity: a continued conundrum. *J Clin Oncol* 1990; 8(5):765-767.
67. Comis RL, Kuppinger MS, Ginsberg SJ et al. Role of single-breath carbon monoxide-diffusing capacity in monitoring the pulmonary effects of bleomycin in germ cell tumors patients. *Cancer Res* 1979; 39:5076-5080.
68. Sorensen PG, Rossing N, Rorth M. Carbon monoxide diffusing capacity: a reliable indicator of bleomycin-induced pulmonary toxicity. *Eur J Dis* 1985; 65:333-340.

69. Luursema PB, Star-Kroesen MA, Van Der Mark TH W et al. Bleomycin-induced changes in the carbon monoxide transfer factor of the lungs and its components. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128:880-883.
70. Bell MR, Meredith DJ, Gill PG. Role of carbon monoxide diffusing capacity in the early detection of major bleomycin-induced pulmonary toxicity. *Aust NZ J Med* 1985; 15:235-240.
71. Pagnoni A, Riboldi G, Valagussa P. Evaluation of lung ventilation and carbon monoxide-diffusing capacity in patients with nonseminomatous testicular tumors treated with bleomycin. *Tumori* 1982; 65:85-89.
72. Van Berneveld PWC, Veenstra G, Sleijfer DTh et al. Changes in pulmonary function during and after bleomycin treatment in patients with testicular cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 1985; 14:168-171.
73. Marina NM, Greenwald CA, Fairclough DL. Serial pulmonary function studies in children treated for newly diagnosed Hodgkin's disease with mantle radiotherapy plus cycles of cyclophosphamide, vincristine, and procarbazine alternating with cycles of doxorubicin, bleomycin, vinblastine, and dacarbazine. *Cancer* 1995; 75:1706-1711.
74. Lewis BM, Izbicki R. Routine pulmonary function tests during bleomycin therapy – tests may be ineffective and potentially misleading. *JAMA* 1980; 243:347-351.
75. Wolkowicz J, Sturgeon J, Rawji M. Bleomycin-induced pulmonary function abnormalities. *Chest* 1992; 101:97-101.
76. Piotti P, Genitoni V, Comazzi R et al. Relationship between pulmonary function tests and morphologic changes in the lung in bleomycin-treated patients. *Tumori* 1984; 70:439-444.
77. Lucraft HH, Wilkinson PM, Stretton et al. Role of pulmonary function test in the prevention of bleomycin pulmonary toxicity during chemotherapy for metastatic testicular teratoma. *Eur J Clin Oncol* 1982; 18(2):133-139.
78. Salloum E, Tanoue LT, Wackers FJTh et al. Assessment of cardiac and pulmonary function in adult patients with Hodgkin's disease treated with ABVD or MOPP /

- ABVD plus adjuvant low-dose mediastinal irradiation. *Cancer Invest* 1999; 17(3):171-180.
79. Lehne G, Johansen B, Fossa SD. Long-term follow-up of pulmonary function in patients cured from testicular cancer with combination chemotherapy including bleomycin. *Br J Cancer* 1993; 68:555-558.
 80. Cooper JAD, Zitnik RJ, Matthey RA. Mechanisms of drug-induced pulmonary disease. *Ann Rev Med* 1988; 39:395-404.
 81. Chandler DB. Possible mechanisms of bleomycin-induced fibrosis. *Clin Chest Med* 1990; 11(1):21-30.
 82. Laskin DL, Pendino KJ. Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35:655-677.
 83. Sleijfer S, Vujaskovic Z, Limburg PC et al. Induction of tumor necrosis factor- α as a cause of bleomycin-related toxicity. *Cancer* 1998; 82:970-974.
 84. Smith RE, Strieter RM, Phan SH et al. TNF and IL-6 mediate MIP-1 α expression in bleomycin-induced lung injury. *J Leukoc Biol* 1998; 64:528-536.
 85. Walsh J, Absher M, Kelley J. Variable expression of platelet-derived growth factor family proteins in acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 9:637-644.
 86. Schwartz DR, Homanics GE, Hoyt DG et al. The neutral cysteine protease bleomycin hydrolase is essential for epidermal integrity and bleomycin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 1999; 96:4680-4685.
 87. Lasky JA, Ortiz LA, Tonthat B et al. Connective tissue growth factor mRNA expression is upregulated in bleomycin-induced lung fibrosis. *Am J Physiol* 1998; 275:L365-L371.
 88. Sterling Jr KM, DiPetrillo TA, Kotch JP et al. Bleomycin-induced increase of collagen turnover in IMR-90 fibroblasts: an *in vitro* model of connective tissue restructuring during lung fibrosis. *Cancer Res* 1982; 42:3502-3506.

89. Sorensen PG, Romer FK, Cortes D. Angiotensin-converting enzyme: an indicator of bleomycin-induced pulmonary toxicity in humans ?. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1984; 20(11):1405-1408.
90. Nussinovitch N, Peleg E, Yaron A et al. Angiotensin converting enzyme in bleomycin-treated patients. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1998; 26(6):310-313.
91. Barrowcliffe MP. Solute permeability of the alveolar capillary barrier. *Thorax* 1987; 42:1-10.
92. Groth S. Pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA. An index of alveolar epithelial permeability. *Danish Med Bulletin*, 1991; 38:189-203
93. Atkins HL, Weber DA, Susskind H et al. MIRD dose estimate report No 16: radiation absorbed dose from Technetium-99m-Diethylenetriaminepentaacetic Acid Aerosol. *J Nucl Med* 1992; 33:9,1717-1719.
94. Krauthammer M, Rinderknecht JF, Taplin GV et al. Enhanced diffusion of small solutes across the pulmonary epithelium in pulmonary fibrosis. *Chest* 1977; 72:3,403.
95. Masson GR, Peters AM, Myers MJ et al. Appropriate background correction for DTPA aerosol clearance. *J Appl Physiol*, 1997; 83(3):1103-1107.
96. Staub NC, Hyde RW, Crandall E. Workshop on techniques to evaluate lung alveolar-microvascular injury. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:1071-1077.
97. Coates G, O'Brodovich H. Measurement of pulmonary epithelial permeability with ^{99m}Tc-DTPA aerosol. *Semin Nucl Med* 1986; 16:275-284.
98. Coates G, O'Brodovich H. Pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA: a noninvasive assessment of epithelial integrity. *Lung* 1987; 165:1-16.
99. Marroni BJ, Araújo H, Ludwig E et al. Depuração alvéolo-capilar com Tc-DTPA: valores normais. 11^a Semana Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil, 1989.

100. Nery LE, Sandoval PRM, Jardim JRB et al. The effects of smoking and silica exposure on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with ^{99m}Tc -DTPA. *Brazilian J Med Biol Res* 1988; 21:223-232.
101. Bennett WD, Ilowite JS. Dual pathway clearance of ^{99m}Tc -DTPA from the bronchial mucosa. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:1132-1138.
102. Coates G, O'Brodovich H. Extrapulmonary radioactivity in lung permeability measurements. *J Nucl Med* 1987; 28:903-906.
103. Parker JA, Coleman RE, Siegel BA et al. Society of nuclear medicine procedure guideline for lung scintigraphy 2.0. *Society of Nuclear Medicine Procedure Guidelines Manual*; 2001-2002: 161-166
104. Groth S, Hermansen F, Rossing N. Pulmonary permeability in never-smokers between 21 and 67 yr of age. *J Appl Physiol* 1989; 67:1,422-428.
105. Isitman AT, Collier BD, Palmer DW. Comparison of technetium-99m pyrophosphate and technetium-99m DTPA aerosols for SPECT ventilation lung imaging. *J Nucl Med* 1988; 29:1761-1767.
106. Inoue T, Shigeta M, Mochizuki H. Effect of inhaled furosemide on lung clearance of technetium-99m-DTPA. *J Nucl Med* 1995; 36:73-77.
107. Menna Barreto SS, Dalcin PT, Marroni BJ et al. Avaliação da Pemeabilidade Pulmonar através da Taxa de Depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA. *J Pneumol* 1991; 20:133-140.
108. Harrison NK, Glanville AR, Strickland B, et al. Pulmonary involvement in systemic sclerosis: the detection of early changes by thin section CT scan, bronchoalveolar lavage and ^{99m}Tc -DTPA clearance. *Respir Med* 1989; 83:403-414.
109. Chopra SK, Taplin GV, Tashkin DP et al. Lung clearance of soluble radioaerosols of molecular weights in systemic sclerosis. *Thorax* 1979; 34:63-67.
110. Falcini F, Pignone A, Mattucci-Cerinic M, et al. Clinical utility of non invasive methods in the evaluation of scleroderma lung in pediatric age. *Scand J Rheumatol* 1992; 21:82-84.

111. Fanti S, De Fabritis A, Aloisi D. Early pulmonary involvement in systemic sclerosis assessed by technetium-99m-DTPA clearance rate. *J Nucl Med* 1994; 35:1933-1936.
112. Wells AU, Hansell DM, Harrison NK. Clearance of inhaled ^{99m}Tc -DTPA predicts the clinical course of fibrosing alveolitis. *Eur Respir J* 1993; 6:797-802.
113. Thunberg S, Larsson K, Eklund A et al. ^{99m}Tc -DTPA clearance measured by a dual head gamma camera in healthy subjects and patients with sarcoidosis. *Eur J Nucl Med* 1989; 15:71-77.
114. Picard C, Meignan M, Rosso J, et al. Technetium-99m DTPA aerosol and gallium scanning in acquired immune deficiency syndrome. *Clin Nucl Med* 1987;12:501-506.
115. Mason GR, Duane GB, Mena I et al. Accelerated solute clearance in *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:864-868.
116. O'Doherty MJ, Page CJ, Bradbeer CS et al. The place of lung ^{99m}Tc DTPA aerosol transfer in the investigation of lung infections in HIV positive patients. *Respir Med* 1989; 83:395-401.
117. Robinson DS, Cunningham DA, Dave S et al. Diagnosis value of lung clearance of ^{99m}Tc DTPA compared with other non-invasive investigations in *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS. *Thorax* 1991; 46:722-726.
118. Rosso J, Guillon JM, Parrot A, et al. Technetium-99m-DTPA aerosol and gallium-67 scanning in pulmonary complications of human immunodeficiency virus infection. *J Nucl Med* 1992; 33:81-87.
119. Jones DK, Higenbottan TW. Pneumocystis pneumonia increases the clearance rate of inhaled ^{99m}Tc DTPA from lung to blood. *Chest* 1985; 88(4):631-632.
120. Megnan M, Guillon JM, Denis M. Increased lung epithelial permeability in HIV-infected patients with isolated cytotoxic T-lymphocytic alveolitis. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:1241-1248.
121. Herve PA, Silbert D, Mensch J. Increases lung clearance of ^{99m}Tc DTPA in allograft lung rejection. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144:1333-1336.

122. Todisco T, Dottorini M, Rossi F et al. Pulmonary epithelial permeability in ARDS and cardiogenic pulmonary oedema. *Eur Respir J* 1988; 1:918-922.
123. Ugur Ö, Caner B, Balbay MD, et al. Bleomycin lung toxicity detected by technetium-99m diethylene triamine penta-acetic aerosol scintigraphy. *Eur J Nucl Med* 1993; 20:114-118.
124. Dalcin PTR. Estudo da depuração pulmonar do radioaerossol de dietilenotriaminopentacetato marcado com tecnécio-99m no lúpus eritematoso sistêmico. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1996.
125. Kennedy SM, Elwood RK, Wiggs BJR et al. Increased airway mucosal permeability of smokers. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129:143-148.
126. Schmekel B, Bos JAH, Khan AR et al. Integrity of the alveolar-capillary barrier and alveolar surfactant system in smokers. *Thorax* 1992; 47:603-608.
127. Nery LE, Florencio RT, Sandoval PRM et al. Additive effects of exposure to silica dust and smoking on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with technetium-99m labelled DTPA. *Thorax* 1993; 48:264-268.
128. Mason GR, Uszler JM, Effros RM et al. Rapidly reversible alterations of pulmonary epithelial permeability induced by smoking. *Chest* 1983; 83 (1):6-11.
129. Minty BD, Royston D. Cigarette smoke induced changes in rat pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA – A comparison of particulate and gas phases. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:1170-1173.
130. Nery LE, Sandoval PRM, Jardim JRB et al. The effects of smoking and silica exposure on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with ^{99m}Tc-DTPA. *Brazilian J Med Biol Res* 1988; 21:223-232.
131. Nolop KB, Maxwell DL, Fleming JS et al. A comparison of ^{99m}Tc-DTPA and ^{113m}Tc-DTPA aerosol clearances in humans – effects of smoking, hyperinflation, and *in vitro* oxidation. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:1112-1116.

132. Witten ML, Lemen RJ, Quan SF et al. Acute cigarette smoke exposure increases alveolar permeability in rabbits. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:321-325.
133. Bradvik I, Wollmer P, Evander E et al. Difference kinetics of lung clearance of technetium-99m labelled diethylene triamine penta-acetic acid in patients with sarcoidosis and smokers. *Eur J Nucl Med* 1994; 21:1218-1222.
134. Chinet T, Dusser D, Labrune S. Lung function declines in patients with pulmonary sarcoidosis and increased respiratory epithelial permeability to ^{99m}Tc-DTPA. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:445-449.
135. Dusser D, Collignon MA, Stanislas-Leguierin G. Respiratory clearance of ^{99m}Tc-DTPA and pulmonary involvement in sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134:493-497.
136. Jacobs PM, Baughman RP, Hughes J et al. Radioaerosol lung clearance in patients with active pulmonary sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131:687-687.
137. Tennenberg SD, Jacobs MP, Solomkin JS et al. Increased pulmonary alveolar-capillary permeability in patients at risk for adult respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 1987; 15(4):289-293.
138. Braude S, Nolop KB, Hughes JMB et al. Comparison of lung vascular and epithelial permeability indices in the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1986; 133:1002-1005.
139. Barrowcliffe MP, Jones JG. Pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA in the diagnosis and evolution of increased permeability pulmonary oedema. *Anaesth Intens Care* 1989; 17:422-432.
140. Coates G, O'Brodvich H, Dolovich M et al. Lung clearance of ^{99m}Tc-DTPA in patients with acute lung injury and pulmonary edema. *J Thorac Imag* 1988; 3(3):21-27.
141. Yates DH, Havill K, Thompson MM et al. Sidestream smoke inhalation decreases respiratory clearance of ^{99m}Tc-DTPA acutely. *Aust NZ J Med* 1996; 26:513-518.

142. Minty BD, Royston D, Jones JG et al. The effect of nicotine on pulmonary epithelial permeability in man. *Chest* 1984; 86:1,72-74.
143. Ishizaka A, Kanazawa M, Suzuki Y et al. Influence of chest background on pulmonary ^{99m}Tc -DTPA clearance in interstitial lung disease. *J Appl Physiol* 1992; 73(5):1820-1824.
144. Sootaek UH, Sang ML, Hyeon TK et al. The clearance rate alveolar epithelium using ^{99m}Tc -DTPA in patients with diffuse infiltrative lung diseases. *Chest* 1994; 106(1):161-165.
145. Schmekel B, Wollmer P, Venge P et al. Transfer of ^{99m}Tc -DTPA and bronchoalveolar lavage findings in patients with asymptomatic extrinsic allergic alveolitis. *Thorax* 1990; 45:525-529.
146. Cheema MS, Groth S, Marriot C. Binding and diffusion characteristics of ^{14}C EDTA and ^{99m}Tc -DTPA in respiratory tract mucus glycoprotein from patients with chronic bronchitis. *Thorax* 1988; 43:669-673.
147. Kao CH, Ho YJ, Wu CL et al. Using ^{99m}Tc -DTPA radioaerosol inhalation lung scintigraphies to detect the lung injury induced by consuming *Sauropus androgynus* vegetable and comparison with conventional pulmonary function tests. *Respiration* 1999; 66:46-51.
148. Mason GR, Peters AM, Myers MJ et al. The effect of inhalation of Platelet-activating Factor on the pulmonary clearance of ^{99m}Tc -DTPA aerosol. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:1621-1624.
149. Belcher NG, Rees PJ. Changes in pulmonary clearance of technetium labelled DTPA during haemodialysis. *Thorax* 1986; 41:381-385.
150. Mousa K, Onadeko BO, Mustafa HT et al. Technetium ^{99m}Tc -DTPA clearance in the evaluation of pulmonary involvement in patients with diabetes mellitus. *Respir Med* 2000; 94:1053-1056.

151. Lin WY, Kao CH, Wang SJ. Detection of acute inhalation injury in fire victims by means of technetium-99m DTPA radioaerosol inhalation lung scintigraphy. *Eur J Nucl Med* 1997; 24:125-129.
152. Susskin H, Rom WN. Lung inflammation in coal miner assessed by uptake of ^{67}Ga -citrate and clearance of inhaled $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled diethylenetriamine pentaacetate aerosol. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146:47-52.
153. Terra Filho M, Meneguetti JC, Cukier A et al. Estudo com radioaerosol de DTPA- $^{99\text{m}}\text{Tc}$ em pacientes portadores de pneumopatia por amiodarona. Resultados preliminares. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1987; 42:78-81.
154. Terra-Filho M, Vargas FS, Meneguetti JC et al. Pulmonary clearance of technetium $^{99\text{m}}$ diethylene triamine penta-acetic acid aerosol in patients with amiodarone pneumonitis. *Eur J Nucl Med* 1990; 17:334-337.
155. Terra Filho M, Meneguetti JC, Cukier A et al. Gallium-67 lung imaging and pulmonary clearance of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA aerosol in patients with amiodarone pneumonitis. *Braz J Med Biol Res* 1996; 29(11):1467-1471.
156. Kaya GÇ, Durak H, Yemez B et al. Technetium-99m DTPA inhalation scintigraphy in patients treated with fluoxetine and maprotiline: preliminary results. *Eur J Nucl Med* 2000; 27(9):1402-1404.
157. O'Doherty MJ, Van De Pette JEW, Page CJ, et al. Pulmonary permeability in hematologic malignancies. Effects of the disease and cytotoxic agents. *Cancer* 1986; 58:1286-1288.
158. Van Barneveld PWC, Sleijfer DTH, Van Der Mark THW et al. Natural course of bleomycin-induced pneumonitis – A follow-up study. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:48-51
159. Brown WG, Hasan FM, Barbee RA. Reversibility of severe bleomycin-induced pneumonitis. *JAMA* 1978; 239:2012-2014.
160. Mather J, Daly PA. Severe bleomycin lung toxicity: reversal with high dose corticoids. *Thorax* 1993; 48:92-94.

161. McCusker K, Dorman RA, Nicholson DP. Reversible pulmonary injury after a small dose of bleomycin. *South Med J* 1983; 76(11):1447-1449.
162. Hartmann LC, Frytak S, Richardson RL. Life-threatening bleomycin pulmonary toxicity with ultimate reversibility. *Chest* 1990; 98:497-499.

6 ARTIGO CIENTÍFICO REDIGIDO EM INGLÊS

**Pulmonary Epithelial Permeability in Patients Treated with Bleomycin Containing
Chemotherapy Detected by Technetium-99m Diethylene Triamine Penta-acetic Acid
Aerosol (^{99m}Tc-DTPA) Scintigraphy**

E. Azambuja¹, M.D.; J.F. Fleck¹, M.D.; S.S. Menna Barreto², M.D.; R. D. Cunha³, M.D.

¹ Department of Clinical Oncology, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

² Pneumology Department, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

³ Department of Nuclear Medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

Corresponding author:

Dr. Evandro de Azambuja

Serviço de Oncologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350

Porto Alegre, RS 90035-003, BRAZIL

e-mail: evandro@hotnet.net phone: 55-51- 3316-8494

Running head: ^{99m}Tc-DTPA in bleomycin lung toxicity.

ABSTRACT

PURPOSE: To test ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy as an indirect method for evaluating lung epithelial membrane damage in patients treated with bleomycin containing regimens.

PATIENTS AND METHODS: Twelve non-smoker chemo-naïve patients with no clinical or radiological evidence of pulmonary disease and treated with bleomycin-based chemotherapy were tested with ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy before the first cycle and every 3 weeks until the third month after the end of chemotherapy (the total cumulative dose of bleomycin being approximately 347.9 mg).

RESULTS: Pretreatment values ($T_{1/2}$ 74.93 minutes) of ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy were significantly higher than those obtained after total dose bleomycin ($T_{1/2}$ 51.00 minutes) ($p < 0.001$). This difference was more important in the latter evaluations, specially on the third week and third month measures after discontinuing treatment ($p < 0.001$). All the tests of Within-Subjects Effects were significant ($p < 0.001$). Comparing pretreatment and post-treatment scintigraphies the mean ^{99m}Tc -DTPA value decreases as the bleomycin dose increases

CONCLUSION: We conclude that cumulative bleomycin doses are related to decrease in pulmonary epithelial permeability at a dose of 256.5 mg, and that based on ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy method bleomycin use is completely safe up to a dose average of 171 mg.

KEY WORDS: pulmonary epithelial permeability, bleomycin, lung toxicity, ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy.

INTRODUCTION

Bleomycin is an antitumoral and antibiotic drug produced by *Streptomyces verticillus* [1], and having been isolated in 1966 by Umezawa et al.[2] It is able to break the DNA double helix by producing free radicals. [1] This process is oxygen and iron dependent.[2]

The most important adverse effect of bleomycin is pulmonary toxicity. This toxicity can occur in 2 to 46% of those patients treated with bleomycin containing chemotherapy [2] [3] [4], and can be fatal in 1 to 2% of these patients. [2] [5] [6] This toxicity was first described in 1972.[7] The predictor factors for pulmonary toxicity are: being over 70 years of age, cumulative bleomycin dose of more than 450 mg, concomitant pulmonary irradiation, renal failure, administration route, oxygen exposure [2], smoke [8], Granulocyte-Colony Stimulating Factor (GCSF) administration [9] and multiple antineoplastic agents. [7] The main symptoms are cough, dyspnea and fever [10]. The most common clinical signs are bilateral rales, tachypnea and cyanosis.[7]

Until now there is no consensus on when bleomycin should be stopped being administered to patients. Sleijfer S recommends that its administration should be stopped when DLCO (Diffusing Capacity of the Lung for Carbon Monoxide) decreases 60% from basal value, or when this value decreases to less than 40%. Comis RL agrees in stopping the prescription of bleomycin after DLCO decreases to less than 40%.[10] For Baehner R there is no sensitive clinical parameter in detecting early signs of bleomycin toxicity, and the drug should be discontinued after DLCO decreases to less than 40%.[11] Weiss RB believes that bleomycin should be stopped after DLCO decreases 20% from basal value.[12] Vital Capacity and Total Lung Capacity decrease during treatment with bleomycin, and should be correlated with clinical signs.[13]

The histological findings in bleomycin toxicity are diffuse alveolar injury, interstitial pneumonia and interstitial pulmonary fibrosis. Some degree of hemosiderin release by macrophages is seen. Ultra structural findings are fibroblasts proliferation, disappearance of type I pneumocytes and proliferation of type II pneumocytes.[14]

There are many methods to evaluate the pulmonary epithelial membrane in animal models. In 1977 Rinderknecht et al. showed that technetium-99m diethylene triamine pentaacetic acid aerosol (^{99m}Tc -DTPA) scintigraphy was a useful, sensitive and cheap method for evaluating the pulmonary epithelial membrane.[15] Taplin and Efros evaluated patients with interstitial pulmonary disease and reported that the clearance of ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy was altered, reflecting impairment in the permeability of alveolo-capilar barrier.¹⁶ The main aim of this study is to evaluate the pulmonary epithelial permeability using ^{99m}Tc -DTPA in patients with germ cell tumor or Hodgkin's disease, treated by bleomycin-containing regimens.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

From April 1999 to February 2002, 12 patients (10 males and 2 females) with testis or ovary germ cell tumor and Hodgkin's disease were treated with bleomycin containing chemotherapy. None of these patients had any other disease or were smokers. They had no evidence of pulmonary disease or pulmonary symptoms 30 days before enrollment, nor had they received prior antineoplastic treatment or thoracic radiation. Patients had Eastern Cooperative Oncology Group performance status of 0 to 2 and gave written informed consent. The mean age of the patients was 28.6 years (range 21-43)

Chemotherapy

Chemotherapy was given according to the BEP and ABVD protocols. In BEP protocol, cisplatin was given at a dosage of 20 mg/m² body surface area over a period of 60 minutes by intravenous infusion on 5 consecutive days (days 1-5), in a 3 week-cycle. Etoposide was given at a dosage of 100 mg/m² body surface area over a period of 60 minutes by intravenous infusion after cisplatin (days 1-5). Bleomycin was given at a dosage of 30 mg (unit) as an intravenous bolus on days 2, 9 and 16, during 2-4 cycles up to a cumulative bleomycin dose of 360 mg. In ABVD protocol, doxorubicin was given at a dosage of 25 mg/m² body surface area as intravenous bolus on days 1 and 15. Bleomycin was given at a dosage of 10 mg/m² body surface area as intravenous bolus on days 1 and 15. Vinblastin was given at a dosage of 6 mg/m² body surface area as intravenous bolus on days 1 and 15, and dacarbazine was given at a dosage of 375 mg/m² body surface area as intravenous bolus on days 1 and 15. The ABVD protocol was given every 4 weeks during 6 months, up to a cumulative bleomycin dose of 215.2 mg.

Aerosol Lung Scintigraphy

^{99m}Tc-DTPA was performed in all patients before chemotherapy, before every new cycle, 3 weeks after stopping treatment and 3 months later. ^{99m}Tc-DTPA was chelated by adding Tc-pertechnetate (^{99m}Tc-O₄⁻ IPEN-TEC, Brazil) to 20 mCi of DTPA (DTPATEC-S, SORIN BIOMEDICA S.p.A., Italy) in 5 ml of normal saline. This solution was placed in the nebulizer reservoir (Aerogama®, Medical, Porto Alegre, RS, Brazil) with an oxygen inflow of 9 litres/minute that was inhaled by the patient for 3 minutes. Next, the patient was placed in supine position over a gamma camera (Starcam 4000i, GE, EUA) and images were obtained every 20 seconds for a 30 minute-period. Two regions of interest were defined: left lung and

right lung, which were computer-drawn manually, and a time-activity curve was constructed. The negative inclination of each curve was defined as the clearance of each lung, by using the maximum and minimum values of the clearance. $T_{1/2}$ was calculated in Excel for Windows software.

Statistics

Data were analyzed by SPSS for Windows (Statistical Package for Social Sciences) and are described as mean and standard deviation. ^{99m}Tc -DTPA clearance before chemotherapy, after each cycle, 3 weeks and 3 months after stopping chemotherapy, was compared one to the other by means of pairwise comparisons and a variance analysis was applied with repeated measures at the 0.05 level. The three patients who received 270 mg of bleomycin didn't perform the same number of ^{99m}Tc -DTPA as the patients who received 360 mg of bleomycin. Whenever this took place, their $T_{1/2}$ ^{99m}Tc -DTPA was obtained by calculating the mean values of the other patients at the moment.

RESULTS

Patients characteristics

Frequencies of age, gender, diagnosis and cumulative bleomycin dose are shown in table 1. Most of the patients were males (10 patients) with testicular cancer (10 cases). There were 2 females (1 patient with ovary germ cell tumor and 1 patient with Hodgkin's disease). The mean age was 28.6 years (range 21-43). None of these patients were smokers or had

pulmonary disease. They had showed no pulmonary symptoms 30 days before enrollment, had received no antineoplastic treatment prior to it, neither thoracic irradiation or thoracic surgery. Renal function was normal in all patients before and during treatment.

Three patients received 270 mg of cumulative bleomycin dose, 1 patient received 215,2 mg of cumulative bleomycin dose and 8 patients received 360 mg of cumulative bleomycin dose.

Aerosol Lung Scintigraphy

All mean values of T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy are shown in table 2. Two patients didn't perform the ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy in one of the scheduled measures, due to compliance problems. Patient number 2 didn't perform the ^{99m}Tc -DTPA after C2 and patient number 5 didn't perform the ^{99m}Tc -DTPA at 3 months after chemotherapy. Every patient performed approximately 6 ^{99m}Tc -DTPA scintigraphies. Three patients received 270 mg of total bleomycin dose and performed 5 ^{99m}Tc -DTPA scintigraphies. A total of 67 ^{99m}Tc -DTPA scintigraphies were performed during the study.

The mean value of T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy before treatment (74.93 (21.23)) was significantly lower than the mean value at the third month after treatment (51.00 (13.48)) ($p < .001$) as shown in table 3 and figure 1. There were no significant alterations in values of T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA before 171 mg of bleomycin. The first decrease observed occurred after the patient received 256.5 mg of bleomycin, which is equivalent to 3 cycles of BEP. This alteration was persistent and progressive until the patient reached 347.9 mg of bleomycin. These alterations were still present three months after stopping treatment.

The pairwise comparisons are shown in table 4. Comparing cycles we can observe that the larger the dose of bleomycin, the bigger the difference among $T_{1/2}^{99mTc-DTPA}$. The decrease begins after the second cycle and is present until the third month after treatment.

All the multivariate tests were highly significant, and were based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means (ANOVA) (table5).

After treatment, only 1 patient presented radiological signs of lung toxicity due to bleomycin. This patient underwent pulmonary biopsy but no pulmonary fibrosis was found. The patient received no corticosteroid therapy and had spontaneous resolution. The other patients had no complications during chemotherapy, and completed the treatment with no problems. At this moment (February 2002) no relapses were described.

DISCUSSION

Bleomycin is an antitumoral antibiotic which can cause pulmonary epithelial injury even in low doses. There are many methods to evaluate the pulmonary epithelial membrane in animals. Nowadays the most used test is DLCO but it should be correlated with clinical and radiological signs. The use of invasive test could help in the diagnosis of pulmonary injury. Bronchoalveolar lavage and pulmonary biopsy can be performed when the diagnosis of pulmonary fibrosis remains questionable with clinical, radiographic, and pulmonary function tests. The mortality rate with an open lung biopsy is less than 1% but it can occurs.

Since 1977, technetium-99m diethylene triamine penta-acetic acid aerosol (^{99m}Tc -DTPA) scintigraphy has been used as a useful, sensitive and cheap method. [15] ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy altered reflect a change in the permeability of alveolo-capilar barrier.[16] This test is a non-invasive method, which can be easily performed many times. ^{99m}Tc -DTPA

scintigraphy can be a diagnostic tool for detecting early pulmonary injury in special clinical conditions, as in monitoring activity of pulmonary disease, and in the differential diagnosis between ARDS and cardiogenic pulmonary edema. [15] [16] [17] [18] [19] [20]

The consensus panel of The National Heart, Lung and Blood Institute concluded that ^{99m}Tc -DTPA is a highly sensitive method for excluding pulmonary epithelial injury. [17]

The clearance of ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy is altered in smokers but becomes normal 1 week after stopping to smoke. [21] [22] [23] [24] [25] [26] [27] Terra-Filho *et al*, showed that there is an alteration in ^{99m}Tc -DTPA in patients using amiodarone, and that this method is useful as an early diagnostic tool. [28] [29] The ^{99m}Tc -DTPA has 100% sensitivity and 80% specificity when compared to ^{67}Ga -citrate, and these altered values become normal 120 days after stopping the intake of amiodarone. [30] ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy can also be altered in patients who are receiving fluoxetine. [31]

Ugur *et al*, evaluated bleomycin pulmonary toxicity using ^{99m}Tc -DTPA. Twenty patients with germ cell tumor were treated with 4 cycles of etoposide, cisplatin e bleomycin. ^{99m}Tc -DTPA was performed before chemotherapy, after 180 mg and after 360 mg of bleomycin, and the values expressed in Kep ($k\%$ of decay min^{-1}) were significantly lower before chemotherapy, when compared to values of 180 mg and 360 mg of bleomycin. The authors concluded that ^{99m}Tc -DTPA can be a useful method to evaluate alveolo capilar injury during treatment with bleomycin, there being a cumulative effect. [32] Despite these results, Van Barneveld *et al* described that ^{99m}Tc -DTPA didn't show late pulmonary complications two years after treating 93 patients having disseminated testicular cancer with bleomycin containing chemotherapy. [33]

Our study differs from the study by Ugur because we performed ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy before every cycle during chemotherapy up to the third month after stopping

treatment. In our study, altered pulmonary epithelial permeability analysed by ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy can be demonstrated after 256.5 mg of bleomycin. After the third cycle of chemotherapy there is a fall in $T_{1/2}^{99m}\text{Tc}$ -DTPA, and this fall is more pronounced after 347.9 mg of bleomycin and is present up to the third month after chemotherapy. These decreases are statistically significant. The bleomycin injury is not perceived by ^{99m}Tc -DTPA until a cumulative dose of 171 mg has been reached.

Based on ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy, it is correct to say that it is safe to use 2 cycles of BEP in patients with testicular cancer. A clinical trial comparing 3 cycles of BEP to 2 cycles of BEP followed by 1 cycle of EP in localized testicular cancer is needed in order to have the most effective treatment without pulmonary complications. As most of these treatments are curative, we should keep in mind the patient's quality of life by preventing late complications. Further studies comparing ^{99m}Tc -DTPA to DLCO are necessary to assure the safest dose of bleomycin and the avoidance of a lung injury before using this method as a standard.

In the future, with the standardization of ^{99m}Tc -DTPA as a diagnostic tool for bleomycin lung toxicity evaluation, the incidence of pulmonary fibrosis can be decreased. The real benefit of ^{99m}Tc -DTPA is to detect pulmonary epithelial membrane damage before clinical or radiological signs and avoid invasive tests and its complications.

REFERENCES

1. Cheson BD: Pharmacology of Cancer Chemotherapy: Miscellaneous Chemotherapeutic Agents, in De Vita Jr VT, Hellmann S and Rosenberg AS: Cancer Principles & Practice of Oncology. Lippincott Williams & Wilkins. 6th Edition; 2000-1: 452-459.
2. Hay J, Shahzeidi S, Laurent G: Mechanisms of bleomycin-induced lung damage. Arch Toxicol 1991; 65:81-94.
3. Sleijfer S, Van Der Mark TW, Koops HS et al: Decrease in pulmonary function during bleomycin-containing combination chemotherapy for testicular cancer: not only a bleomycin effect. Br J Cancer 1995; 71:120-123.
4. Jules-Elysee K, White DA: Bleomycin-induced pulmonary toxicity. Clinics in Chest Med 1990; 11:1-20.
5. Van Barneveld PWC, Van Der Mark THW, Sleijfer DTH et al: Predictive factors for bleomycin-induced pneumonitis. Am Rev Respir Dis 1984; 130:1078-1081.
6. Ginsberg SJ, Comis RL: The pulmonary toxicity of antineoplastic agents. Semin Oncol 1982; 9: 34-51.
7. Cooper JAD. Drug-induced lung disease: Adv Intern Med 1997; 42:231-268.
8. Parvinen LM, Kilkku P, Makinen E et al: Factors affecting the pulmonary toxicity of bleomycin. Oncology 1983; 22:417-421.
9. Saxman SB, Nichols C, Einhorn LH: Pulmonary toxicity in patients with advanced-stage germ cell tumors receiving bleomycin with and without granulocyte colony stimulating factor. Chest 1997; 111:657-660.
10. Comis RL. Bleomycin pulmonary toxicity: current status and future directions. Semin Oncol 1992; 19:64-70.

11. Eigen H, Wyszomierki D. Bleomycin lung injury in children: *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1985; 7:71-78.
12. Weiss RB: The pulmonary toxicity of antitumor agents. *South-American J Cancer* 1997; 1:41-52.
13. Sleijfer S: Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest* 2001; 120:617-624.
14. Sostman HD, Matthay RA, Putman CE: Cytotoxic drug-induced lung disease. *Am J Med* 1977; 62:608-615.
15. Groth S: Pulmonary clearance of ^{99m}Tc -DTPA. An index of alveolar epithelial permeability. *Danish Med Bulletin* 1991; 38:189-203.
16. Barrowcliffe MP: Solute permeability of the alveolar capillary barrier. *Thorax* 1987; 42:1-10.
17. Staub NC, Hyde RW, Crandall E: Workshop on techniques to evaluate lung alveolar-microvascular injury. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:1071-1077.
18. Menna Barreto SS, Dalcin PT, Marroni BJ et al: Rocha PM. Avaliação da Pemeabilidade Pulmonar através da Taxa de Depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA. *J Pneumol* 1994; 20:133-140.
19. Atkins HL, Weber DA, Susskind H et al. MIRD dose estimate report No 16: radiation absorbed dose from Technetium-99m-Diethylenetriaminepentaacetic acid aerosol. *J Nucl Med* 1992; 33:1717-1719.
20. Coates G, O'Brodovich H: Measurement of pulmonary epithelial permeability with ^{99m}Tc -DTPA aerosol. *Semin Nucl Med* 1986; 16:275-284.
21. Nery LE, Florencio RT, Sandoval PRM et al: Additive effects of exposure to silica dust and smoking on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with technetium-99m labelled DTPA. *Thorax* 1993; 48:264-268.

22. Schmekel B, Bos JAH, Khan AR et al: Integrity of the alveolar-capillary barrier and alveolar surfactant system in smokers. *Thorax* 1992; 47:603-608.
23. Nery LE, Florencio RT, Sandoval PRM et al: Additive effects of exposure to silica dust and smoking on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with technetium-^{99m}Tc-DTPA. *Thorax* 1993; 48:264-268.
24. Mason GR, Uszler JM, Effros RM et al: Rapidly reversible alterations of pulmonary epithelial permeability induced by smoking. *Chest* 1983; 83:6-11.
25. Minty BD, Royston D: Cigarette smoke induced changes in rat pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA – A comparison of particulate and gas phases. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:1170-1173.
26. Nery LE, Sandoval PRM, Jardim JRB et al: The effects of smoking and silica exposure on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with ^{99m}Tc-DTPA. *Brazilian J Med Biol Res* 1988; 21:223-232.
27. Witten ML, Lemen RJ, Quan SF et al: Acute cigarette smoke exposure increases alveolar permeability in rabbits. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:321-325.
28. Terra Filho M, Meneguetti JC, Cukier A, et al: Estudo com radioaerossol de DTPA-tecnécio ^{99m} em pacientes portadores de pneumopatia por amiodarona. Resultados preliminares. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1987; 42:78-81.
29. Terra-Filho M, Vargas FS, Meneguetti JC, et al: Pulmonary clearance of technetium ^{99m} diethylene triamine penta-acetic acid aerosol in patients with amiodarone pneumonitis. *Eur J Nucl Med* 1997; 17:334-337.
30. Terra Filho M, Meneguetti JC, Cukier A, et al: Gallium-67 lung imaging and pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA aerosol in patients with amiodarone pneumonitis. *Braz J Med Biol Res* 1996; 29:1467-1471.

31. Kaya GÇ, Durak H, Yemez B et al: Technetium-99m DTPA inhalation scintigraphy in patients treated with fluoxetine and maprotiline: preliminary results. *Eur J Nucl Med* 2000; 27:1402-1404.
32. Ugur Ö, Caner B, Balbay MD, et al: Bleomycin lung toxicity detected by technetium-99m diethylene triamine penta-acetic aerosol scintigraphy. *Eur J Nucl Med* 1984; 20:114-118.
33. Van Barneveld PWC, Sleijfer DTH, Van Der Mark THW et al: Natural course of bleomycin-induced pneumotitis – A follow-up study. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:48-51.

Table 1. Patients characteristics

Patient number	Age	Gender	Diagnosis	Total bleomycin's dose (mg)
1	43	M	Testis	360
2	30	M	Testis	360
3	24	M	Testis	270
4	31	M	Testis	360
5	25	M	Testis	270
6	23	M	Testis	360
7	28	M	Testis	360
8	41	M	Testis	360
9	25	F	Ovary germ cell	360
10	28	M	Testis	360
11	25	M	Testis	270
12	21	F	Hodgkin's disease	215,2

F: female

M: male

Table 2. Values of T $\frac{1}{2}$ $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ scintigraphy

Patient	Before CT	After C1	After C2	After C3	3 weeks later	3 months later
1 RL	75	78	76	82	53	42
LL	132	103	76	86	57	36
2 RL	53	73	ND	43	50.5	27
LL	56	77	ND	45	49	32
3 RL	91	73	94	NN	43	53
LL	92	84	93	NN	41	50
4 RL	63	79	61	71	45	62
LL	82	98	73	82	49	76
5 RL	45	44	74	NN	59	ND
LL	49	48	91	NN	62	ND
6 RL	66	62	29	44	49	24
LL	57	72	37	56	53	27
7 RL	63	47	50	69	55	53
LL	63	50	52	83	63	52
8 RL	37	45	49	50	54	58
LL	92	80	93	93	75	66
9 RL	68	66	70	64	47	64
LL	75	64	67	60	56	64
10 RL	88	99	73	68	64	53
LL	84	92	66	60	65	55
11 RL	84	49	48	NN	27	54
LL	93	51	53	NN	26	64
12 RL	98	61	104	72	38	51
LL	93	65	125	67	50	59

CT: chemotherapy; C1: first cycle; C2: second cycle; C3: third cycle; LL: left lung; ND: not done; NN: not necessary; RL: right lung

Table 3. Mean value of T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy

^{99m}Tc -DTPA (time)	Mean Bleomycin's doses	Mean T $\frac{1}{2}$	Standard Deviation	95 % Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
Before CT	0 mg	74.93	21.23	65.96	83.89
After C1	85.5 mg	69.14	17.96	61.56	76.73
After C2	171 mg	70.62	22.03	61.32	79.93
After C3	256.5 mg	66.40 ^a	13.01	60.90	71.89
3 weeks later	347.9 mg	51.27 ^b	11.34	46.48	56.06
3 months later	347.9 mg	51.00 ^b	13.47	45.30	56.69

^ap=.003 ^bp<.001

Tabela 4. Pairwise Comparisons

(I) Factor1	(J) Factor1	Mean difference (I-J)	Standard error	Significance ^a	95% Confidence Interval for Difference	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	5.784	3.830	.145	-2.140	13.707
	3	4.302	4.795	.379	-5.617	14.222
	4	8.529	3.647	.028	.984	16.074
	5	23.655	5.258	.000	12.779	34.531
	6	23.930	4.730	.000	14.145	33.715
2	1	-5.784	3.830	.145	-13.707	2.140
	3	-1.481	5.090	.774	-12.010	9.048
	4	2.745	3.942	.493	-5.409	10.900
	5	17.871	3.850	.000	9.907	25.836
	6	18.146	4.676	.001	8.474	27.819
3	1	-4.302	4.795	.379	-14.222	5.617
	2	1.481	5.090	.774	-9.048	12.010
	4	4.227	4.343	.341	-4.758	13.212
	5	19.353	4.853	.001	9.313	29.392
	6	19.627	4.542	.000	10.231	29.024
4	1	-8.529	3.647	.028	-16.074	-.984
	2	-2.745	3.942	.493	-10.900	5.409
	3	-4.227	4.343	.341	-13.212	4.758
	5	15.126	3.093	.000	8.727	21.524
	6	15.401	2.718	.000	9.778	21.024
5	1	-23.655	5.258	.000	-34.531	-12.779
	2	-17.871	3.850	.000	-25.836	-9.907
	3	-19.353	4.853	.001	-29.392	-9.313
	4	-15.126	3.093	.000	-21.524	-8.727
	6	.275	3.640	.940	-7.254	7.804
6	1	-23.930	4.730	.000	-33.715	-14.145
	2	-18.146	4.676	.001	-27.819	-8.474
	3	-19.627	4.542	.000	-29.024	-10.231
	4	-15.401	2.718	.000	-21.024	-9.778
	5	-.275	3.640	.940	-7.804	7.254

Based on estimated marginal means

* The mean difference is significant at the level.05

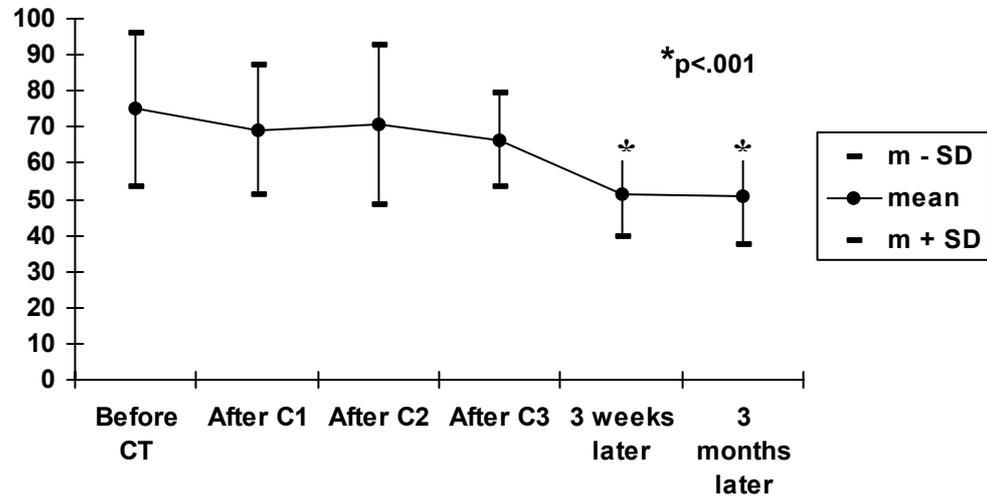
a Adjustment for multiple comparisons: least significant difference (equivalent to no adjustments).

Table 5. Multivariate tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	.649	8.605 ^a	5	19	<.001
Wilks' lambda	.306	8.605 ^a	5	19	<.001
Hotelling's trace	2.264	8.605 ^a	5	19	<.001
Roy's largest root	2.264	8.605 ^a	5	19	<.001

Each F tests the multivariate effect of FACTOR1. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

^a. Exact statistic

T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA**Fig 1. Mean value of T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy**

7 VERSÃO EM PORTUGUÊS DO ARTIGO

Avaliação da Permeabilidade Epitelial Pulmonar em Pacientes Submetidos a Esquemas de Quimioterapia Contendo Bleomicina através da Taxa de Depuração Pulmonar do ^{99m}Tc-DTPA.

Azambuja E¹, Fleck JF¹, Menna Barreto SS², Cunha R³

¹ Serviço de Oncologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

² Serviço de Pneumologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

³ Serviço de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Correspondência ao autor

Dr. Evandro de Azambuja

Serviço de Oncologia - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2350

Porto Alegre, RS 90035-003, BRASIL

e-mail: evandro@hotmail.com Telefone 51- 3316-8494

SUMÁRIO

PROPOSTA: Testar a cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA como um método indireto de avaliar o dano à membrana epitelial pulmonar em pacientes tratados com regimes contendo bleomicina.

PACIENTES E MÉTODOS: Doze pacientes não-tabagistas, sem quimioterapia prévia, sem sinais radiológicos ou achados clínicos de doença pulmonar e que foram tratados com quimioterapia contendo bleomicina, foram avaliados com cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA antes do início do tratamento, a cada 3 semanas e 3 meses após o término de quimioterapia (dose total acumulada de bleomicina aproximada de 347.9 mg).

RESULTADOS: os valores pré-tratamento da ^{99m}Tc -DTPA ($T_{1/2}$ 74.93 minutos) foram significativamente maiores do que aqueles obtidos após a dose total de bleomicina ($T_{1/2}$ 51.00 minutos) ($p < 0.001$). Essa diferença foi mais importante nas últimas avaliações, especialmente, nas medidas da terceira semana e 3 meses após o tratamento ($p < 0.001$). Todos os testes Within-Subjects Effects foram estatisticamente significantes ($p < 0.01$). Comparando os valores da cintilografia pré-tratamento e pós-tratamento, o valor médio diminuiu à medida que a dose de bleomicina aumentou.

CONCLUSÃO: Conclui-se que as doses cumulativas de bleomicina estão relacionadas com a alteração da permeabilidade epitelial pulmonar, com uma dose média de 256.5 mg baseado na cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA, o uso da bleomicina é completamente seguro até a dose cumulativa de 171 mg.

Palavras-chave: Permeabilidade epitelial pulmonar, Toxicidade pulmonar por bleomicina, cintilografia ^{99m}Tc -DTPA.

ABSTRACT

PURPOSE: To test ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy as an indirect method for evaluating lung epithelial membrane damage in patients treated with bleomycin containing regimens.

PATIENTS AND METHODS: Twelve non-smokers chemo-naïve patients with no clinical or radiological evidence of pulmonary disease treated with bleomycin-based chemotherapy were tested with ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy before the first cycle and every 3 weeks until the third month after the end of chemotherapy (bleomycin's total cumulative dose approximately 347.9 mg).

RESULTS: Pretreatment values ($T_{1/2}$ 74.93 minutes) of ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy were significantly higher than those obtained after total dose bleomycin ($T_{1/2}$ 51.00 minutes) ($p < 0.001$). This difference was more important in the latest evaluations specially on the third week and third month measures after stopping treatment ($p < 0.001$). All the tests of Within-Subjects Effects were significant ($p < 0.001$). Comparing pretreatment and post-treatment scintigraphies the mean ^{99m}Tc -DTPA value decreases as the bleomycin dose increases

CONCLUSION: We conclude that cumulative bleomycin doses are related to decrease in pulmonary epithelial permeability at an average the dose of 256.5 mg and that based on ^{99m}Tc -DTPA scintigraphy method bleomycin use is completely safe up to an average dose of 171 mg.

INTRODUÇÃO

A bleomicina é uma droga antibiótica e antitumoral produzida pelo *Streptomyces verticillus* [1] e foi isolada por Umezawa et al., em 1966. [2] Possui a capacidade de quebrar a dupla hélice do DNA, produzindo radicais livres pelo complexo bleomicina - ferro(II). [1] Esse processo é dependente de oxigênio e ferro. [2]

O efeito adverso mais importante da bleomicina é a toxicidade pulmonar. Essa toxicidade pode ocorrer em 2 a 46% dos pacientes que são tratados com esquemas contendo a bleomicina [2] [3] [4] e pode ser fatal em 1 a 2% desses pacientes. [2] [5] [6] Essa toxicidade foi descrita pela primeira vez em 1972. [7] Os fatores predisponentes para essa toxicidade são idade maior que 70 anos, dose cumulativa de bleomicina maior que 450 mg, irradiação pulmonar concomitante, insuficiência renal, via de administração, exposição ao oxigênio, [2] tabagismo, [8] administração de GCSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor), [9] e o uso de múltiplos agentes antineoplásicos. [7] Os principais sintomas são tosse, dispnéia e febre. [10] Os sinais clínicos mais comuns são crepitações bilaterais, taquipnéia e cianose. [7]

Até o momento, não existe consenso a respeito de quando a bleomicina deve ser suspensa. Sleijfer recomenda que a bleomicina deva ser suspensa quando a DLCO (Diffusing Capacity of the Lung for Carbon Monoxide) diminuir 60% do valor basal ou quando o seu valor diminuir para menos de 40%. Comis concorda em suspender a bleomicina após o valor da DLCO diminuir para menos de 40%. [10] Para Baehner, não existe parâmetro clínico sensível em detectar precocemente os sinais da toxicidade da bleomicina e, nesse caso, a droga deve ser suspensa após o valor da DLCO diminuir para menos de 40%. [11] Weiss acredita que a bleomicina deva ser suspensa após o valor da DLCO diminuir 20% do valor basal. [12] As capacidades vital e a pulmonar total diminuem durante o tratamento com a bleomicina e devem ser correlacionadas com sinais clínicos. [13]

Os achados histológicos na toxicidade pulmonar pela bleomicina são dano alveolar difuso, pneumonia intersticial e fibrose pulmonar intersticial. Algum grau de liberação de hemossiderina pelos macrófagos pode ser vista. Achados ultra-estruturais são a proliferação de fibroblastos, o desaparecimento de pneumócitos do tipo I e proliferação dos pneumócitos tipo II. [14]

Existem muitos métodos para avaliar a membrana epitelial pulmonar em modelos animais. Rinderknecht et al, em 1977, mostraram que a cintilografia com technetium-99m diethylene triamine penta-acetic acid ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$) era um método útil, sensível e barato para avaliar a membrana epitelial pulmonar. [15] Taplin e Efros avaliaram pacientes com doença pulmonar intersticial e relataram que a depuração da cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ estava alterada, refletindo prejuízo na permeabilidade da barreira alvéolo-capilar. [16] O objetivo principal deste estudo é avaliar a permeabilidade epitelial pulmonar utilizando a cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ em pacientes com tumores de células germinativas ou doença de Hodgkin, tratados com regimes quimioterápicos que contenham bleomicina.

PACIENTES E MÉTODOS

Pacientes

De abril de 1999 a fevereiro de 2002, 12 pacientes (10 homens e 2 mulheres) com tumor germinativo de testículo e ovário ou Doença de Hodgkin foram tratados com esquemas quimioterápicos contendo bleomicina. Nenhum dos pacientes apresentava doenças associadas, não eram tabagistas, não haviam recebido quimioterapia ou radioterapia prévias, não tinham sintomas respiratórios nos 30 dias anteriores ao início do estudo e não haviam sido submetidos a cirurgia torácica. Exceto bleomicina, nenhum quimioterápico recebido causaria toxicidade pulmonar. Os pacientes apresentavam Eastern Cooperative Oncology Group

performance status de 0 de 2 e assinaram o consentimento informado. A idade média desses pacientes foi de 28.6 anos (21 – 43 anos).

Quimioterapia

Quimioterapia foi administrada conforme os protocolos BEP e ABVD. Para BEP, cisplatina era administrada na dose de 20 mg/m², intravenosa, em 1 hora nos dias 1 – 5. Etoposide na dose de 100 mg/m², intravenoso, em 1 hora nos dias 1 – 5 e bleomicina 30 unidades, intravenosa, em bolus nos dias 2, 8, 15 com ciclos a cada 3 semanas por 3 – 4 ciclos e dose total de 360 mg de bleomicina. Para o protocolo ABVD, doxorrubicina na dose de 25 mg/m², intravenosa, em bolus nos dias 1 e 15. Bleomicina na dose de 10 mg/m², intravenosa, em bolus nos dias 1 e 15. Vinblastina na dose de 6 mg/m², intravenosa, em bolus nos dias 1 e 15. Dacarbazina na dose de 375 mg/m², intravenosa, em infusão de 1 hora nos dias 1 e 15 com ciclos a cada 28 dias por um total de 6 ciclos e dose total de bleomicina de 215.2 mg

Cintilografia Ventilatória

Os pacientes realizavam cintilografia com ^{99m}Tc-DTPA antes de iniciar a quimioterapia, antes de iniciar um novo ciclo, 3 semanas e 3 meses após completar a quimioterapia. O ^{99m}Tc-DTPA era preparado através da adição do ^{99m}Tc-pertecnetato (^{99m}Tc-O₄⁻ IPEN-TEC, Brasil) ao DTPA (DTPATEC-S, SORIN BIOMEDICA S.p.A., Itália). Uma dose de 740 MBq (20 mCi) de ^{99m}Tc-O₄⁻ era acrescentada a solução salina 0,9% até totalizar 5 ml, constituindo a solução a ser nebulizada. O radioaerossol era administrado através da inalação pulmonar de aerossóis radioativos (Aerogama®, Medical, Porto Alegre, RS, Brasil), sendo utilizado um fluxo contínuo de 9 l/min de oxigênio com duração de 3 minutos e com o paciente em posição sentada, ventilando lentamente em volume de ar corrente. Após, cada indivíduo era colocado em decúbito dorsal em uma gama-câmara de cintilação tipo Anger, modelo Starcam

4000i (GE, EUA). A contagem da radioatividade torácica era realizada a cada 20 segundos, durante um período total de exame de 30 minutos. Duas regiões de interesse eram definidas: pulmão esquerdo e pulmão direito sendo gerada uma curva de tempo-atividade. Era utilizado o modelo de ajuste exponencial da curva. A inclinação negativa de cada uma das curvas definia-se como taxa de depuração do pulmão esquerdo e pulmão direito e, a partir de seus valores máximos e mínimos, calculava-se o $T_{1/2}$. A estabilidade da ligação do $^{99m}\text{Tc-O}_4^-$ ao DTPA, na preparação resultante, era superior a 98%, sendo avaliada por cromatografia em camada delgada.

Análise estatística

Os dados foram analisados no programa SPSS for Windows versão 6.0 (Statistical Package for Social Sciences) e foram descritos como média e desvio padrão. Para observar se houve diferenças estatísticas significantes entre taxa de depuração pulmonar do $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ antes, após cada ciclo de quimioterapia e 3 semanas e 3 meses após a quimioterapia, os dados foram comparados entre si, por análise de variância para medidas repetidas e comparações múltiplas pelo teste das diferenças mínimas significativas com um nível de significância de 5%. Três pacientes receberam 270 mg de bleomicina e não realizaram o mesmo número de cintilografias que aqueles pacientes que receberam 360 mg de bleomicina. Nesses casos, os valores foram obtidos pela média dos valores dos outros pacientes naquele momento.

RESULTADOS

As frequências de idade, sexo, diagnóstico e dose cumulativa de bleomicina são apresentadas na tabela 1. A maioria dos pacientes era do sexo masculino (10 pacientes) e com tumor de testículo (10 pacientes); Havia 2 mulheres (1 com tumor germinativo de ovário e 1

com doença de Hodgkin). A média de idade foi de 28.6 anos (21 - 43 anos). Nenhum desses pacientes era tabagista ou portador de doença pulmonar. Também, não tinham sintomas pulmonares nos 30 dias anteriores ao estudo ou recebido quimioterapia ou radioterapia prévias, bem como não foram submetidos à cirurgia torácica. A função renal era normal em todos os pacientes antes e durante o tratamento.

Três pacientes receberam 270 mg de dose total de bleomicina, 1 paciente recebeu 215,2 mg de dose total e 8 receberam 360 mg de dose total de bleomicina.

Cintilografia Ventilatória

Todos os valores individuais dos $T \frac{1}{2}$ da ^{99m}Tc -DTPA são mostrados na tabela 2. Dois pacientes não realizaram a cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA no tempo programado por problemas de adesão. O paciente número 2 não realizou ^{99m}Tc -DTPA após o C2 e o paciente número 5 não realizou a ^{99m}Tc -DTPA no terceiro mês após o término do tratamento. Cada paciente realizou aproximadamente 6 cintilografias com ^{99m}Tc -DTPA. Três pacientes receberam 270 mg de dose total de bleomicina e realizaram 5 cintilografias. Um total de 67 cintilografias com ^{99m}Tc -DTPA foram realizadas durante o tratamento.

O valor médio do $T \frac{1}{2}$ da ^{99m}Tc -DTPA antes do tratamento [74.93 (21.23)] foi significativamente maior do que no terceiro mês pós-tratamento [51.00 (13.480)] $p < .001$ como mostrado na tabela 3 e na figura 1. Até a dose cumulativa de 171 mg de bleomicina, não houve alterações nos valores do $T \frac{1}{2}$ da ^{99m}Tc -DTPA. A primeira diminuição é observada após o paciente receber 256.5 mg de dose total de bleomicina, o que é equivalente a 3 ciclos de BEP. Essa alteração é persistente e progressiva até o paciente atingir 347.9 mg de dose total de bleomicina. Três meses após o término do tratamento, ainda permaneceram essas alterações.

As análises de comparações múltiplas são evidenciadas na tabela 4. Comparando-se um ciclo com os posteriores, é possível observar que, quanto maior a dose de bleomicina mais pronunciada torna-se a diferença entre os valores de $T_{1/2}$ da ^{99m}Tc -DTPA. Essa diminuição inicia-se após o segundo ciclo e continua até o terceiro mês após o tratamento.

Todos os testes multivariados foram altamente significativos e foram realizados pelo método de ANOVA de medidas repetidas (tabela 5).

Após o tratamento, somente um paciente apresentou quadro radiológico compatível com toxicidade pulmonar por bleomicina. Esse paciente foi submetido a biópsia pulmonar, o que não confirmou o quadro de fibrose pulmonar. Ele não recebeu terapia com corticóide e apresentou resolução espontânea do quadro. Todos os outros pacientes não tiveram complicações durante a quimioterapia e completaram o tratamento sem problemas. Até o presente momento (fevereiro 2002), não foram descritas recidivas tumorais.

DISCUSSÃO

A bleomicina é um antibiótico antitumoral que pode causar dano epitelial pulmonar mesmo em doses baixas. Existem muitos métodos para avaliar a permeabilidade membrana epitelial pulmonar em animais. Atualmente, o teste mais utilizado é a DLCO, mas este teste deve ser correlacionado com sinais clínicos e radiológicos. A utilização de testes invasivos pode ajudar no diagnóstico de lesão pulmonar. O lavado bronco-alveolar e a biópsia pulmonar podem ser realizados quando o diagnóstico de fibrose pulmonar fica duvidoso com sinais clínicos, radiológicos e as provas de função pulmonar. A mortalidade com biópsia a céu aberto é menor que 1% mas pode acontecer.

Desde de 1977, technetium-99m diethylene triamine penta-acetic acid aerosol (^{99m}Tc -DTPA) vem sendo utilizado como um método útil, sensível e barato. [15] Quando existe uma

alteração na permeabilidade da barreira alvéolo capilar, ela está presente na cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$. [16] Existe muito interesse nesse método, pois é não-invasivo e pode ser repetido muitas vezes. A cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ pode ser uma ferramenta diagnóstica para detectar lesão pulmonar precoce em situações clínicas, tais como durante a monitorização da atividade da doença pulmonar e no diagnóstico diferencial entre a síndrome da angústia respiratória aguda e o edema pulmonar cardiogênico. [15] [17] [18] [19] [20]

Segundo o painel de consenso do The National Heart, Lung and Blood Institute, a cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ é um método altamente sensível para excluir a lesão epitelial pulmonar. [17]

A depuração da cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ é alterada em tabagistas e retorna ao normal em 1 semana após cessar o hábito de fumar. [21] [22] [23] [24] [25] [26] [27] Terra-Filho et al. demonstraram que existe alteração na cintilografica com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ em pacientes que utilizam amiodarona; e que esse método é útil para o diagnóstico precoce dessa pneumopatia. [28] [29] A cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ tem uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 80% quando comparada à $^{67}\text{Ga-citrate}$, sendo que e esses valores alterados retornam ao valor normal em 120 dias após a suspensão da droga. [30] A cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ pode, também, estar alterada em pacientes que estão utilizando fluoxetina. [31]

Ugur et al. avaliaram a toxicidad epulmonar pela bleomicina através da cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$. Foram avaliados 20 pacientes com tumor de células germinativas que haviam sido tratados com 4 ciclos de etoposide, cisplatina e bleomicina. A cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ foi realizada antes da quimioterapia, após o paciente ter recebido 180 mg e 360 mg de bleomicina. Os resultados foram expresos em Kep ($k\%$ decaimento min^{-1}) e os valores foram estatisticamente menores antes da quimioterapia se comparados com 180 mg e 360 mg de bleomicina. Os autores concluíram que a cintilografia com $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ pode ser um método

útil para avaliar o dano da barreira alvéolo-capilar durante o tratamento com bleomicina e que existe um efeito cumulativo da droga. [32] Van Barneveld et al. estudaram as complicações pulmonares tardias em 93 pacientes com tumor de testículo disseminado e que foram tratados com esquemas quimioterápicos contendo bleomicina. Não foram observadas alterações na cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA nos pacientes que foram avaliados após 2 anos de uso da droga. [33]

O presente estudo é diferente do estudo de Ugur porque a cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA foi realizada após cada ciclo de quimioterapia (90, 180, 270 e 360 mg de bleomicina) até o terceiro mês após o término do tratamento. No presente estudo, a permeabilidade epitelial pulmonar alterada, quando analisada pela cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA, pode ser observada após o paciente ter recebido 256.5 mg de bleomicina. Após o terceiro ciclo de quimioterapia, existe uma queda no $T \frac{1}{2}$ da cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA. Essa queda torna-se mais importante após 347.9 mg de bleomicina, permanecendo até o terceiro mês após o término do tratamento. Essas alterações são estatisticamente significativas. O dano pela bleomicina não é demonstrado pela cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA até que a dose cumulativa de 171 mg seja alcançada.

Com esses dados, é correto afirmar que 2 ciclos de BEP são completamente seguros nos pacientes com neoplasia de testículo. Estudos clínicos comparando 3 ciclos de BEP a 2 ciclos de BEP seguido de 1 ciclo de EP, em pacientes com neoplasia localizada de testículo, são necessários para que possamos ter o melhor tratamento disponível sem complicações pulmonares. Muitos desses tratamentos possuem a intenção de cura dos pacientes e deve-se levar em consideração a qualidade de vida desses pacientes tratados, não somente durante o tratamento, mas a longo prazo. Outros estudos comparando a cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA e DLCO são necessários para que esse método seja utilizado com padrão para diagnóstico de lesão pulmonar precoce pela bleomicina e evitar o quadro de fibrose pulmonar.

No futuro, com a padronização da cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA como uma ferramenta diagnóstica para a avaliação da toxicidade pulmonar pela bleomicina, a incidência de fibrose pulmonar poderá diminuir. O real benefício da cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA é detectar o dano à membrana epitelial pulmonar antes dos sinais clínicos e radiológicos, evitando testes invasivos e suas complicações.

REFERÊNCIAS

1. Cheson BD: Pharmacology of Cancer Chemotherapy: Miscellaneous Chemotherapeutic Agents, in De Vita Jr VT, Hellmann S and Rosenberg AS: Cancer Principles & Practice of Oncology. Lippincott Williams & Wilkins. 6th Edition; 2000-1: 452-459.
2. Hay J, Shahzeidi S, Laurent G: Mechanisms of bleomycin-induced lung damage. Arch Toxicol 1991; 65:81-94.
3. Sleijfer S, Van Der Mark TW, Koops HS et al: Decrease in pulmonary function during bleomycin-containing combination chemotherapy for testicular cancer: not only a bleomycin effect. Br J Cancer 1995; 71:120-123.
4. Jules-Elysee K, White DA: Bleomycin-induced pulmonary toxicity. Clinics in Chest Med 1990; 11:1-20.
5. Van Barneveld PWC, Van Der Mark THW, Sleijfer DTH et al: Predictive factors for bleomycin-induced pneumonitis. Am Rev Respir Dis 1984; 130:1078-1081.
6. Ginsberg SJ, Comis RL: The pulmonary toxicity of antineoplastic agents. Semin Oncol 1982; 9: 34-51.
7. Cooper JAD. Drug-induced lung disease: Adv Intern Med 1997; 42:231-268.
8. Parvinen LM, Kilkku P, Makinen E et al: Factors affecting the pulmonary toxicity of bleomycin. Oncology 1983; 22:417-421.
9. Saxman SB, Nichols C, Einhorn LH: Pulmonary toxicity in patients with advanced-stage germ cell tumors receiving bleomycin with and without granulocyte colony stimulating factor. Chest 1997; 111:657-660.
10. Comis RL. Bleomycin pulmonary toxicity: current status and future directions. Semin Oncol 1992; 19:64-70.

11. Eigen H, Wyszomierki D. Bleomycin lung injury in children: *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1985; 7:71-78.
12. Weiss RB: The pulmonary toxicity of antitumor agents. *South-American J Cancer* 1997; 1:41-52.
13. Sleijfer S: Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest* 2001; 120:617-624.
14. Sostman HD, Matthay RA, Putman CE: Cytotoxic drug-induced lung disease. *Am J Med* 1977; 62:608-615.
15. Groth S: Pulmonary clearance of ^{99m}Tc -DTPA. An index of alveolar epithelial permeability. *Danish Med Bulletin* 1991; 38:189-203.
16. Barrowcliffe MP: Solute permeability of the alveolar capillary barrier. *Thorax* 1987; 42:1-10.
17. Staub NC, Hyde RW, Crandall E: Workshop on techniques to evaluate lung alveolar-microvascular injury. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:1071-1077.
18. Menna Barreto SS, Dalcin PT, Marroni BJ et al: Rocha PM. Avaliação da Pemeabilidade Pulmonar através da Taxa de Depuração pulmonar do ^{99m}Tc -DTPA. *J Pneumol* 1994; 20:133-140.
19. Atkins HL, Weber DA, Susskind H et al. MIRD dose estimate report No 16: radiation absorbed dose from Technetium-99m-Diethylenetriaminepentaacetic acid aerosol. *J Nucl Med* 1992; 33:1717-1719.
20. Coates G, O'Brodovich H: Measurement of pulmonary epithelial permeability with ^{99m}Tc -DTPA aerosol. *Semin Nucl Med* 1986; 16:275-284.
21. Nery LE, Florencio RT, Sandoval PRM et al: Additive effects of exposure to silica dust and smoking on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with technetium- 99m labelled DTPA. *Thorax* 1993; 48:264-268.

22. Schmekel B, Bos JAH, Khan AR et al: Integrity of the alveolar-capillary barrier and alveolar surfactant system in smokers. *Thorax* 1992; 47:603-608.
23. Nery LE, Florencio RT, Sandoval PRM et al: Additive effects of exposure to silica dust and smoking on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with technetium-^{99m}Tc-DTPA. *Thorax* 1993; 48:264-268.
24. Mason GR, Uszler JM, Effros RM et al: Rapidly reversible alterations of pulmonary epithelial permeability induced by smoking. *Chest* 1983; 83:6-11.
25. Minty BD, Royston D: Cigarette smoke induced changes in rat pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA – A comparison of particulate and gas phases. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:1170-1173.
26. Nery LE, Sandoval PRM, Jardim JRB et al: The effects of smoking and silica exposure on pulmonary epithelial permeability: a radioaerosol study with ^{99m}Tc-DTPA. *Brazilian J Med Biol Res* 1988; 21:223-232.
27. Witten ML, Lemen RJ, Quan SF et al: Acute cigarette smoke exposure increases alveolar permeability in rabbits. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:321-325.
28. Terra Filho M, Meneguetti JC, Cukier A, et al: Estudo com radioaerossol de DTPA-tecnécio ^{99m} em pacientes portadores de pneumopatia por amiodarona. Resultados preliminares. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1987; 42:78-81.
29. Terra-Filho M, Vargas FS, Meneguetti JC, et al: Pulmonary clearance of technetium ^{99m} diethylene triamine penta-acetic acid aerosol in patients with amiodarone pneumonitis. *Eur J Nucl Med* 1997; 17:334-337.
30. Terra Filho M, Meneguetti JC, Cukier A, et al: Gallium-67 lung imaging and pulmonary clearance of ^{99m}Tc-DTPA aerosol in patients with amiodarone pneumonitis. *Braz J Med Biol Res* 1996; 29:1467-1471.

31. Kaya GÇ, Durak H, Yemez B et al: Technetium-99m DTPA inhalation scintigraphy in patients treated with fluoxetine and maprotiline: preliminary results. *Eur J Nucl Med* 2000; 27:1402-1404.
32. Ugur Ö, Caner B, Balbay MD, et al: Bleomycin lung toxicity detected by technetium-99m diethylene triamine penta-acetic aerosol scintigraphy. *Eur J Nucl Med* 1984; 20:114-118.
33. Van Barneveld PWC, Sleijfer DTH, Van Der Mark THW et al: Natural course of bleomycin-induced pneumotitis – A follow-up study. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135:48-51.

Tabela 1. Características Gerais dos Pacientes

PACIENTE	IDADE	SEXO	DIAGNÓSTICO	DOSE TOTAL BLEOMICINA (mg)
1	43	M	testículo	360
2	30	M	testículo	360
3	24	M	testículo	270
4	31	M	testículo	360
5	25	M	testículo	270
6	23	M	testículo	360
7	28	M	testículo	360
8	41	M	testículo	360
9	25	F	germinativo ovário	360
10	28	M	testículo	360
11	25	M	testículo	270
12	21	F	doença de Hodgkin	215,2

F: feminino

M: masculino

Tabela 2. Valores individuais dos T ½ da ^{99m}Tc-DTPA

PACIENTE	PRÉ QT	PÓS C1	PÓS C2	PÓS C3	3 SEM	3 MESES
1 PD	75	78	76	82	53	42
PE	132	103	76	86	57	36
2 PD	53	73	NR	43	50	27
PE	56	77	NR	45	49	32
3 PD	91	73	94	NN	43	53
PE	92	84	93	NN	41	50
4 PD	63	79	61	71	45	62
PE	82	98	73	82	49	76
5 PD	45	44	74	NN	59	NR
PE	49	48	91	NN	62	NR
6 PD	66	62	29	44	49	24
PE	57	72	37	56	53	27
7 PD	63	47	50	69	55	53
PE	63	50	52	83	63	52
8 PD	37	45	49	50	54	58
PE	92	80	93	93	75	66
9 PD	68	66	70	64	47	64
PE	75	64	67	60	56	64
10 PD	88	99	73	68	64	53
PE	84	92	66	60	65	55
11 PD	84	49	48	NN	27	54
PE	93	51	53	NN	26	64
12 PD	98	61	104	72	38	51
PE	93	65	125	67	50	59

C1: primeiro ciclo; C2: segundo ciclo; C3: terceiro ciclo; NN: não necessário; Nr: não realizado; PD: pulmão direito; PE: pulmão esquerdo; QT: quimioterapia

Tabela 3. Valores médios dos T $\frac{1}{2}$ da ^{99m}Tc -DTPA

^{99m}Tc -DTPA	Dose média de bleomicina	Média T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA	Desvio padrão	Intervalo de confiança 95 %	
				Limite Inferior	Limite Superior
Pré quimioterapia	0 mg	74.93	21.23	65.96	83.89
Pós 1º ciclo	85.5 mg	69.14	17.96	61.56	76.73
Pós 2º ciclo	171 mg	70.62	22.03	61.32	79.93
Pós 3º ciclo	256.5 mg	66.40 ^a	13.01	60.90	71.89
3 semanas após	347.9 mg	51.27 ^b	11.34	46.48	56.06
3 meses após	347.9 mg	51.00 ^b	13.47	45.30	56.69

^a Diferente em relação à primeira medida (p=0.03) e às duas posteriores (p < 0.01)

^b Diferente em relação a todas as medidas anteriores (< 0.01)

Tabela 4. Comparações múltiplas para medidas repetidas

(I) FATOR1	(J) FATOR1	Diferença Média (I-J)	Erro padrão	Significância	95% Confidence Interval for Difference	
					Limite inferior	Limite superior
1	2	5.784	3.830	.145	-2.140	13.707
	3	4.302	4.795	.379	-5.617	14.222
	4	8.529	3.647	.028	.984	16.074
	5	23.655	5.258	.000	12.779	34.531
	6	23.930	4.730	.000	14.145	33.715
2	1	-5.784	3.830	.145	-13.707	2.140
	3	-1.481	5.090	.774	-12.010	9.048
	4	2.745	3.942	.493	-5.409	10.900
	5	17.871	3.850	.000	9.907	25.836
	6	18.146	4.676	.001	8.474	27.819
3	1	-4.302	4.795	.379	-14.222	5.617
	2	1.481	5.090	.774	-9.048	12.010
	4	4.227	4.343	.341	-4.758	13.212
	5	19.353	4.853	.001	9.313	29.392
	6	19.627	4.542	.000	10.231	29.024
4	1	-8.529	3.647	.028	-16.074	-.984
	2	-2.745	3.942	.493	-10.900	5.409
	3	-4.227	4.343	.341	-13.212	4.758
	5	15.126	3.093	.000	8.727	21.524
	6	15.401	2.718	.000	9.778	21.024
5	1	-23.655	5.258	.000	-34.531	-12.779
	2	-17.871	3.850	.000	-25.836	-9.907
	3	-19.353	4.853	.001	-29.392	-9.313
	4	-15.126	3.093	.000	-21.524	-8.727
	6	.275	3.640	.940	-7.254	7.804
6	1	-23.930	4.730	.000	-33.715	-14.145
	2	-18.146	4.676	.001	-27.819	-8.474
	3	-19.627	4.542	.000	-29.024	-10.231
	4	-15.401	2.718	.000	-21.024	-9.778
	5	-.275	3.640	.940	-7.804	7.254

Baseado nas médias marginais estimadas

* A diferença média é significativa no nível de .05

a Ajuste para Comparações Múltiplas: Mínima Diferença Significante (equivalente a sem ajustes).

Tabela 5. Testes Multivariados

	Valores	F	Hipótese df	Erro df	Sig.
Pillai's trace	.649	8.605 ^a	5	19	<.001
Wilks' lambda	.306	8.605 ^a	5	19	<.001
Hotelling's trace	2.264	8.605 ^a	5	19	<.001
Roy's largest root	2.264	8.605 ^a	5	19	<.001

Cada teste F em relação ao FATOR1 Esses testes são baseados na comparação combinada linear independente entre as médias marginais estimadas.

^a Estatística exata.

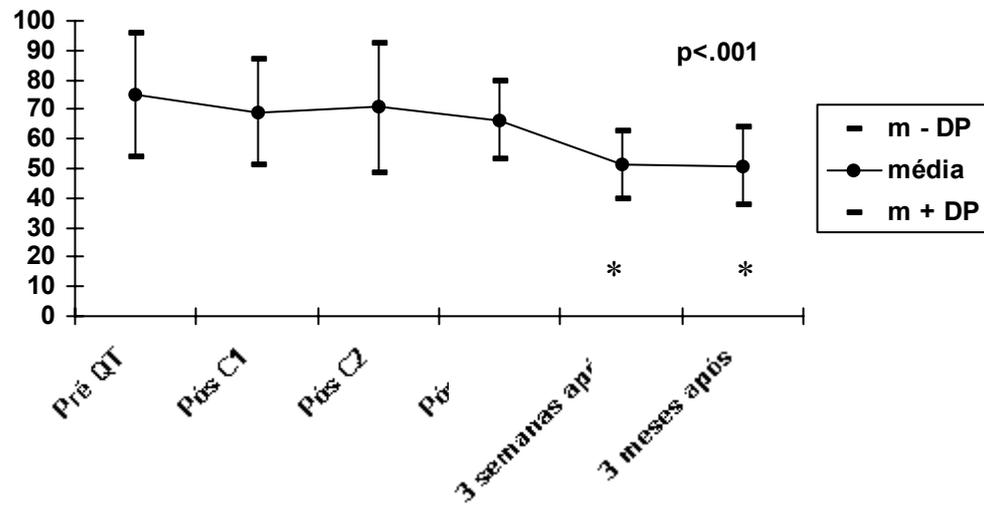
T $\frac{1}{2}$ ^{99m}Tc -DTPA

Fig 1. Valores médios dos T $\frac{1}{2}$ da ^{99m}Tc -DTPA

8 CONCLUSÕES

Após serem avaliados, através da cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA, os pacientes submetidos à quimioterapia com regimes que contêm bleomicina, é possível indicar que esse método pode ser eficaz para avaliar a permeabilidade da barreira alvéolo-capilar, bem como permite detectar alteração na permeabilidade epitelial pulmonar após 2 ciclos de quimioterapia.

Doses de 171 mg são consideradas seguras para a membrana epitelial pulmonar. As maiores alterações da permeabilidade são observadas no final do tratamento, o que equivale a 347,9 mg de bleomicina. Isso evidencia o dano epitelial devido ao acúmulo de dose da bleomicina. Essa alteração mantém-se até 3 meses após o término do tratamento.

Esse método possui a vantagem de ser de simples realização, barato e poder ser repetido muitas vezes devido à baixa taxa de radioatividade. Também, apresenta uma sensibilidade alta em excluir lesão epitelial.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

A bleomicina é um agente quimioterápico desenvolvido em 1966 e que apresenta poucos efeitos adversos, sendo o mais importante deles a toxicidade pulmonar, que pode se apresentar de forma fatal.

Apesar de todos os avanços na área da oncologia, não foi possível, até o momento, reduzir o risco da toxicidade pulmonar, que pode ocorrer com doses muito baixas. Há forte evidência do benefício clínico e curativo em 2 patologias que justificam o uso da bleomicina, o tumor de testículo e a doença de Hodgkin.

A maior preocupação do oncologista ao tratar essas doenças está na segurança do esquema quimioterápico utilizado e no poder curativo. Entretanto, não é possível esquecer que pacientes que ficam curados podem apresentar toxicidades graves e tardias, o que compromete a qualidade de vida do doente.

O grande desafio, neste momento, é utilizar drogas seguras. Quando não é possível reduzir o risco dessa drogas, tenta-se o diagnóstico precoce ou mesmo exames diagnósticos que antecipem o acontecimento da toxicidade.

Atualmente, têm-se disponíveis as provas de função pulmonar, entre elas, o DLCO e a espirometria. Ambos métodos possuem aspectos positivos, mas nenhum deles conseguiu estabelecer o melhor momento de suspender ou evitar o uso da bleomicina como forma de reduzir a incidência da toxicidade pulmonar.

Para utilizar-se a cintilografia com ^{99m}Tc -DTPA, como padrão ouro para o diagnóstico precoce da toxicidade pulmonar, serão necessários estudos clínicos que comparem a ^{99m}Tc -DTPA com o DLCO, espirometria e exames de imagem (radiografias e tomografias). Com isso, num futuro próximo, poder-se-á saber qual paciente deverá suspender a bleomicina, mesmo que sua toxicidade seja subclínica.

Apêndices

APÊNDICE A – CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DO PACIENTE

AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE EPITELIAL PULMONAR EM PACIENTES SUBMETIDOS A ESQUEMAS DE QUIMIOTERAPIA CONTENDO BLEOMICINA ATRAVÉS DA TAXA DE DEPURAÇÃO PULMONAR DO

^{99m}TC-DTPA.

O Câncer de Testículo é um tumor com muito boas chances de cura com quimioterapia. As drogas utilizadas no tratamento de primeira linha são a cisplatina, etoposide e BLEOMICINA. Apesar das ótimas respostas a este esquema, estas drogas têm efeitos colaterais, como todos os fármacos usados em tratamentos de tumores. Entre as complicações, uma das mais importantes é a toxicidade pulmonar induzida pela BLEOMICINA. Este estudo tem por objetivo a realização de um exame de medicina nuclear (taxa de depuração pulmonar de ^{99m}Tc DTPA) em todos os pacientes que serão submetidos a este protocolo de quimioterapia, a fim de detectar precocemente danos induzidos pela BLEOMICINA. O estudo consiste na realização deste exame antes da realização de cada ciclo de quimioterapia e juntamente com exames de acompanhamento previstos em seu tratamento.

Eu, _____, fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa deste trabalho, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos e riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações obtidas durante o estudo me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação em face destas informações, sem prejuízo para meu tratamento.

O profissional _____, certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado que caso exista danos à minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

De acordo,

_____ assinatura do paciente.

_____ assinatura do pesquisador.

**AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE EPITELIAL PULMONAR EM
PACIENTES SUBMETIDOS A ESQUEMAS DE QUIMIOTERAPIA CONTENDO
BLEOMICINA ATRAVÉS DA TAXA DE DEPURAÇÃO PULMONAR DO**

^{99m} TC-DTPA.

A Doença de Hodgkin é uma neoplasia com muito boas chances de cura com quimioterapia. As drogas utilizadas no tratamento de primeira linha são a doxorrubicina, vinblastina, dacarbazina e BLEOMICINA. Apesar das ótimas respostas a este esquema, estas drogas têm efeitos colaterais, como todos os fármacos usados em tratamentos de tumores. Entre as complicações, uma das mais importantes é a toxicidade pulmonar induzida pela BLEOMICINA. Este estudo tem por objetivos a realização de um exame de medicina nuclear (taxa de depuração pulmonar de ^{99m}Tc DTPA) em todos os pacientes que serão submetidos a este protocolo de quimioterapia, a fim de detectar precocemente danos induzidos pela BLEOMICINA. O estudo consiste na realização deste exame antes da realização de cada ciclo de quimioterapia e juntamente com exames de acompanhamento previstos em seu tratamento.

Eu, _____, fui informado dos objetivos especificados acima e da justificativa deste trabalho, de forma clara e detalhada. Recebi informações específicas sobre cada procedimento no qual estarei envolvido, dos desconfortos e riscos previstos, tanto quanto dos benefícios esperados. Todas as minhas dúvidas foram respondidas com clareza e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Além disso, sei que novas informações obtidas durante o estudo me serão fornecidas e que terei liberdade de retirar meu consentimento de participação face a estas informações, sem prejuízo para meu tratamento.

O profissional _____, certificou-me de que as informações por mim fornecidas terão caráter confidencial.

Fui informado que caso exista danos à minha saúde, causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico e indenização conforme estabelece a lei. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

De acordo,

_____ assinatura do paciente.

_____ assinatura do pesquisador.

APÊNDICE B – ESCALA DE DESEMPENHO CLÍNICO

Escala de ZUBROD-ECOG-WHO

0	Atividade normal
1	Sintomas presentes, mas quase ambulatorial
2	Algum tempo acamado, mas está na cama menos de 50% do dia normal
3	Necessita estar na cama mais do que 50% do dia normal
4	Incapaz de sair da cama

APÊNDICE C – DECLARAÇÃO DE HELSINQUE

Associação Médica Mundial - 1964 - 2000

Adotada na 18ª Assembléia Médica Mundial, Helsinque, Finlândia (1964), alterada na 29ª Assembléia, em Tóquio, Japão (1975), 35ª em Veneza, Itália (1983), 41ª em Hong Kong (1989), 48ª Sommerset West/África do Sul (1996) e 52ª Edimburgo/Escócia (out/2000).

Texto da Declaração

A. INTRODUÇÃO

1. A Associação Médica Mundial promulgou a Declaração de Helsinque como uma proposta de princípios éticos que sirvam para orientar os médicos e outras pessoas que realizam pesquisa médica. A pesquisa médica inclui a investigação do material humano ou de informações identificáveis.
2. O dever do médico é promover e velar pela saúde das pessoas. Os conhecimentos e a consciência não se subordinam ao cumprimento desse dever.
3. A Declaração de Genebra da Associação Médica Mundial vincula o médico com a fórmula “A saúde de meu paciente será minha principal consideração”, e o Código Internacional de Ética Médica afirma que: “Qualquer ato ou conselho que possa vir a reduzir a resistência física ou mental de um ser humano só poderá ser usado em seu interesse”.
4. O progresso da medicina se baseia na investigação, a qual, em última instância, tem que recorrer, muitas vezes, à experimentação em seres humanos.
5. Na pesquisa biomédica, a preocupação pelo bem-estar dos seres humanos deve ter sempre primazia sobre os interesses da ciência e da sociedade.

6. O propósito principal da pesquisa biomédica em seres humanos é o aperfeiçoamento dos procedimentos preventivos, diagnósticos e terapêuticos, e também compreender a etiologia e patogenia das enfermidades. Inclusive, os melhores métodos preventivos, diagnósticos e terapêuticos disponíveis devem ser postos à prova continuamente através da investigação para que sejam eficazes, efetivos, acessíveis e de qualidade.

7. Na prática médica atual, a maioria dos procedimentos preventivos, diagnósticos e terapêuticos envolvem riscos e custos. Isto se aplica à pesquisa biomédica.

8. A pesquisa biomédica está sujeita a normas éticas que servem para promover o respeito a todos os seres humanos e para proteger sua saúde e seus direitos individuais. Algumas populações submetidas à pesquisa biomédica são vulneráveis e necessitam proteção especial. Devem-se reconhecer as necessidades particulares dos que têm desvantagens econômicas e médicas. Também se deve prestar atenção especial aos que não podem outorgar ou recusar o consentimento por si mesmos, aos que podem outorgar o consentimento sob pressão, aos que não se beneficiarão pessoalmente com a pesquisa e aos que têm a investigação combinada com a atenção médica.

9. Os investigadores devem conhecer os requisitos éticos, legais e jurídicos para a pesquisa biomédica em seus próprios países, da mesma forma que os requisitos internacionais vigentes. Não se deve permitir que um requisito ético, legal ou jurídico diminua ou elimine qualquer medida de proteção para os seres humanos estabelecida nesta Declaração.

B. PRINCÍPIOS BÁSICOS PARA TODA PESQUISA BIOMÉDICA

10. Na pesquisa biomédica é dever do médico proteger a vida, a saúde, a intimidade e a dignidade do ser humano.

11. A pesquisa biomédica que envolve seres humanos deve estar de acordo com os princípios científicos geralmente aceitos e deve se apoiar em um profundo conhecimento da bibliografia

científica, em outras fontes de informação pertinentes, assim como na experimentação adequadamente conduzida com animais ou em laboratório, quando seja oportuno.

12. Ao pesquisar, há que se prestar atenção adequada aos fatores que possam prejudicar o meio ambiente. Deve-se cuidar também do bem-estar dos animais utilizados nos experimentos.

13. O projeto e o método de todo procedimento experimental em seres humanos deve ser formulado claramente em um protocolo experimental (projeto de pesquisa). Este deve ser enviado para consideração, comentários, orientação, e, quando seja oportuno, aprovação por um comitê de avaliação ética especialmente designado, que deve ser independente do investigador, do patrocinador ou de qualquer tipo de influência indevida. Subentende-se que esse comitê independente deve atuar em conformidade com as leis e regulamentos vigentes no país onde se realiza a pesquisa. O comitê tem o direito de controlar o experimento em curso. O investigador tem a obrigação de proporcionar informação do controle ao comitê, em especial sobre todo incidente adverso grave. O investigador também deve apresentar ao comitê, para que a revise, toda informação sobre financiamento, patrocinadores, filiações institucionais, outros possíveis conflitos de interesse e incentivos para as pessoas envolvidas com o estudo.

14. O projeto de pesquisa deve sempre fazer referência às considerações éticas pertinentes, e deve indicar que tenham sido observados os princípios enunciados nesta Declaração.

15. A pesquisa biomédica que envolve seres humanos deve ser desenvolvida somente por pessoas cientificamente qualificadas e sob supervisão de um médico clinicamente competente. A responsabilidade pelos seres humanos deve recair sempre em uma pessoa com capacitação médica, nunca nos participantes da investigação, mesmo que tenham outorgado seu consentimento.

16. Todo projeto de pesquisa biomédica que envolve seres humanos deve ser precedido de uma cuidadosa comparação dos riscos calculados com os benefícios previsíveis para o indivíduo ou para outros. Isto não impede a participação de voluntários sãos na investigação. Os projetos de todos os estudos devem estar disponíveis para o público.

17. Os médicos devem se abster de participar de projetos de investigação em seres humanos a menos que estejam seguros de que os riscos inerentes tenham sido adequadamente avaliados e de que seja possível enfrentá-los de maneira satisfatória. Devem interromper o experimento em andamento se observarem que os riscos implicados são mais importantes que os benefícios esperados, ou se existem provas conclusivas de resultados positivos ou proveitosos.

18. A pesquisa biomédica envolvendo seres humanos só deve ser realizada quando a importância de seu objetivo for maior que o risco inerente e os custos para o indivíduo. Isto é especialmente importante quando os seres humanos são voluntários saudáveis.

19. A pesquisa biomédica só se justifica se existirem possibilidades razoáveis de que a população, sobre a qual a investigação se realiza, poderá se beneficiar de seus resultados.

20. Para tomar parte em um projeto de pesquisa, os indivíduos devem ser participantes voluntários e informados.

21. Sempre deve ser respeitado o direito de proteção à integridade dos participantes da investigação. Devem ser tomadas todas as formas de precaução para resguardar a privacidade dos indivíduos, a confidencialidade da informação do paciente e para reduzir ao mínimo as conseqüências da pesquisa sobre sua integridade física e mental, e sua personalidade.

22. Em toda investigação em seres humanos, cada indivíduo potencial deve receber informação adequada sobre os objetivos, métodos, fontes de financiamento, possíveis conflitos de interesses, filiações institucionais do investigador, benefícios esperados, possíveis riscos e sobre o desconforto que a pesquisa possa trazer. O participante em potencial deve ser informada de que tem plena liberdade para se abster de participação na pesquisa e de que é livre para suspender o consentimento sobre sua participação a qualquer momento, sem expor-se a represálias. Depois de estar assegurado que o indivíduo compreendeu a informação, o médico deve obter então, de preferência por escrito, o consentimento informado e voluntário da pessoa. Se o consentimento não pode ser obtido por escrito, o processo para obtê-lo deve ser documentado formalmente perante testemunhas.

23. Ao obter o consentimento informado para o projeto de pesquisa, o médico deve ter especial cuidado com o indivíduo que, de alguma forma, está vinculado por uma relação de

dependência ou possa ter concordado sob pressão. Neste caso, o consentimento informado deve ser obtido por um médico bem informado que não participe da investigação e que seja completamente independente nesse relacionamento oficial.

24. No caso de incapacidade legal, o investigador deve obter o consentimento informado do representante legal e de acordo com a legislação do país. Se o potencial participante for inabilitado física ou mentalmente para outorgar consentimento, ou menor de idade, não deveria ser incluído na investigação, a menos que esta seja necessária para promover a saúde da população representada e este estudo não possa ser realizado em pessoas legalmente capazes.

25. Se um potencial participante, considerado legalmente incapaz, como o caso de um menor de idade, é capaz de dar seu assentimento para participar ou não da pesquisa, o investigador deve obtê-lo, além do consentimento do representante legal.

26. A pesquisa em indivíduos dos quais não se pode obter consentimento, inclusive por representante ou com antecedência, deve-se realizar somente se a condição física e mental que impede a obtenção do consentimento informado seja uma característica necessária da população investigada. As razões específicas pelas quais se utilizam participantes na investigação que não podem outorgar seu consentimento informado devem ser estipuladas no protocolo experimental que se apresenta para consideração e aprovação do comitê de avaliação. O protocolo deve estabelecer que o consentimento para se manter na investigação deve ser obtido, com a brevidade possível, do indivíduo ou de um representante legal.

27. Tanto os autores como os editores têm obrigações éticas. Ao publicar os resultados de sua investigação, o médico está obrigado a manter a exatidão dos dados e resultados. Devem-se publicar tanto os resultados negativos como os positivos ou então, de alguma maneira, devem estar à disposição do público. Na publicação deve ser citada a fonte de financiamento, filiações institucionais e qualquer possível conflito de interesses. As informações sobre investigações que não se cinjam aos princípios descritos nesta Declaração, não devem ser aceitos para publicação.

C. PRINCÍPIOS APLICÁVEIS QUANDO A PESQUISA BIOMÉDICA SE COMBINA COM A ATENÇÃO MÉDICA.

28. O médico pode combinar a pesquisa biomédica com a atenção médica, só na medida em que tal investigação estabeleça um crédito justificado no seu valor potencial preventivo, diagnóstico ou terapêutico. Quando a pesquisa biomédica se combina com a atenção médica, as normas adicionais se aplicam para proteger os pacientes que participam da investigação.

29. Os possíveis benefícios, riscos, custos e eficácia de todo procedimento novo devem ser avaliados mediante sua comparação com os melhores métodos preventivos, diagnósticos e terapêuticos disponíveis. Isso não exclui o uso de um placebo, ou nenhum tratamento em estudos para os quais não se dispõe de procedimentos preventivos, diagnósticos ou terapêuticos comprovados.

30. Ao final da investigação, todos os pacientes que participam do estudo devem ter a certeza de que contarão com os melhores métodos preventivos, diagnósticos e terapêuticos disponíveis, identificados pelo estudo.

31. O médico deve informar cabalmente ao paciente sobre os aspectos da atenção que têm relação com a pesquisa. A negativa de um paciente a participar de uma investigação nunca deve perturbar a relação médico-paciente.

32. Quando os métodos preventivos, diagnósticos ou terapêuticos disponíveis resultaram ineficazes na atenção de um enfermo, o médico, com o consentimento informado do paciente, pode se permitir usar procedimentos preventivos, diagnósticos e terapêuticos novos ou não experimentados, se a seu juízo, isso dá alguma esperança de salvar a vida, restituir a saúde ou aliviar o sofrimento. Sempre que seja possível, tais medidas devem ser investigadas a fim de avaliar a sua segurança e eficácia. Em todos os casos essa informação nova deve ser registrada e, quando seja oportuno, publicada. Devem-se seguir todas as outras normas pertinentes desta Declaração.