

Ministério da Saúde

FIOCRUZ - BAHIA
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz



Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública

AS γ -GLUTAMIL-TRANSFERASE, TRANSAMINASES E FOSFATASES ALCALINAS SÉRICAS EM PACIENTES EPILEPTICOS TRATADOS COM CARBAMAZEPINA

Dissertação de Mestrado

Helder Jacobina Santos



002928

Salvador - Bahia
2005



Fundação Bahiana
para Desenvolvimento
das Ciências



Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública



Ministério da Saúde

FIOCRUZ - BAHIA
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz

AS γ -GLUTAMIL-TRANSFERASE, TRANSAMINASES E FOSFATASES ALCALINAS SÉRICAS EM PACIENTES EPILEPTICOS TRATADOS COM CARBAMAZEPINA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública / Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências como etapa obrigatória para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Autor:

Helder Jacobina Santos

Professor orientador:

Luiz Erlon Araújo Rodrigues

Professor co-orientador:

Antonio de Sousa Andrade Filho

Salvador - Bahia

2005

Ficha Catalográfica

S 237 SANTOS, Helder Jacobina.

As γ -glutamil-transferase, transaminases e fosfatases alcalinas séricas em pacientes epilépticos tratados com carbamazepina/Helder Jacobina Santos; Orientador: Prof. Dr. Luiz Erlon Araújo Rodrigues. Co-Orientador: Prof. Dr. Antônio de Souza Andrade Filho. – Salvador : H.J.Santos, 2005.

xvi, 92f. il.

Dissertação (Mestrado em Medicina, área de concentração Medicina Interna) – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.FBDC/FIOCRUZ.

1.Fosfatases alcalinas. 2.Gama-glutamil transferase. 3.Transaminases. 4.Carbamazepina.

I. Título

CDU: 577.15 : 616.853

PHL
UNU 0479
...2998

500.42.15.100
-C-11



Escola Bahiana de
Medicina e Saúde Pública



AS γ -GLUTAMIL-TRANSFERASE, TRANSAMINASES E FOSFATASES ALCALINAS SÉRICAS EM PACIENTES EPILÉPTICOS TRATADOS COM CARBAMAZEPINA

Helder Jacobina Santos

Folha de Aprovação

Comissão Examinadora

Prof. Dra. Maria Conceição Galvão Sampaio

Professora Adjunta da Disciplina de Semiologia Médica e do Internato – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências.
Doutora em Medicina Interna – Universidade Federal da Bahia.

Prof. Dr. Túlio César Alves

Professor Titular da Disciplina de Farmacologia –
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências.
Doutor em Anestesiologia
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP.

Prof. Dr. Jamary Oliveira Filho

Professor Adjunto de Neuroanatomia
Universidade Federal da Bahia.
Doutor em Neurologia – Universidade de São Paulo.

Salvador - Bahia
2005

*"O princípio da Sabedoria
é o desejo autêntico de instrução,
e a preocupação pela instrução
é o amor."*

(Sabedoria 6, 17).

Dedico esta dissertação à minha esposa, Josiene; à minha filha, Eduarda; ao amigo, Prof. Dr. Luiz Erlon Araújo Rodrigues; ao estimado ex-diretor da EBMSP, Prof. Dr. Geraldo Leite; à minha irmã, Mariana e aos meus pais, Severino e Antonia.

Instituições Envolvidas

- Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública / Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências
- Fundação de Neurologia e Neuro-Cirurgia – Instituto do Cérebro

Agradecimentos

- Aos meus pais, **Severino e Antônia (Ceci)**, por terem se desnudado para que eu pudesse me vestir.
- À minha irmã, **Mariana**, pelo seu carinho.
- À minha esposa e à minha filha, **Josiene e Eduarda**, pela paciência, amor e incentivo.
- Ao ilustre professor e ex-diretor da EBMSP, **Dr. Geraldo Leite**, pelo seu entusiasmo para que eu continuasse o curso médico, depois de pensamentos de desistência.
- À Profa Dra. **Maria Luisa Soliani**, Prof. Dr. **Bernardo Galvão** e **FBDC** pelo importante incentivo e oportunidade na realização deste mestrado.
- Ao representante dos alunos da minha turma de Pós-Graduação, Dr. **Maurício Nunes**, e ao ilustre colega, Dr. **Carlos Eugênio Nascimento Lima**, pelas suas providências em momentos muitos especiais e difíceis.
- Ao colega desta Pós-Graduação, Dr. **Frederico Figueirôa**, por sua importância no alcance desta minha vitória.
- Ao ilustre professor, Dr. **Antonio Andrade**, pelo seu acolhimento inefável quando precisei de luz.
- Aos **outros colegas**, pela amizade, e aos **professores desta Pós-Graduação**, pelas aulas que me foram momentos de estímulos para o crescimento acadêmico e profissional.
- Ao professor, Dr. **Ricardo Sinay Neves**, pelo seu grande apoio.

- À professora, Dra. **Cláudia Valle**, pela sinceridade.
- Aos alunos, **Olívia Sanches** e **Tiago Spolador**, pela dedicação na ajuda técnica.
- Aos funcionários, **José Inácio** e **Samuel Barbosa**, pela pontualidade e disposição.
- Ao casal, **Lila** e **Severino Pinheiro**, pela liderança, e aos casais **Generaldo** e **Lourdes Lima**, **José Raimundo** e **Marluce Araújo**, **Ismael** e **Arlene Medeiros**, **Valmir** e **Perpétua Pereira**, **Telma** e **Osmar** e **Walter** e **Helena Wolyn** e participantes do **grupo de casais de 1992 da Paróquia Nossa Senhora da Luz - Pituba**, que se permitiram comover pelo altruísmo e empatia daqueles líderes, culminando em ações providenciais no início do meu curso médico.
- Aos meus professores dos meus cursos "jardim-de-infância", "maternal", "alfabetização", "primário", "ginasial", "secundário" e "pré-vestibular", pela minha formação cognitiva.
- Aos padres, **Antonio Almeida** e **Mathon**, pela minha formação na fé com a qual pude enfrentar as "tempestades" da vida.

Agradecimento em Especial

- Ao estimado Professor-Doutor, **Luiz Erlon Araújo Rodrigues**, pela sua postura metódica e simples para resolver os problemas, pela sua paciência, pelo seu amor à verdade, pela sua alegria de viver, pela sua fé, pelo seu acolhimento e bondade, pelas suas palavras fortes como um trovão nos meus momentos de teimosia, pela sua lucidez como um sol quando na escuridão da minha caminhada, pela sua competência, pelas suas providências, pela sua tenacidade na busca da verdade, pelas aulas, pelas oportunidades, pela sua amizade. Tudo isso agradeço, por que eu me tornei como um barro molhado nas mãos do oleiro, que foi dando-me forma e consistência, imputando outros valores tão nobres quanto aqueles que preservo de meus pais. Enfim, pelo seu exemplo.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiii
LISTA DE QUADROS E TABELAS	xiv
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xv
RESUMO	xvi
I. INTRODUÇÃO	17
II. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
II.1 Conceito, patogenia, diagnóstico, classificação da epilepsia e epidemiologia	18
II.2 Carbamazepina para tratamento de crises epiléticas e aspectos da farmacocinética e farmacodinâmica desta droga.....	23
II.3 Enzimas séricas.....	26
II.3.1 Transaminases.....	26
II.3.2 Gama-glutamyltransferase	29
II.3.3 Fosfatases alcalinas.....	31
II.4 Alterações clínicas, séricas, histológicas e metabólicas em pacientes que usam carbamazepina.....	32
II.4.1 Reversibilidade das alterações hepáticas	32
II.4.2 Alterações nas atividades de enzimas séricas durante monoterapia por carbamazepina.	34
II.4.3 Evidências de alteração óssea pela carbamazepina	37
III. JUSTIFICATIVA.....	39
IV. OBJETIVO	40
IV.1 Geral.....	40
V. CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS.....	41
V.1 Local da pesquisa com respectivas instalações ou serviços	41
V.2 Característica do ambulatório filantrópico da Fundação de Neurologia-Neurocirurgia/Instituto do Cérebro	42

V.3	Desenho do estudo.....	42
V.4	Definição de caso	42
V.5	Critérios de inclusão	42
V.6	Critérios de exclusão	43
V.7	Processo de cálculo do tamanho amostral.....	43
	V.7.1 Cálculo da proporção populacional estimada (P).....	44
	V.7.2 Cálculo do tamanho amostral para esta pesquisa a partir da estimativa populacional acima e a proporção encontrada	44
V.8	Tamanho amostral adotado	45
V.9	Amostragem	45
V.10	Período de coleta após aprovação pelo comitê de ética ..	45
V.11	Tipos de variáveis.....	46
	V.11.1 Variável categórica.....	46
	V.11.2 Variável contínua.....	46
V.12	Agrupamento dos pacientes.....	46
V.13	Material, recrutamento dos pacientes e método de coleta, transporte e dosagem das enzimas	46
V.14	Dosagem das fosfatases alcalinas.....	48
V.15	Dosagem das GGT.....	49
V.16	Dosagem das transaminases	52
V.17	Monitoramento da coleta de dados.....	54
V.18	Critérios éticos.....	54
V.19	Aplicação estatística sobre os dados	55
VI.	RESULTADOS.....	56
VII.	DISCUSSÃO	62
VIII.	CONCLUSÕES	66
IX.	LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS DO ESTUDO	67
X.	SUMMARY	69
XI.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
XII.	ANEXOS	81

Lista de Figuras

- Figura 1.** Estrutura química da carbamazepina24
- Figura 2.** Esquema das transformações “in vivo” da carbamazepina.25
- Figura 3.** Resumo das ações da aspartato-amino transferase e da alanina-amino transferase.27
- Figura 4.** Resumo da ação da gama-glutamil transferase para a formação do glutathion reduzido.....29
- Figura 5.** Resumo das ações de transferência e hidrólise promovidas pelas fosfatases alcalinas.31

Lista de Gráficos

- Gráfico 1.** Freqüência de pacientes com alteração na atividade de pelo menos uma enzima.....59
- Gráfico 2.** Freqüência de pacientes com alterações nas atividades enzimáticas por enzima60
- Gráfico 3.** Freqüência de pacientes com alteração nas atividades séricas enzimáticas por enzima por faixa etária (anos)60
- Gráfico 4.** Proporção de alteração de enzimas em pacientes com epilepsia sob monoterapia de carbamazepina na faixa etária de 12 a 30 anos de acordo com o tempo de uso deste fármaco61
- Gráfico 5.** Proporção de alteração de enzimas em pacientes com epilepsia sob monoterapia de carbamazepina na faixa etária de 31 a 90 anos de acordo com o tempo de uso deste fármaco61

Lista de Quadros e Tabelas

- Quadro 1.** Classificação das crises epiléticas quanto a origem no sistema nervoso central e sua apresentação clínica21
- Tabela 1.** . Características sócio-econômicas da amostra56
- Tabela 2.** Estatística descritiva das idades (anos) por subgrupo.....57
- Tabela 3.** Estatística descritiva da concentração sérica ($\mu\text{g/mL}$) da carbamazepina por subgrupo.58
- Tabela 4.** Estatística descritiva do tempo de monoterapia (meses) com carbamazepina por subgrupo.58
- Tabela 5.** Frequência de alterações de atividades séricas das enzimas GGT, FA, AST e ALT para o sexo masculino e para o sexo feminino.....59

Lista de Siglas, Abreviaturas e Símbolos

ALT:	alanina-amino transferase
AST:	asparto-amino transferase
CBZ:	carbamazepina
CBZ-E:	10,11-epóxi-carbamazepina total
CBZ-H:	trans-10,11-dihidroxi-10,11-dihidrocarbamazepina total
c-fos:	é um proto-oncogene mapeada na banda 1 das regiões 2 e 3 do braço longo do cromossomo 14 humano.
EBMSP:	Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
FA:	Fosfatases alcalinas
FBDC:	Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências
GABA:	ácido gama-aminobutírico
GGT ou γ -GT:	gama-glutamil transferase
nm:	nanometro
PAL:	piridoxal 5'-fosfato
p-valor:	probabilidade de determinada resposta ser obra do acaso
UDP-glicuronato:	uridina-5'-difosfo-glicuronato
UI/L:	unidade internacional por litro
μ g/mL:	micrograma por mililitro

RESUMO

AS γ -GLUTAMIL-TRANSFERASE, TRANSAMINASES E FOSFATASES ALCALINAS SÉRICAS EM PACIENTES EPILÉPTICOS TRATADOS COM CARBAMAZEPINA.

Introdução: A carbamazepina é a droga de eleição usada no tratamento de pacientes com epilepsia secundariamente generalizada. Além disso, a carbamazepina tem sido implicada no aumento sérico de algumas enzimas. Alguns autores encontraram prevalência de 13% e os outros, 22% e até 53% de alterações para as fosfatases alcalinas. **Objetivo:** As metas deste trabalho são determinar a proporção de alterações amostrais nas atividades das gama-glutamil transferase (GGT), fosfatases alcalinas totais (FA), transaminases (AST e ALT) e as concentrações séricas da carbamazepina em pacientes de ambulatórios de epilepsia. **Metodologia:** O desenho do estudo é descritivo, aprovado pelo Comitê de Ética local, no qual uma amostra de conveniência de 52 pacientes epiléticos de acompanhamento ambulatorial foi organizada por faixa etária de 12 a 30 e de 31 a 90 anos e, subdivididos por tempo de uso. As atividades séricas das GGT, FA, AST e ALT foram determinadas, assim como, as concentrações séricas da carbamazepina. As proporções de alterações por variáveis foram descritas. **Resultados:** 52% dos pacientes apresentaram alteração em pelo menos uma enzima, 42% com alterações nas FA, 18%, nas GGT, 12% nas AST e 2%, nas ALT. A faixa etária de 12 a 30 anos apresentou 56% de alterações nas FA enquanto que aquela de 31 a 90 anos, apenas 18%. **Conclusão:** a faixa etária pode colaborar com o aumento de prevalência das fosfatases alcalinas alteradas nestes pacientes. Quanto aos baixos valores para GGT e transaminases, são necessários mais estudos para o esclarecimento dessas variações.

Palavras-chave: fosfatases alcalinas, gama-glutamil transferase, transaminases, carbamazepina.

REVISÃO DA INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma morbidade presente, mas pouco quantificada em Salvador-Ba, sendo que apenas um trabalho, publicado em 1996 por Andrade e colaboradores, faz referência à esta manifestação. Muitos outros publicados são metodologicamente limitados ou, quando adequados, apresentam resultados diferentes para faixas etárias semelhantes, não permitindo, por isso, fazer inferência a outras comunidades, inclusive àquelas de ambulatórios de Salvador-BA. Nestes ambulatórios não se conhece o perfil de atividades séricas enzimáticas alteradas nos pacientes com diagnóstico de epilepsia sob monoterapia com carbamazepina.



REVISÃO DA LITERATURA

II.1 Conceito, patogenia, diagnóstico, classificação da epilepsia e epidemiologia

Epilepsia é uma manifestação caracterizada por duas ou mais crises epilépticas não provocadas por alguma causa imediatamente identificável num intervalo mínimo entre elas de 24 horas e, no máximo, 5 anos. Uma crise é uma manifestação clínica presumida de uma descarga anormal ou excessiva, sincrônica e transitória de um grupo de neurônios cerebrais^(1,2). A crise epiléptica é aquela que ocorre na ausência de alterações tóxico-metabólicas ou febris ou de eletrochoque. Na presença destas alterações ou de eletrochoque, a crise é denominada não-epiléptica⁽³⁾.

O desequilíbrio quantitativo entre as moléculas dos ácidos glutâmico e gama-aminobutírico na fenda sináptica talvez possa explicar a patogenia da referida crise. O GABA não ocupa todos os receptores pós-sinápticos

gabaérgicos quando sob quantidade reduzida. Dessa maneira, os íons cloretos não são captados pelo neurônio pós-sináptico e, conseqüentemente, tal célula fica mais excitável do que se deveria. O glutamato interage com mais receptores pós-sinápticos quando sob quantidade relativamente maior ao GABA, principalmente com o N-metil-D-aspartato, favorecendo a entrada dos íons sódio e cálcio nestes neurônios, provocando despolarização e ativação de vias metabólicas. Além disso, há evidências no aumento da expressão do gene c-fos. A proteína c-fos forma com outras proteínas o complexo, responsável por alterar a expressão de outros genes e, por isso, provocar modificações transitórias ou duradouras na estrutura e funções neuronais ⁽⁴⁾.

A prevalência da epilepsia divulgada no Brasil tem como base as regiões Sul e Sudeste do país. A grande São Paulo apresentou uma prevalência anual (casos/habitantes) de 11,9 / 1000; a grande Porto Alegre revelou uma prevalência anual (casos/habitantes) de 16,5 e 20 / 1000, respectivamente, para epilepsia ativa e inativa ^(5,6).

O diagnóstico de epilepsia é feito pela anamnese principalmente. A descrição pormenorizada pelo paciente, parente ou testemunha sobre os sintomas iniciais, fatores prodrômicos ou precipitantes, associativos, manifestações e número de ocorrências é fundamental. Porém, antes deste diagnóstico, é necessário caracterizar a crise epiléptica ^(7,8).

A epilepsia pode ser focal ou generalizada, dependendo da extensão de neurônios envolvidos com o tipo de descarga já referida. A focal é aquela que acomete um grupo de neurônios de parte do encéfalo de um hemisfério cerebral. Quando envolve uma área mais extensa, envolvendo os dois hemisférios cerebrais, denomina-se generalizada ^(8,9).

As crises epiléticas parciais são caracterizadas como simples e complexas. As crises parciais complexas apresentam perda da consciência enquanto que as crises parciais simples, não ⁽¹⁰⁾.

A proporção dos tipos de epilepsia nos ambulatórios públicos em Salvador-Bahia foi a seguinte: 40,14% para epilepsia parcial com generalização secundária, 38,65% para epilepsia primária generalizada, 11,97% para epilepsia parcial complexa, 5,24 % para epilepsia parcial simples ⁽¹¹⁾.

O eletroencefalograma (EEG) é um exame indicado a todo paciente com diagnóstico de epilepsia. Anormalidades epileptiformes foram encontradas em 51% (80 de 156 pacientes) no período das primeiras 24h contra 34% (encontrados em 49 dos 144 pacientes) após as 24 horas da crise epilética ⁽¹²⁾.

Quadro 1. Classificação das crises epiléticas quanto a origem no sistema nervoso central e sua apresentação clínica

<p>Crises parciais</p> <p><i>Crises parciais simples (CPS)</i> com sinais motores com sinais sensitivos somatossensoriais ou especiais com sinais ou sintomas autonômicos com sintomas psíquicos</p> <p>Crises parciais complexas (CPC) Início de crise parcial simples seguida por alteração da consciência Alteração de consciência no início</p> <p>Crises parciais secundariamente generalizadas CPS evoluindo para crises tônico-clônicas generalizadas (CTCG) CPC evoluindo para CTCG CPS evoluindo para CPC e então para CTCG</p> <p>Crises generalizadas (desde o início) CTCG Crises de ausência Crises de ausência atípica Crises mioclônicas Crises tônicas Crises clônicas Crises atônicas</p> <p>Crises não classificadas (informações incompletas ou inadequadas)</p>
--

Fonte: Commission on Classification and Terminology of the International League against Epilepsy ⁽¹⁾.

A imagem por ressonância magnética (IRM) não apresentou alterações em 49 dos 50 pacientes com epilepsia generalizada, contudo, o EEG registrou algumas anormalidades gráficas. Quanto à tomografia computadorizada (TC), realizada em 28 dos 38 pacientes

com lesão ao exame IRM, apenas 12 mostraram alterações por este método diagnóstico. Naqueles pacientes com diagnóstico de epilepsia parcial, apenas 17% (26 pacientes) apresentaram lesões ao IRM. Ainda, numa amostra de 277 pacientes que realizaram exames de neuroimagem, apenas 4,3% (12 pacientes) tiveram alterações diagnosticadas pela TC ⁽¹²⁾.

Num estudo em Salvador-Ba, o exame de IRM foi realizado em 75,06% dos pacientes com epilepsia, mas 41,86% (126 dos 301 desses pacientes) apresentaram imagens alteradas indicativas de patologia. A radiografia apresentou alterações em apenas 5,63% dos 142 pacientes e a tomografia computadorizada com alterações em 30,70% dos 114 pacientes que realizaram este exame. O estudo do líquido foi normal em 70,59% dos casos ⁽¹¹⁾.

O aspecto econômico dos pacientes teve influência para adotar a medicação. Oitenta por cento dos 301 pacientes ganhavam menos de 3 salários mínimos e apenas 24,09% deles usavam carbamazepina devido ao alto custo desta medicação e sua indisponibilidade para distribuição gratuita nos serviços públicos de saúde, quando esta proporção deveria ser maior, pois 40,15% dos pacientes tinham o diagnóstico de epilepsia parcial com generalização secundária ⁽¹¹⁾.

II.2 Carbamazepina para tratamento de crises epilépticas e aspectos da farmacocinética e farmacodinâmica desta droga

Num estudo clínico-experimental em 13 unidades do Centro Médico dos Veteranos de Guerra nos Estados Unidos da América, 480 pacientes na faixa etária de 18 a 70 anos com diagnóstico de epilepsia parcial complexa ou epilepsia tônico-clônica secundariamente generalizada foram distribuídos randomicamente entre os grupos de carbamazepina e do valproato. Nos pacientes com epilepsia parcial complexa a carbamazepina reduziu mais o número de crises do que o valproato ($p < 0,01$), apresentou menos efeitos adversos sistêmicos após 12 meses de seu uso como, por exemplo, ganho de peso ($p < 0,01$) e tremores ($p < 0,001$). Apesar disso, não houve diferença significativa entre a efetividade da carbamazepina e do valproato para o tratamento da epilepsia tônico-clônica secundariamente generalizada. Assim, por conta do número reduzido dos efeitos adversos em relação ao valproato, a carbamazepina é a droga de primeira escolha para o tratamento da epilepsia parcial complexa ⁽¹³⁾.

A carbamazepina é um composto tricíclico ⁽¹⁴⁾ com a seguinte fórmula estrutural ⁽³⁾:

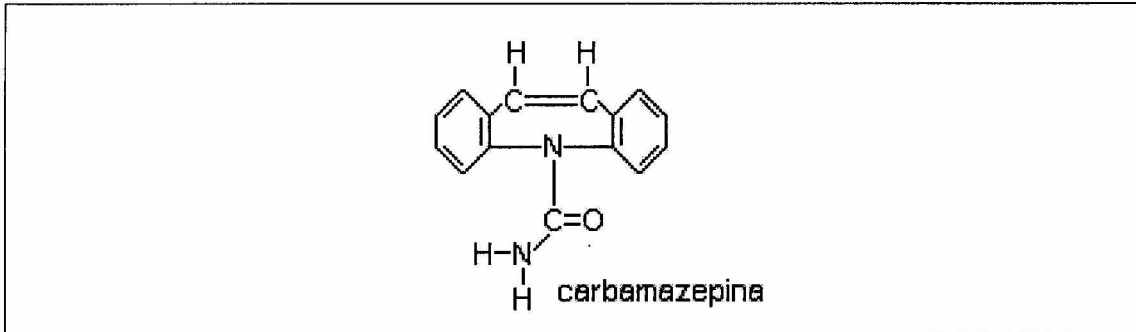


Figura 1. Estrutura química da carbamazepina

A carbamazepina inibe o “disparo repetido sustentado” dos neurônios produtores de crise epiléptica, mantendo-os despolarizados, por mais tempo, através do retardo da recuperação do potencial elétrico dos canais-de-sódio-dependentes-de-corrente-elétrica ⁽¹⁵⁾. Além disso, esta droga sofre alterações metabólicas no hepatócito, sendo inativada ou potencializada ⁽³⁾.

A metabolização da carbamazepina gera os metabólitos 9-hidroximetil-10-cabarmoil-acridan, 2-hidroxicarbamazepina, 3-hidroxicarbamazepina, 10,11-epoxicarbamazepina e a trans-10,11-dihidroxi-10,11-dihidrocarbamazepina. Os dois últimos são originados no sistema de enzimas conhecido como citocromo P-450 ou via “epoxi-diol”, compostos pelas enzimas epoxidase e epóxido-hidrolase. O penúltimo deles é originado pela ação da enzima epoxidase sobre o fármaco e apresenta ação antiepiléptica. Ainda, este metabólito sofre alteração pela enzima epóxi-hidrolase para

trans-10, 11-dihidroxi – 10,11 –dihidrocarbamazepina, um composto inativo que depois será eliminado na urina ^(16,17,18,19):

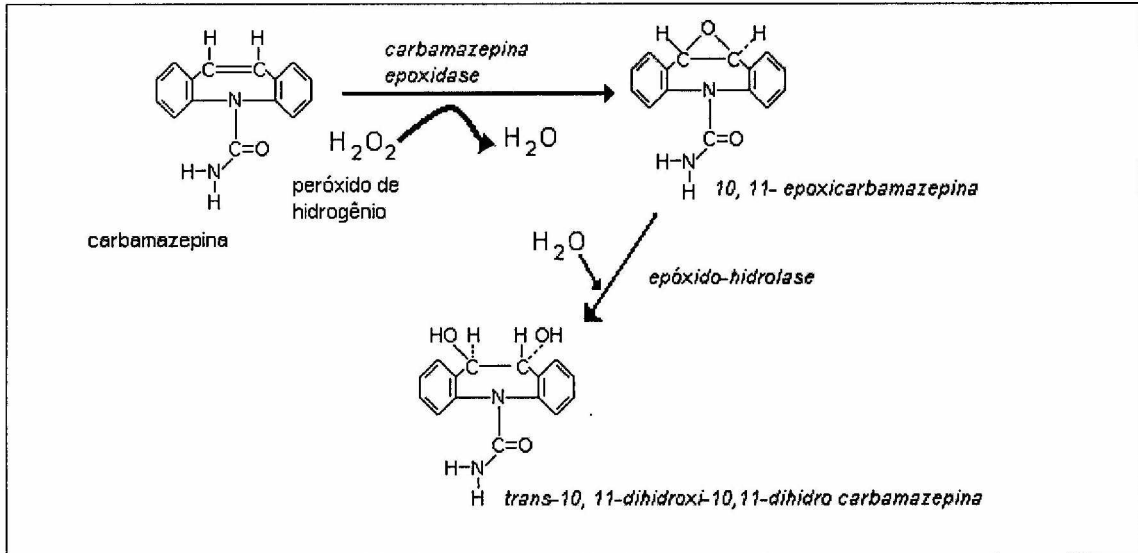


Figura 2. Esquema das transformações “in vivo” da carbamazepina.

Uma outra quantidade de 10,11-epoxycarbamazepina sofre conjugação no fígado pelo UDP-glicuronato, tornando-se inativo ⁽³⁾.

Quarenta e uma crianças com apenas o diagnóstico de epilepsia apresentaram correlações iguais a -0,494 ($p < 0,001$), a 0,595 ($p < 0,001$) e a 0,937 ($p < 0,001$) entre o “clearance” da carbamazepina total e as variáveis idade, dose diária e frações livres deste fármaco respectivamente. Isto permite utilizar os dados sobre a dose/dia (mg de carbamazepina/Kg de massa corpórea do paciente/dia) ou a concentração sérica (μM) dessa droga. Contudo, os dados desta última variável são mais utilizados pelos pesquisadores, pois seus coeficientes de correlação com as frações livres deste fármaco e com as frações livres da 10,11-epóxi-carbamazepina (CBZ-E) foram 0,942 ($p < 0,001$) e 0,951 ($p < 0,001$) respectivamente ⁽²⁰⁾.

A carbamazepina é absorvida lentamente por via oral, apresenta um pico de concentração sérica entre 4 a 8 horas após ingesta, uma meia-vida de 10 a 20 horas, quando usada por mais de 5 meses, 71 a 77% ficam ligados às proteínas plasmáticas. Seus níveis séricos terapêuticos variam de 6 a 12 $\mu\text{g/mL}$, sendo que, ao nível de 9 $\mu\text{g/mL}$, alguns pacientes podem apresentar efeitos mais intensos deste fármaco ⁽³⁾.

II.3 Enzimas séricas

II.3.1 Transaminases

As transaminases são enzimas que transferem o grupamento amínico ($-\text{NH}_2$) de um aminoácido para um ceto-ácido por meio da coenzima piridoxal-5'-fosfato (PAL). Há uma centena destas proteínas, sendo cada uma delas específica para determinado amino-ácido ⁽²¹⁾.

As transaminases AST (L- aspartato: 2-oxiglutarato amino transferase, EC 2.6.1.1), conhecida como TGO (transaminase glutâmico-oxalo-acética), e a ALT (L- alanina: 2-oxiglutarato amino transferase, EC 2.6.1.2), ainda conhecida com TGP (transaminase glutâmico-pirúvica), são muito utilizadas nos estudos diagnósticos para lesão hepática ou cardíaca ⁽²¹⁾.

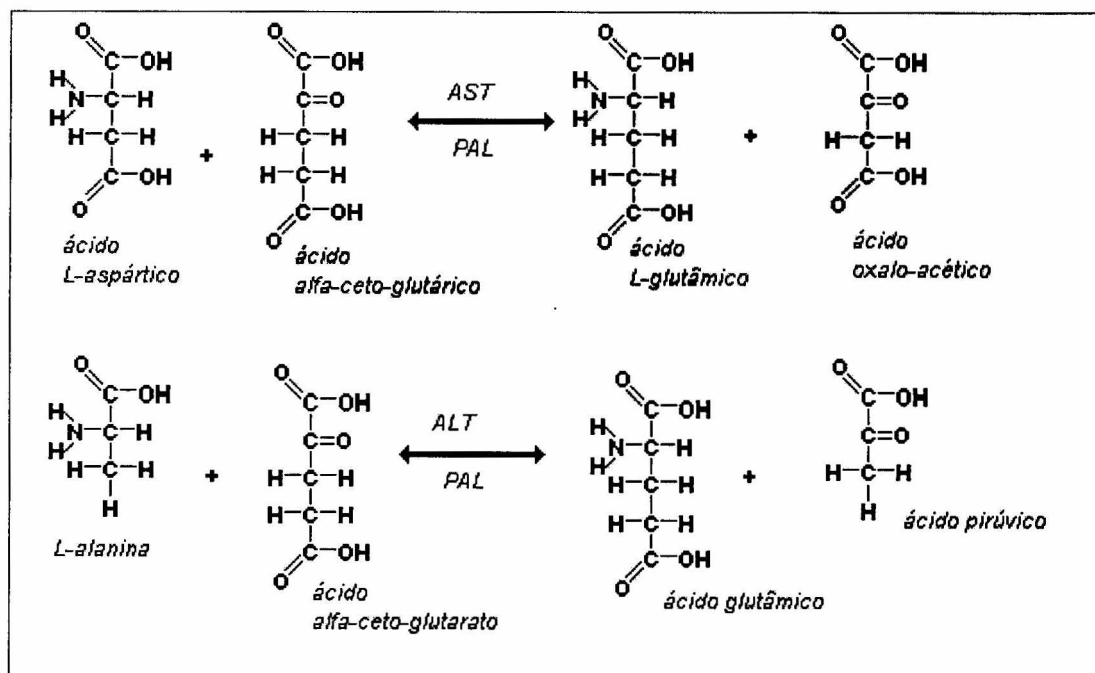


Figura 3. Resumo das ações da aspartato-amino transferase e da alanina-amino transferase.

A atividade relativa das AST expressa em miliunidade de enzima (mU) por grama (g) de tecido, foi determinada como 44, no fígado, 19, no rim, 7,1, no coração, 4,8, no músculo esquelético, 2,0, no pâncreas, 1,2, no baço, 0,7, no pulmão e 0,016, no soro ⁽²¹⁾.

A contribuição de cada grama de tecido em relação a cada grama de soro quanto a atividade da AST é de 7800 vezes para o coração, 7100 vezes para o fígado, 5000 vezes para o músculo esquelético, 4500 vezes para o rim, 1400 vezes para o pâncreas, 700 vezes para o baço, 500 vezes para o pulmão, 15 vezes para a hemácia e 1 vez para o soro. Quanto a atividade da ALT, 2850 vezes para o fígado, 1200 vezes para o rim, 450 vezes para o coração, 300 vezes para o músculo esquelético, 130 vezes para

o pâncreas, 80 vezes para o baço, 45 vezes para o pulmão e 1 vez para o soro ⁽²²⁾.

Apesar das ALT estarem presentes no citossol e mitocôndrias, as isoenzimas mitocondriais são instáveis e apresentam uma concentração sérica baixíssima. Quanto às AST, estas são mais estáveis e estão presentes também no citossol e mitocôndrias ^(23,24).

A dosagem das transaminases pelo kit "Doles" ⁽²⁵⁾ se baseia no método descrito por Reitman-Frankel ⁽²⁶⁾. Quanto a dosagem de AST, o método deste kit apresenta um coeficiente de correlação com o de Reitman-Frankel igual a 0,99 e uma função de regressão linear $Y = 0,66 + 0,997X$, como também, sua reprodutibilidade em 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos para as amostras 1 e 2, obtendo $37,96 \pm 0,65$ URF/mL com coeficiente de variação igual a 1,72% e $90,10 \pm 1,20$ URF/mL com coeficiente de variação igual a 1,09%, respectivamente. Quanto a dosagem das ALT, seu coeficiente de correlação é igual a 0,99 e uma função de regressão linear $Y = 0,2 + 1,001X$, como também, sua reprodutibilidade em 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos para as amostras 1 e 2, obtendo $31,93 \pm 1,21$ URF/mL com coeficiente de variação igual a 3,78% e $112,29 \pm 1,97$ URF/mL com coeficiente de variação igual a 1,76%, respectivamente.

II.3.2 Gama-glutamiltransferase

A gama-glutamiltransferase (EC 2.3.2.2) é também conhecida como, gama-glutamiltranspeptidase, GGT ou GGTP. Esta enzima catalisa a reação de transferência do grupamento glutamil do glutation para um aminoácido qualquer quando se pretende transportar este aminoácido para o interior celular, exceto a prolina ⁽²⁷⁾. Esta enzima biossintetiza o glutation (gama-glutamilcisteinilglicina) também, promovendo uma reação de adição do grupo glutamil ao dipeptídeo cisteinilglicina ⁽²⁸⁾:

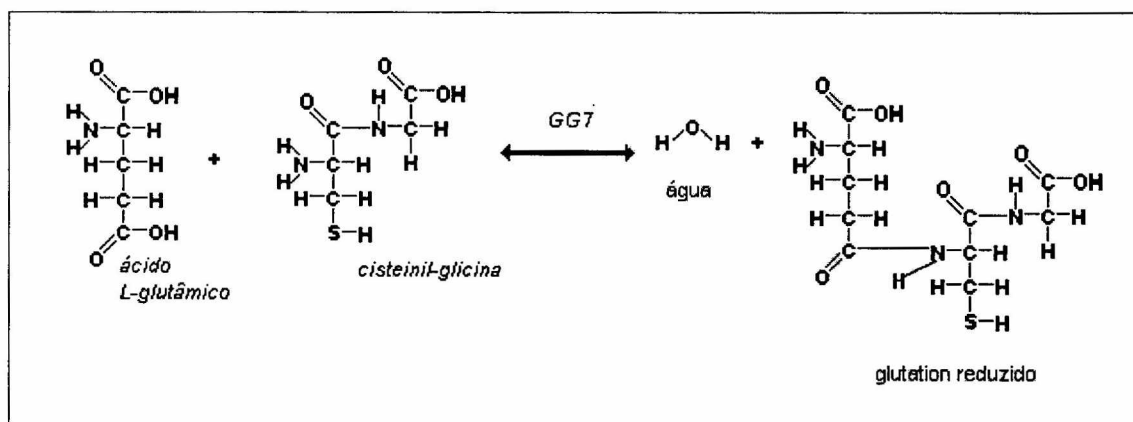


Figura 4. Resumo da ação da gama-glutamil transferase para a formação do glutation reduzido.

A GGT está situada na membrana plasmática das células epiteliais dos túbulos renais e do jejuno. Também é produzida em todo o parênquima hepático até o ducto biliar comum como, também, nos ácinos pancreáticos. O aumento concomitante das GGT e fosfatases alcalinas é uma forte indicação de lesão no sistema hepatobiliar ^(29,30).

Os níveis das atividades enzimáticas das γ -GT podem alcançar 5 a 30 vezes o valor normal na obstrução intrahepato-biliar ou pós-hepatobiliar,

2 a 5 vezes o normal para hepatite infecciosa e intoxicações por drogas, 5 a 15 vezes o normal nas pancreatites e níveis normais em afecções ósseas como na doença de Paget ⁽³¹⁾.

A contribuição de cada grama de tecido em relação a cada grama de soro quanto a atividade da EC 2.3.2.2 é de 7.240 vezes para o rim, 614 vezes para o pâncreas, 288 vezes para o fígado, 113 vezes para o baço, 23 vezes para o pulmão, 5 vezes para o músculo esquelético, 3 vezes para o coração, 1 vez para o soro ⁽²⁸⁾.

A γ -glutamyltransferase, no lóbulo hepático humano normal, é mais concentrado no epitélio do canalículo e ducto biliar da zona periportal. Um achado comum no tecido hepático patológico é o aumento da GGT das membranas canaliculares e do epitélio do ducto biliar ^(24,32).

A dosagem da EC 2.3.2.2 pelo kit "Doles" ⁽³³⁾ se baseia no método descrito por Naftalin ⁽³⁰⁾. O referido kit apresentou um coeficiente de correlação com o método de Naftalin igual a 0,99 e uma função de regressão linear $Y = 1,568 + 1,021X$. A reprodutibilidade deste kit em 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos obtendo para as amostras 1, 2 e 3 as atividades $9,77 \pm 0,47$ UI/L, $19,12 \pm 0,79$ UI/L, $75,04$ UI/L, respectivamente, assim como seus coeficientes de variação iguais a 4,81%, 4,13% e 1,63%.

II.3.3 Fosfatases alcalinas

As fosfatases alcalinas constituem um conjunto de isoenzimas das quais as ósseas, intestinal, hepática e placentária são as mais estudadas. As frações ósseas têm uma atividade sérica mais elevada entre pacientes com menos de 30 anos de idade ⁽³⁴⁾. As FA estão predominantemente localizadas na membrana plasmática de células daqueles órgãos ⁽³⁵⁾ e catalisam reações de hidrólise (transferência do grupo fosfato para a água) de ésteres fosfóricos e de transferências de fosfatos entre álcoois e fenóis sob meio alcalino. Apesar destas duas funções, estas isoenzimas são classificadas como monoésteres ortofosfórico fosfo-hidrolases ou EC 3.1.3.1 ^(22,34,36):

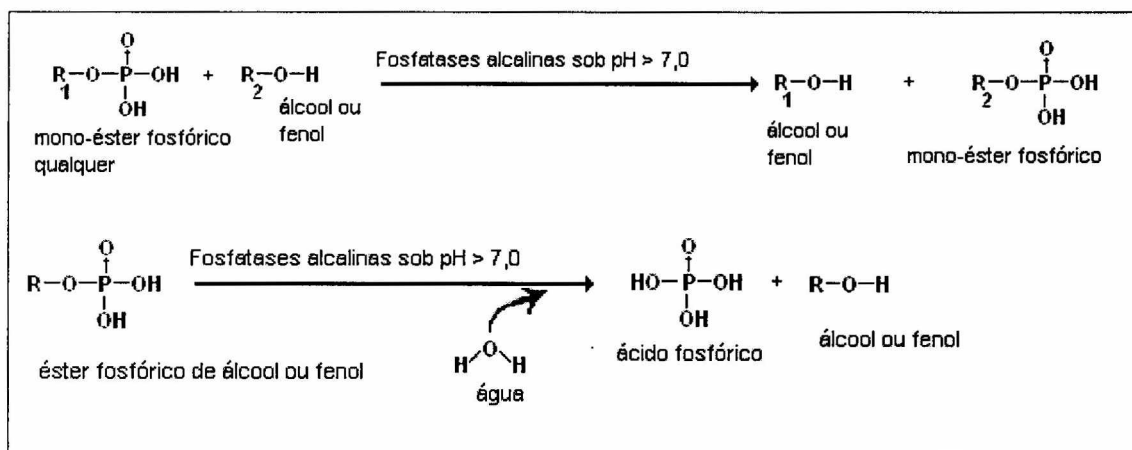


Figura 5. Resumo das ações de transferência e hidrólise promovidas pelas fosfatases alcalinas.

A uréia em altas concentrações (a partir de 3 mol/L) em contacto com amostras de fosfatase alcalinas sob 37 °C, por 18 minutos inativa irreversivelmente 84%, 56% e 31% das fosfatases alcalinas ósseas, hepáticas e intestinais (ou placentárias), respectivamente ^(22,37).

O método de determinação da atividade das fosfatases alcalinas ⁽³⁸⁾ foi desenvolvido em 1946 e reavaliado em 1967 ⁽³⁹⁾. A dosagem da EC 3.1.3.1 pelo kit "Doles" ⁽⁴⁰⁾ se baseia no método de Bessey, Lowry e Brock. O referido kit apresentou um coeficiente de correlação com o método de Bessey, Lowry e Brock igual a 0,99 e uma função de regressão linear $Y = 0,68 + 1,005X$. A reprodutibilidade deste kit em 20 dosagens, durante 20 dias consecutivos obtendo para as amostras 1, 2 e 3 as atividades $8,02 \pm 0,35\text{UI/L}$, $35,18 \pm 0,97\text{UI/L}$, $148,40 \pm 2,41\text{UI/L}$, respectivamente, assim como seus coeficientes de variação iguais a 4,36%, 2,76% e 1,62%.

II.4 Alterações clínicas, séricas, histológicas e metabólicas em pacientes que usam carbamazepina.

II.4.1 Reversibilidade das alterações hepáticas

Os indícios de recuperação hepática foram encontrados num estudo onde, após fragilização com fenobarbital, as atividades séricas das transaminases, outrora elevadas após tratamento com fenobarbital, retornaram aos níveis normais após 7 dias de suspensão desta medicação ⁽⁴¹⁾.

A reversibilidade das alterações hepáticas em função da dosagem e do tempo de tratamento também foi verificada num relato de caso de 2 pacientes, usuários de valproato, cujos níveis de AST, fosfatases alcalinas e L-lactato desidrogenase iguais a 183UI/L , 668UI/L e 584UI/L , respectivamente, retornaram aos níveis normais após 10 dias de suspensão desta droga ⁽⁴²⁾. Outro estudo experimental com ratos no qual apresentou mitocôndrias sendo englobadas por vacúolos autofágicos, aumento de

peroxissomos e cisternas do complexo de Golgi 3 a 5 horas do início da aplicação de 200 a 600 mg/Kg de valproato pela via intra-peritoneal, mas evoluindo para a normalidade ao fim das 12 a 24 horas desta aplicação ⁽⁴³⁾.

O processo geral de regeneração hepática foi estudado em um outro modelo experimental. Num fígado adulto normal de ratos, a taxa de replicação ficou em torno de 0,5 a 1,0% de suas células. Após hepatectomia parcial, a replicação iniciou em torno de 12 horas, tendo seu pico máximo entre 1 a 2 dias, quando existiam 10% do total de células sob replicação. Após este processo de regeneração, ocorre o declínio de síntese de DNA e, entre 1 a 2 semanas, a massa do fígado é restaurada ⁽⁴⁴⁾.

Outro exemplo de recuperação dos níveis fisiológicos de marcadores hepáticos aconteceu num estudo clínico-epidemiológico no qual a carbamazepina esteve associada com casos de hepatite aguda, hepatite colestásica, colestase com ductopenia e infiltrado portal e periportal, onde as fosfatases alcalinas e as ALT estavam aumentadas em 3 e 8 vezes acima do normal. No caso de ductopenia com colestase, granulomas e colangite, a regeneração aconteceu após suspensão da droga e tratamento com ácido urso-desoxicólico (7 β -chenodesoxicólico) 10mg/Kg/dia durante 19 meses. Observou-se que a normalização das atividades séricas de enzimas hepáticas aconteceu entre 2 a 4 semanas após o diagnóstico de hepatite aguda, 4 a 20 semanas nos casos de colestase "pura", 8 a 24 semanas nos casos de hepatite colestásica após supressão da droga ⁽⁴⁵⁾.

II.4.2 Alterações nas atividades de enzimas séricas durante monoterapia por carbamazepina.

Cento e dez pacientes (54 homens com a média de idade igual a 44,3 anos e 56 mulheres com média de idade igual a 48,3 anos) foram observados, retrospectivamente, num estudo do tipo série de casos no qual fizeram monoterapia com difenilhidantoína e carbamazepina e apresentaram níveis elevados de fosfatases alcalinas, GGT, AST e ALT. No grupo da difenilhidantoína, 91% para GGT e 39% para fosfatases alcalinas. No grupo da carbamazepina, 64% para GGT e 14% para fosfatases alcalinas. Apesar destes valores, os pesquisadores não encontraram correlação entre os níveis elevados destas enzimas com a idade e nem com o sexo ⁽⁴⁶⁾.

Trinta pacientes com idade de 14 a 63 anos (média \pm desvio-padrão iguais a $31,27 \pm 2,49$ anos) tiveram GGT elevada em 18 (60%) pacientes que estavam sob monoterapia de 3 meses a 6 anos (média \pm desvio-padrão iguais a $6,45 \pm 1,33$ anos) com carbamazepina ⁽⁴⁷⁾.

Ainda num outro trabalho, trinta e nove pacientes na faixa etária de 2 a 99 anos sob monoterapia com carbamazepina cuja dose, concentração sérica, e tempo de uso não foram mencionados, 9,6% e 19,2% deles apresentaram aumento nas atividades séricas das fosfatases alcalinas e das GGT, respectivamente. Inclusive, as atividades da 5'-nucleotidase também estiveram aumentadas, indicando indução enzimática nos hepatócitos sob jejum durante a coleta de sangue. Estas atividades séricas foram

determinadas pelos métodos de Bowers/McComb (1975) para as fosfatases alcalinas e de Szasz (1969) para as GGT ^(48,49,50).

RAO et al. (1993) estudaram treze pacientes com idade de 30 ± 11 anos, 8 (67%) deles apresentaram alterações na GGT, 1(7,7%) deles, na ALT e nenhum deles, na AST. Os pacientes estavam sob jejum foi de 12 horas e as amostras de soro foram obtidas de sangue centrifugado a 900g por 10 min. As atividades séricas das enzimas GGT e transaminases determinadas pelo kit "Boehringer Mannheim". O tempo de uso de carbamazepina ou a dose desta droga não foram publicados ⁽⁵¹⁾.

Entre trinta e um pacientes de faixa etária de $33,7 \pm 15,9$ anos e tempo de terapia de $6,6 \pm 4,2$ anos, 19% e 13% deles tiveram alterações nas atividades das GGT e FA, respectivamente, enquanto que nenhum deles teve para AST. Não foi referido se o paciente estava ou não em jejum, nem foi citado ou relatado o método de separação do plasma e de dosagens destas enzimas ⁽⁵²⁾.

Vinte e cinco pacientes, sendo 12 mulheres de idade (média \pm desvio-padrão) $35 \pm 14,4$ anos e 13 homens de idade (média \pm desvio-padrão) $30,7 \pm 13,3$ anos, tiveram a GGT sérica dosada antes do início da monoterapia com carbamazepina, após 2 meses, 1 ano e 5 anos de iniciada esta terapêutica. O sangue foi coletado pela manhã após jejum 12 horas. As atividades das GGT aumentaram progressivamente durante os 5 anos, apesar da concentração sérica daquele fármaco não variar significativamente.

Mesmo assim, acredita-se que este fenômeno seja uma indução enzimática provocada pela carbamazepina ⁽⁵³⁾.

Trinta e seis crianças na faixa etária de 5 a 15 anos sob monoterapia com carbamazepina numa dose de 20mg/Kg/dia por um período entre 5 a 92 meses apresentaram médias das atividades séricas das ALT, AST e GGT aumentadas ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle, sendo a maior variação de atividade para a GGT. Além disso, a proporção de pacientes com alterações nestas atividades foram 61% para AST, 27% para ALT e 56% para γ -GT. Não foi citado se o paciente estava ou não em jejum, mas, sim, o método de dosagens das enzimas como teste comercial "Boehringer Mannheim" ⁽⁵⁴⁾.

A gama-glutamil transferase e as bilirrubinas estiveram aumentadas em estudo transversal, sendo 33 pacientes com idade de $38,0 \pm 1,5$ anos, sob monoterapia por carbamazepina cuja dose (mg/dia) e concentração sérica (mg/L) foram expressos em média \pm desvio-padrão (mediana) e iguais a $681,8 \pm 36,3$ mg/dia (600 mg/dia) e $5,0 \pm 0,4$ mg/L (4,4 mg/L), respectivamente. O sangue obtido antes da dose matinal do antiepilético, porém, sem referir se o paciente estava ou não em jejum no momento da punção venosa. Os níveis de GGT foram iguais a $76,3 \pm 7,2$ U/L (58 U/L) sob 30°C pelo método de Beck ⁽⁵⁵⁾, significativamente altos ($p < 0,001$) em relação ao seu grupo controle, $16,7 \pm 1,3$ U/L ⁽⁵⁶⁾.

II.4.3 Evidências de alteração óssea pela carbamazepina

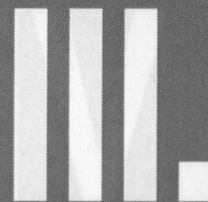
Quarenta e um pacientes foram observados num estudo transversal sob monoterapia por carbamazepina por 2 anos ou mais, na faixa etária de 16 a 67 anos. As fosfatases alcalinas totais foram dosadas usando o p-nitrofenolfosfato como substrato e a dietanolamina como tampão. Os resultados destas determinações apresentaram que aquelas enzimas estavam aumentadas em 22% dos pacientes e as frações ósseas e não-ósseas daquelas, em 24 e 7%, respectivamente. Além disso, 20% entre aqueles com aumento de atividade da fração óssea não tiveram aumento para as fosfatases alcalinas totais ⁽⁵⁷⁾.

Treze crianças numa faixa etária entre 6,5 e 19,5 anos ($13,2 \pm 4,1$ anos, sendo média \pm desvio padrão) sob monoterapia com carbamazepina por um período entre 1,5 a 9 anos ($3,9 \pm 2,3$ anos, sendo média \pm desvio-padrão), obtendo níveis séricos de 4,3 a $10,92 \mu\text{g/mL}$ ($6,88 \pm 2 \mu\text{g/mL}$, sendo média \pm desvio-padrão) para esta droga, desenvolveram uma redução da massa óssea em menos de 5% da densidade dos controle, porém, não significativamente, quando comparado com valproato, que conseguiu uma redução de 14% ($p = 0,003$) para as vértebras L4 e L5 e de 10% ($p = 0,005$) para o terço distal do osso rádio ⁽⁵⁸⁾.

Grupos estratificados em diferentes estágios puberais, sendo 60 pacientes com epilepsia e 60 normais, encontraram que os níveis séricos das fosfatases alcalinas, principalmente as isoenzimas ósseas, estavam

aumentados; outros marcadores ósseos estavam aumentados no 2º ano de terapêutica por carbamazepina, independentemente do estágio puberal ⁽⁵⁹⁾.

Dezoito pacientes com epilepsia na faixa etária 4 a 18 anos ($11,26 \pm 3,59$ anos), sob terapêutica com carbamazepina entre 10 meses e 5 anos ($3,12 \pm 1,09$ anos), foram comparados com 16 pacientes normais na faixa de 4,5 a 17 anos ($11,16 \pm 1,13$ anos), contudo, não encontrou diferenças significativas quanto a atividade das fosfatases alcalinas ⁽⁶⁰⁾.



JUSTIFICATIVA

Alguns dos trabalhos citados que descrevem as alterações nas atividades das enzimas AST, ALT, GGT ou fosfatases alcalinas em pacientes que fizeram monoterapia com carbamazepina, porém, metodologicamente diferentes entre si, dificultando a extrapolação de seus resultados para outras comunidades.

Assim, conhecer tal proporção permite pensar sobre a magnitude e, por conta disso, estimular novas linhas de pesquisa nas áreas de ciências biológicas/saúde básicas (por exemplo, atividade da arginase total e suas isoenzimas), clínicas e psico-sociais para testar hipóteses como, também, estimular o processo de avaliação sobre a terapêutica de pacientes com epilepsia ou impulsionar as autoridades e sociedade para um melhor planejamento da política de saúde para o paciente com epilepsia, assim como pesquisa de novos fármacos.

IV.

CASUÍSTICA, MATERIAL E OBJETIVO

IV.1 Geral

Descrever as características sócio-econômicas dos pacientes, as concentrações séricas da carbamazepina, conhecer as proporções de atividades alteradas para as FA, GGT, AST e ALT em pacientes epiléticos sob monoterapia por carbamazepina do ambulatório filantrópico de epilepsia da Fundação de Neurologia e Neurocirurgia – Instituto do Cérebro.

CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

V.1 Local da pesquisa com respectivas instalações ou serviços

Fundação de Neurologia e Neuro-Cirurgia – Instituto do Cérebro: banco de dados do SAME e pacientes do ambulatório filantrópico de epilepsia desta Instituição.

Laboratório de Pesquisas Básicas da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) – Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências (FBDC): vidrarias, substâncias e equipamentos.

V.2 Característica do ambulatório filantrópico da Fundação de Neurologia-Neurocirurgia/Instituto do Cérebro

O ambulatório é gratuito e destinado a pacientes que possuam uma renda familiar de até 6 salários mínimos ou e que freqüentavam ambulatórios públicos de serviços de neurologia em Salvador-Bahia.

V.3 Desenho do estudo

É um estudo descritivo.

V.4 Definição de caso

Pacientes com diagnóstico de epilepsia e monoterapia com carbamazepina estabelecidos pelo neurologista e com obediência aos critérios de inclusão.

V.5 Critérios de inclusão

Faixa etária igual ou maior de 12 anos, residente em Salvador-Bahia, ambos os sexos, diagnóstico clínico de epilepsia (mais de 2 crises epilépticas em 365 dias, a partir do aparecimento do primeiro episódio), tempo de uso mínimo de antiepilépticos em 5 dias consecutivos ou abstinência de antiepilépticos de, no máximo, 7 dias. Os menores de 18 anos foram incluídos na pesquisa, mediante sua própria permissão e de seus pais ou responsáveis.

V.6 Critérios de exclusão

Pacientes gestantes, uso de anticoncepcionais orais e de estrogênios, uso de antiepiléticos por menos de 5 dias consecutivos, abstinência de antiepiléticos por mais de 7 dias, hepatite referida, uso referido de 50 mL de bebida alcoólica de qualquer teor nos últimos 7 dias, uso referido de halotano, trabalhador de indústria química (tetracloreto de carbono), uso referido de antiarrítmicos (amiodarona e quinidina), uso referido de imunossuppressores (azatioprina, ciclosporina e fenilbutazona), antineoplásico (tioguanina, metotrexato), anti-hipertensivo (hidralazina e metildopa), antibiótico macrolídico (eritromicina), quimioterápico para micobactérias (isoniazida), antibiótico para infecção urinária (nitrofurantoína), oxacilina, hipoglicemiante (sulfonamida), icterícia, sinal de Murphy (sinal de manifestação dolorosa à palpação profunda na região abdominal hipocôndrio direito concomitante à inspiração forçada, indicando a existência de processo inflamatório na vesícula biliar.) presente, história de problemas de coagulação, obesidade, diabetes, esteatose hepática, outras hepatopatias, e outros diagnósticos, exceto epilepsia.

V.7 Processo de cálculo do tamanho amostral

Considerando um trabalho com uma amostra de 36 pacientes dos quais 27% apresentaram alterações na atividade da ALT ⁽⁵⁴⁾ sob monoterapia com carbamazepina e assumindo que as distribuições das atividades alteradas e não-alteradas das enzimas tenham uma distribuição normal, o tamanho amostral foi calculado da seguinte maneira ^(61,62,63)

V.7.1 Cálculo da proporção populacional estimada (P)

$$P \text{ inferior} = \{(2np + Z^2 - 1) - Z [Z^2 - (2 + 1/n) + 4p (nq + 1)]^{1/2} \} / [2 (n + Z^2)].$$

$$P \text{ superior} = \{(2np + Z^2 + 1) + Z [Z^2 + (2 - 1/n) + 4p (nq - 1)]^{1/2} \} / [2 (n + Z^2)].$$

$$P \text{ inferior} \approx 0,14 \text{ e } P \text{ superior} \approx 0,452, \text{ quando se admite } t_{0,05 \text{ bilateral}, gl = 35} = 2,021.$$

* onde n é o tamanho amostral, p é a proporção amostral, Z é o valor crítico do teste Z para um determinado grau de liberdade (gl) e um nível de confiança de 95%, gl = n - 1, q = 1 - p, n=36 e p=27%:

V.7.2 Cálculo do tamanho amostral para esta pesquisa a partir da estimativa populacional acima e a proporção encontrada

$$n = \{P(1 - P) Z^2\} / (p - P)^2$$

n amostral para P igual a 0,14 \approx 29,1 para usuários de carbamazepina, quando se admite $t_{0,05}$ bilateral, gl = 35 = 2,021. Porém, n amostral mínimo é igual a 30 pacientes.

n amostral para P igual a 0,45 \approx 31,20 para usuários de carbamazepina, quando se admite $t_{0,05}$ bilateral, gl = 35 = 2,021. Porém, n amostral mínimo é igual a 32 pacientes.

Cálculo do tamanho amostral para que os resultados tenham um poder de inferência igual a 80%:

Considerando os dados ⁽⁵⁴⁾ como n=36, $P_a = 0,27$, os valores estimados populacionais calculados P inferior \approx 0,14 e P superior \approx 0,452, o grau de liberdade de 40, um erro tipo β unilateral igual a 0,20, o valor crítico deste erro tipo β (W_β) igual a 0,851, um erro tipo α bilateral igual a 0,05, o valor crítico deste erro tipo α (Z_α) igual a 2,021, calculou-se o n amostral para que o poder fosse minimamente igual a 80% à partir da equação $n = [\{Z_\alpha(P_o Q_o)^{1/2} + w_\beta(P_a Q_a)^{1/2}\}^2 : (P_a - P_o)^2$. Admitindo que a proporção populacional (P_o) seja, pelo menos, o P inferior \approx 0,14, o tamanho amostral n fica igual a aproximadamente 69,2. Por outro lado, admitindo que a proporção populacional (P_o) seja, pelo menos, P superior \approx 0,452, o

tamanho amostral n fica igual a aproximadamente 42,6. Os valores críticos dos erros acima mencionados foram encontrados na tabela "valores críticos da distribuição t de Student" ⁽⁶³⁾.

V.8 Tamanho amostral adotado

O tamanho amostral adotado foi 43, pois, a proporção superior 0,452 está no intervalo de confiança de 95%.

V.9 Amostragem

Os pacientes foram do ambulatório filantrópico de epilepsia da Fundação de Neurologia-Neurocirurgia/Instituto do Cérebro, situado em Salvador-BA. Não foi possível acessar todos os prontuários de pacientes com diagnóstico de epilepsia sob monoterapia por carbamazepina cadastrados no referido serviço. Daí, não foi possível elaborar a lista de unidades a serem sorteadas. A amostra foi do tipo "conveniência", não-aleatória. Os pacientes previamente marcados que freqüentaram o ambulatório acima referido foram identificados, sob os critérios de inclusão, no dia da consulta através de pesquisa de prontuários, entrevista ou anamnese. Após o cadastramento do paciente na pesquisa, não houve coleta de dados do paciente quando o mesmo fez consulta de revisão com o neurologista.

V.10 Período de coleta após aprovação pelo comitê de ética

O período de coleta das amostras foi de junho a novembro de 2004.

V.11 Tipos de variáveis

Categórica e contínua.

V.11.1 Variável categórica

Proporção de usuários com elevação nas taxas séricas de fosfatases, alanina-amino transferase, gama-glutamil transferase.

V.11.2 Variável contínua

Atividades séricas das fosfatases alcalinas, alanina-amino transferase, aspartato-amino transferase e gama-glutamil transferase; concentração sérica de carbamazepina; tempo de uso do medicamento e da idade.

V.12 Agrupamento dos pacientes

Os pacientes foram estratificados em 4 subgrupos caracterizados como abaixo ou acima de 30 anos, uma vez que as fosfatases alcalinas estão fisiologicamente aumentadas nos pacientes abaixo dos 30 anos ⁽³⁴⁾: faixa etária de 12 a 30 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina (A), faixa etária de 12 a 30 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina (B), faixa etária de 31 a 90 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina (C) e faixa etária de 31 a 90 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina (D).

V.13 Material, recrutamento dos pacientes e método de coleta, transporte e dosagem das enzimas

1) Questionário e termo de consentimento livre e informado.

- 2) Reagentes para dosagem das transaminases, fosfatases e γ -glutamil-transferase, Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda.
- 3) Seringas descartáveis esterilizadas.
- 4) Álcool etílico a 70%.

O paciente identificado de acordo com os critérios de inclusão foi convidado a participar desta pesquisa. Uma vez de acordo, o paciente assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, respondeu questionário presente na "Ficha Cadastral do Paciente" e foi orientado a fazer a venopunção para coleta de sangue, que foi transportada, no mesmo dia, sob temperatura ambiente, respeitando as condições de biossegurança, para o Laboratório de Pesquisas Básicas da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública da Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências, onde foram centrifugadas a 900G e obtido o soro⁽⁶⁴⁾, que foi conservado a -20 °C para as dosagens das atividades enzimáticas.

Os pacientes não estavam em jejum e a punção venosa foi realizada em até 6 horas após a dose matinal da carbamazepina.

Os dados sócio-econômicos, terapêuticos e de exames complementares foram obtidos dos prontuários ou do inquérito pelo questionário realizado ao próprio paciente ou seu responsável. O questionário faz parte da ficha de Identificação utilizada para esta pesquisa.

A coleta da amostra de sangue de cada paciente obedeceu aos critérios de biossegurança. A sala de coleta e seus móveis estiveram higienizados com solução alcalina de hipoclorito de sódio, os técnicos vestiam avental e luvas, assepsia da pele feita com álcool a 70%, as seringas plásticas esterilizadas foram descartadas em recipiente exclusivo para materiais perfuro-cortantes.

V.14 Dosagem das fosfatases alcalinas

O princípio da dosagem das fosfatases alcalinas se constituiu de incubação do soro com p-nitrofenilfosfato, sal de ciclohexilamina, num meio alcalino, que sofreu a ação das fosfatases alcalinas sob um pH 10,3 e liberou o p-nitrofenol, tornando a solução amarela cuja intensidade de cor foi diretamente proporcional à atividade das fosfatases alcalinas.

Os reagentes foram 35 mg de p-nitrofenilfosfato liofilizado, tampão de pH 10,3 (2-amino, 2-metil, 1-propanol 3M e dietanolamina 0,85M tamponada a 10,3), solução padrão (cada 20 μ L desta solução corresponde a 150 UI/L de fosfatases alcalinas), solução de ácido acético 3,4M, solução de hidróxido de sódio 0,1N. O substrato-de-uso foram preparado adicionando 10 mL de água destilada a cada 35mg de p-nitrofenilfosfato.

Três tubos de ensaio foram marcados. O primeiro, com a letra B, correspondente ao branco; o segundo, T, referente ao teste; e o terceiro, P, concernente ao padrão. Adicionados 5,5 mL de hidróxido de sódio 0,1N e 20 μ L de solução padrão no tubo P, seguida de homogeneização, calibrando o

aparelho em zero de absorvância com água destilada sob leitura em 410 nm. Imediatamente a calibração, foi lida absorvância do padrão (DOP). Seguidamente, foram colocados 0,4 mL de substrato-de-uso e 2 gotas de tampão 10,3 nos tubos B e T. e deixados estes dois últimos tubos sob temperatura de 37 °C por 10 minutos,. Após este período, 50 µL de amostra foram adicionados no tubo T e submetidos os tubos B e T à 37°C por 10 minutos. Após esta etapa, colocados 5 mL de hidróxido de sódio 0,1N nos tubos B e T. Depois, 50 µL de amostra foram postos no tubo B. Os tubos B e T foram homogeneizados, e, finalmente lida a absorvância da solução do tubo T (DOT), após calibragem do espectrofotômetro ao zero de absorvância sob 410 nm com o tubo B.

O cálculo da atividade da enzima da solução teste:

$$\text{Atividade (UI/L)} = \text{DOT} \times (\text{atividade do padrão} : \text{DOP}).$$

Os valores normais foram 13 a 45 UI/L para adultos e 7 a 115 UI/L para crianças.

V.15 Dosagem das GGT

O princípio de dosagem das GGT se constituiu de incubação do soro, onde as gama-glutamilttransferases catalisaram a transferência do grupo glutamila da γ -glutamila-p-nitroanilida para a glicilglicina, liberando a p-nitroanilina. Esta sofreu reação com nitrito de sódio (NaNO_2) em meio ácido e formou o composto diazotado. Este reagiu com N-(1-naftil)-etilenodiamina

e formou um composto de cor rósea cuja intensidade da cor foi diretamente proporcional com a atividade da GGT.

Os reagentes foram o substrato (5,38 μ mol de γ -glutamil-p-nitroanilida e 100 μ mol de glicilglicina liofilizados), o tampão (Tris 0,1M pH 8), a solução inibidora (ácido acético 1M), nitrito de sódio 1,5% (1,09 mmol em 5mL de solução), o sulfamato de amônio 10%, o reagente de cor (N-(1-naftil)- etilenodiamina 50mg/dL), e a solução padrão (p-nitroanilina em ácido clorídrico 0,1M. Cada 0,5 mL desta solução corresponde a 100 UI/L de GGT).

Três tubos de ensaio foram marcados com a letra P, correspondente ao padrão. Adicionados 500 μ L de solução padrão, 2,5 mL de solução inibidora, 2 gotas de nitrito de sódio 1,5% nos 3 tubos-de-ensaios. Agitados e repousados por 3 minutos. Duas gotas de sulfato de amônio foram adicionadas naquelas misturas e homogeneizadas, seguido de repouso durante 2 minutos. Após este período, foi acrescentado 1,0 mL de reagente de cor nestas misturas. Depois, estas misturas foram, homogeneizadas e, finalmente, lidas as suas absorvâncias, após calibragem da densidade óptica do espectrofotômetro ao zero de absorvância com água destilada sob 530 nm.

A densidade óptica do padrão (DOP) foi a média aritmética entre as densidades ópticas encontradas (DOE):

$$\mathbf{DOP = (DOE_1 + DOE_2 + DOE_3) : 3}$$

Dois tubos-de-ensaio foram escolhidos. O primeiro deles foi marcado com a letra B, correspondente ao branco; e o segundo, com a letra T, concernente ao teste. Foram adicionados 0,5 mL de substrato-de-uso nos tubos. e submetidos a 37°C por 2 minutos. Depois, 50µL da amostra foram colocados na solução do tubo T. Ainda, na mesma temperatura, foram incubados por 10 minutos. E, seguidamente, acrescentados 2,5 mL de solução inibidora nas soluções do tubo B e T. Após isto, eles foram submetidos a temperatura ambiente. Sob a qual 50µL da amostra foram vertidos na mistura do tubo B e, imediatamente em seguida, 2 gotas de nitrito de sódio 1,5%, nas misturas dos tubos B e T. Depois, estas misturas foram homogeneizadas e submetidas ao repouso por 3 minutos., completadas com 2 gotas de sulfato de amônio 10%, seguida de agitação e repouso por 2 minutos. Depois, foi adicionado 1,0 mL de reagente-de-cor a cada uma daquelas misturas. Elas foram homogeneizadas e, finalmente, a absorbância da solução do tubo T (DOT) foi lida, após calibragem do espectrofotômetro ao zero de absorbância sob 530 nm com a solução do tubo B.

O cálculo da atividade:

$$\mathbf{Atividade (UI/L) = DOT \times (100 : DOP).}$$

Os valores normais foram 4 a 26 UI/L para homens e 4 a 22 UI/L para mulheres.

V.16 Dosagem das transaminases

O princípio da determinação da atividade das transaminases se constituiu na transferência de grupos amínicos de aminoácidos dos substratos L-alanina e L-aspartato para o α -cetogluturato, na presença do piridoxal-5'-fosfato, formando como produtos o L-glutamato, piruvato e oxaloacetato. Estes reagiram com a 2,4 dinitro-fenilhidrazina, formando a 2,4-dinitrohidrazonas do piruvato e do oxaloacetato.

Os reagentes foram o substrato TGP (solução L-alanina 0,2M, α -cetogluturato 0,002M, tampão de fosfatos 0,1M pH 7,4), o substrato TGO (solução L-aspartato 0,2M, α -cetogluturato 0,002M, tampão de fosfatos 0,1M pH7,4), solução padrão (piruvato de sódio estabilizado), o reagente de cor (2,4-dinitrofenilhidrazina 0,001) e o hidróxido de sódio 0,4N.

Uma curva de calibração foi preparada com a solução padrão. Cinco tubos de ensaio foram ordenados em 1, 2, 3, 4, 5. No tubo 1, foram adicionados 0,2 mL de água destilada e 1,0mL de substrato TGO; no tubo 2, 0,2 mL de água destilada, 0,9 mL de substrato TGO e 0,1mL de padrão; no tubo 3, 0,2 mL de água destilada, 0,8 mL de substrato TGO e 0,2 mL de padrão; no tubo 4, 0,2 mL de água destilada, 0,7 mL de substrato TGO e 0,3 mL de padrão; no tubo 5, 0,2 mL de água destilada, 0,6 de substrato TGO e 0,4 mL de padrão. Foi acrescentado 1,0 mL do reagente de cor a cada tubo,

seguido de repouso por 20 minutos à temperatura ambiente. Após este período, completadas com 10 mL de hidróxido de sódio 0,4N, seguido de repouso por 2 minutos. Finalmente, lidas as transmitâncias destas soluções, após calibragem do espectrofotômetro para 100% de transmitância com água destilada em 505 nm.

As atividades-padrão das ALT e AST expressadas em URF/mL foram, respectivamente, 0 e 0 para o tubo 1, 28 e 24 para o tubo 2, 57 e 61 para o tubo 3, 97 e 114 para o tubo 4, 150 e 190 para o tubo 5.

Os valores das transmitâncias (T%) com suas respectivas atividades (URF/mL) foram transferidos para o papel semilogaritmo no qual foi determinado o ponto (URF/mL; T%) para cada par de valores determinados e, depois, interligados os pontos 1 ao 2, o 2 ao 3, o 3 ao 4 e o 4 ao 5, formando segmentos de reta consecutivos ou a curva padrão .

Os tubos testes foram determinados, identificando um tubo TGO e um outro, TGP para cada amostra. Foram colocados 0,5 mL de substrato TGO no tubo TGO e 0,5 mL de substrato TGP no tubo TGP, e, em seguida, submetidos, concomitantemente, a 37°C por 2 minutos. Depois, foram postos 100 e 200 µL da amostra nos tubos TGP e TGO, respectivamente, e mantidos por 30 minutos a 37°C. Após este período, foram vertidos 0,5 mL do reagente de cor nas misturas dos tubos TGO e TGP, imediatamente, homogeneizados e deixados em repouso por 20 minutos. Após este período, estas soluções foram completadas com 5,0

mL de hidróxido de sódio 0,4 N, homogeneizadas e repousadas por 2 minutos sob 20 a 30°C. Finalmente, foram lidas as transmitâncias destas soluções, após calibragem do espectrofotômetro para 100% de transmitância com água destilada sob 505 nm.

Os valores das atividades foram encontrados em URF/mL por interpolação do valor da transmitância do teste com as curvas de calibração preparadas com a solução padrão.

Os valores normais foram 4 a 32 URF/mL (1,9 a 15,4 UI/L) para TGP (ALT) e 4 a 36 URF/mL (1,9 a 17,4 UI/L) para TGO (AST). Os valores das atividades das transaminases podem ser expressos em UI/L desde quando multiplique cada valor em URF/mL por 0,5.

V.17 Monitoramento da coleta de dados

Não houve monitoramento dos dados dos pacientes.

V.18 Critérios éticos

Os dados, registros e as espécimes só foram utilizados para propósitos da pesquisa proposta por este projeto.

Está garantido o sigilo de dados confidenciais e o anonimato dos indivíduos desta pesquisa, assim como, a liberdade do sujeito em se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem prejuízo a seu cuidado.

Os dados, que não comprometam o anonimato do paciente, poderão ser publicados em revista especializada.

Esta pesquisa é parte dos resultados parciais do projeto "Prevalência de aumento nas atividades séricas de enzimas, na avaliação da função hepática, em pacientes com diagnóstico de epilepsia, que fazem uso de antiepilépticos por mais de cinco dias consecutivos", aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências, sob Parecer nº 06/2004, para fins de conclusão do curso de Pós-Graduação em Medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública/Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências.

V.19 Aplicação estatística sobre os dados

Foram determinadas as médias, os desvios-padrão, as medianas, os percentis sobre o conjunto de valores das variáveis contínuas e determinadas as proporções de atividades alteradas das enzimas estudadas.

RESULTADOS

O total de participantes foi 52 pacientes. As variáveis mais freqüentes foram o sexo masculino com 61%, o estado cível solteiro com 76% e a renda salarial abaixo de 2 salários-mínimos com 73% (tabela 1). O sexo masculino apresentou maiores taxas de alterações nas atividades enzimáticas (tabela 5).

Tabela 1. Características sócio-econômicas da amostra

Condição	Freqüência	
Gênero	masculino	32/52 (62%)
	feminino	20/52 (36%)
Salário mínimo (número de salários - mínimos)	0 a 1,99	24/33 (73%)
	2,00 a 3,99	4/33 (12%)
	4,00 a 6,00	5/33 (15%)
Estado civil	solteiro	37/49 (76%)
	casado	10/49 (20%)
	viúvo	1/49 (2%)
	divorciado	1/49 (2%)

O gráfico de polígonos-de-freqüências não apresentou uniformidade entre os pacientes da faixa etária de 12 a 30 anos. Contudo, o gráfico apresentou uma distribuição assintótica entre os pacientes de 31 a 90 anos, no qual o substrato de 31 a 50 teve a maior freqüência (gráficos 6 e 7), sendo que as medianas de idade foram 39 e 47 para aqueles com menos e com mais de 1 ano de monoterapia, respectivamente (tabela 2).

Tabela 2. Estatística descritiva das idades (anos) por subgrupo.

Grupos \ Estatística	n*	x**	DP §	m §§	P _{25%} #	P _{75%} ##
A	14	20	4,9	21	16,5	25,0
B	16	21	5,2	21	17	24,5
C	5	43	8,8	39	35,5	44,0
D	17	50	12,8	47	39,5	53,5
TOTAL	52	32	16,3	26,5	20,0	44,0

* número de amostras

** média (anos)

§ desvio-padrão (anos)

§§ mediana (anos)

percentil 25 ou primeiro quartil (anos)

percentil 75 ou terceiro quartil (anos)

† Grupo A = pacientes de faixa etária de 12 a 30 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo B = pacientes de faixa etária de 12 a 30 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo C = pacientes de faixa etária de 31 a 90 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo D = pacientes de faixa etária de 31 a 90 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina.

A concentração sérica da carbamazepina apresentou médias maiores entre os pacientes com mais de um ano de monoterapia em relação àqueles com menos de 1 ano de uso de carbamazepina, sendo que a maior delas foi entre os pacientes de 12 a 30 anos de idade com mais de 1 ano desta terapia (tabela 3).

Tabela 3. Estatística descritiva da concentração sérica ($\mu\text{g/mL}$) da carbamazepina por subgrupo.

Grupos [†] \ Estatística	n*	x**	DP [§]	m ^{§§}	P _{25%} [#]	P _{75%} ^{##}
A	12	7,0	3,8	6,10	3,96	8,78
B	13	8,5	3,5	9,51	6,20	10,40
C	5	6,2	3,7	8,22	2,60	8,4
D	14	7,3	4,7	6,93	3,20	9,10
TOTAL	44	7,5	4,0	7,10	4,37	9,64

* número de amostras.

** média ($\mu\text{g/mL}$).

§ desvio-padrão ($\mu\text{g/mL}$).

§§ mediana ($\mu\text{g/mL}$).

percentil 25 ou primeiro quartil ($\mu\text{g/mL}$).

percentil 75 ou terceiro quartil ($\mu\text{g/mL}$).

[†]Grupo A = pacientes de faixa etária de 12 a 30 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo B = pacientes de faixa etária de 12 a 30 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo C = pacientes de faixa etária de 31 a 90 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo D = pacientes de faixa etária de 31 a 90 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina.

O tempo de monoterapia apresentou medianas iguais a 7,0 meses entre aqueles que tinham menos de 1 ano de monoterapia. Entre os que fizeram esta terapia por mais de 1 ano, os pacientes de 12 a 30 anos de idade tiveram o maior tempo também (tabela 4).

Tabela 4. Estatística descritiva do tempo de monoterapia (meses) com carbamazepina por subgrupo.

Grupos [†] \ Estatística	n*	x**	DP [§]	m ^{§§}	P _{25%} [#]	P _{75%} ^{##}
A	14	6,7	3,4	7,0	4,0	9,75
B	16	65,6	44,6	50,4	28,0	96,0
C	5	5,3	3,8	7,0	1,25	7,5
D	17	46,8	35,4	40,0	30,1	55,2
TOTAL	52	37,6	37,5	30,0	8,5	52,8

* número de amostras

** média ($\mu\text{g/mL}$)

§ desvio-padrão ($\mu\text{g/mL}$)

§§ mediana ($\mu\text{g/mL}$)

percentil 25 ou primeiro quartil ($\mu\text{g/mL}$)

percentil 75 ou terceiro quartil ($\mu\text{g/mL}$)

[†]Grupo A = pacientes de faixa etária de 12 a 30 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo B = pacientes de faixa etária de 12 a 30 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo C = pacientes de faixa etária de 31 a 90 anos com menos de 1 ano de uso de carbamazepina; grupo D = pacientes de faixa etária de 31 a 90 anos com mais de 1 ano de uso de carbamazepina.

Vinte e sete do total de 52 pacientes (52%) tiveram atividade sérica acima dos níveis fisiológicos em pelo menos uma enzima durante o uso de

carbamazepina (gráfico 1). Destas alterações, houve 12% para AST, 2% para ALT, 18% para GGT e 42% para fosfatases alcalinas (gráfico 2).

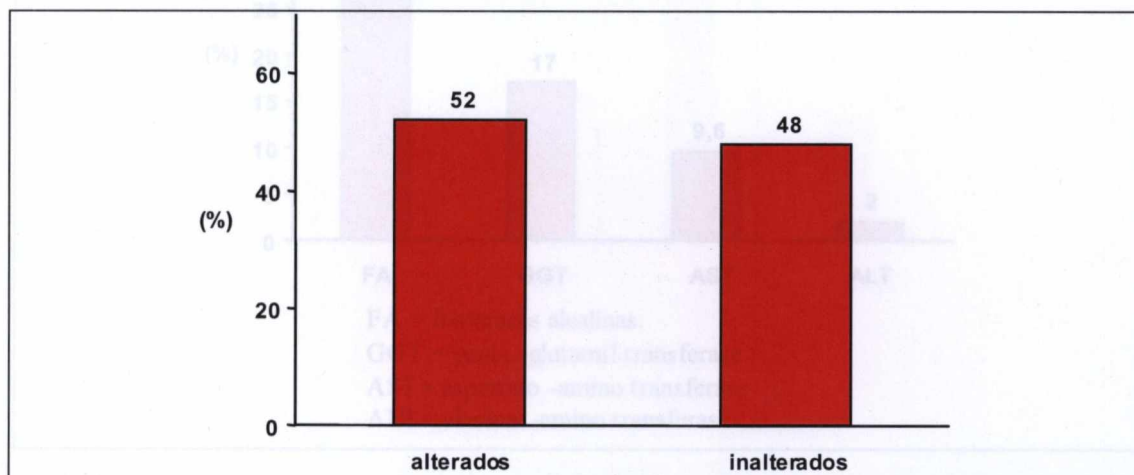


Gráfico 1. Frequência de pacientes com alteração na atividade de pelo menos uma enzima.

Tabela 5. Frequência de alterações de atividades séricas das enzimas GGT, FA, AST e ALT para o sexo masculino e para o sexo feminino

Gênero / Enzimas	GGT	FA	AST	ALT
Feminino	5,5% (1/18)	35% (7/20)	5% (1/20)	0% (0/20)
Masculino	23% (7/30)	47% (15/32)	12% (4/32)	3% (1/32)
TOTAL	17% (8/48)	42% (22/52)	9,6% (5/52)	2% (1/52)

FA = fosfatases alcalinas

GGT = gama - glutamil transferase

AST = aspartato - amino transferase

ALT = alanina - amino transferase

Todas estas enzimas tiveram maiores frequências de alterações entre aqueles de faixa de 12 a 30 anos de idade (gráfico 3). Estes tiveram maiores proporções para as enzimas AST e FA no substrato com mais de 1 ano de monoterapia, diferentemente daqueles de 31 a 90 anos de idade (gráficos 4 e 5).

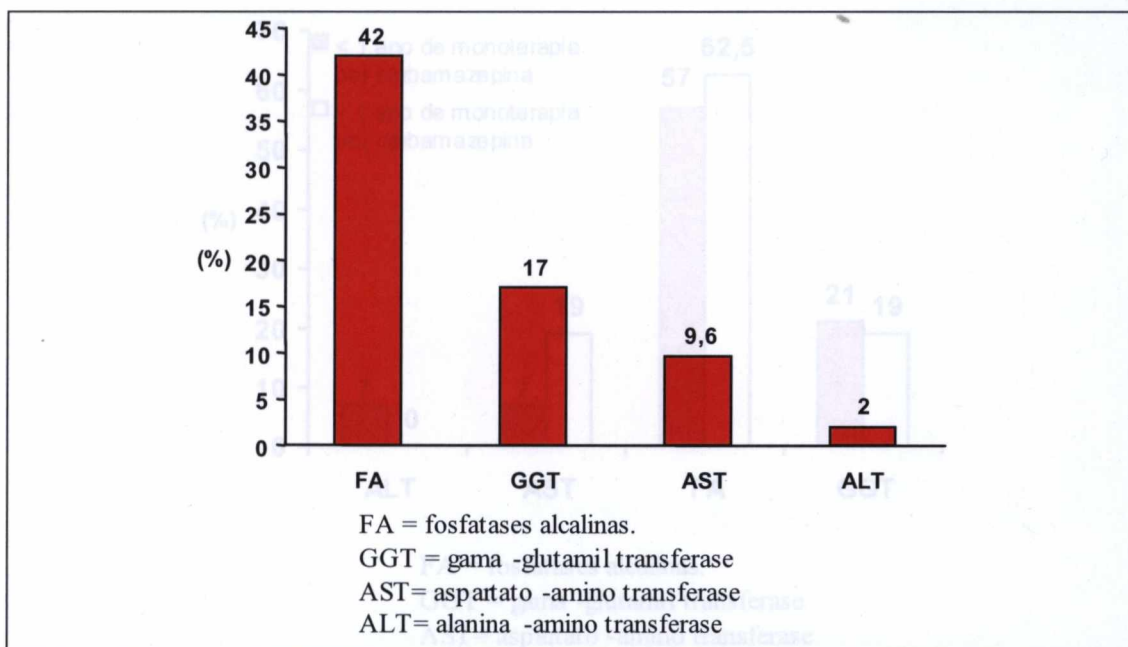


Gráfico 2. Frequência de pacientes com alterações nas atividades enzimáticas por enzima

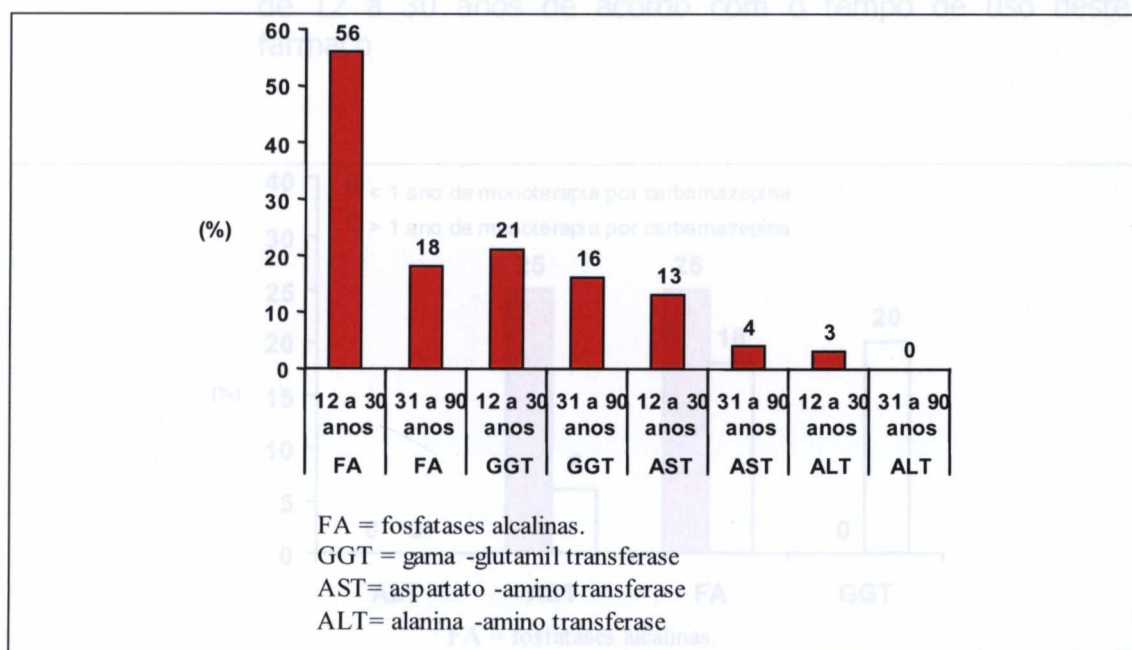


Gráfico 3. Frequência de pacientes com alteração nas atividades séricas enzimáticas por enzima por faixa etária (anos)

Gráfico 5. Proporção de alteração de enzimas em pacientes com epilepsia sob monoterapia de carbamazepina na faixa etária de 31 a 90 anos de acordo com o tempo de uso deste fármaco

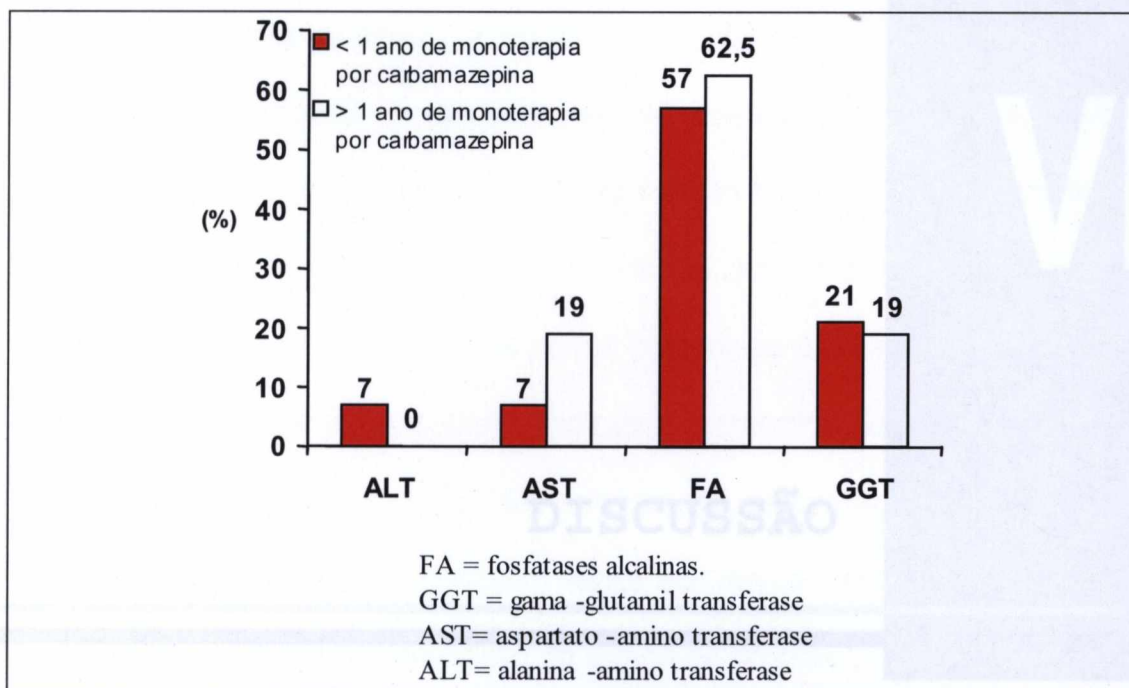


Gráfico 4. Proporção de alteração de enzimas em pacientes com epilepsia sob monoterapia de carbamazepina na faixa etária de 12 a 30 anos de acordo com o tempo de uso deste fármaco

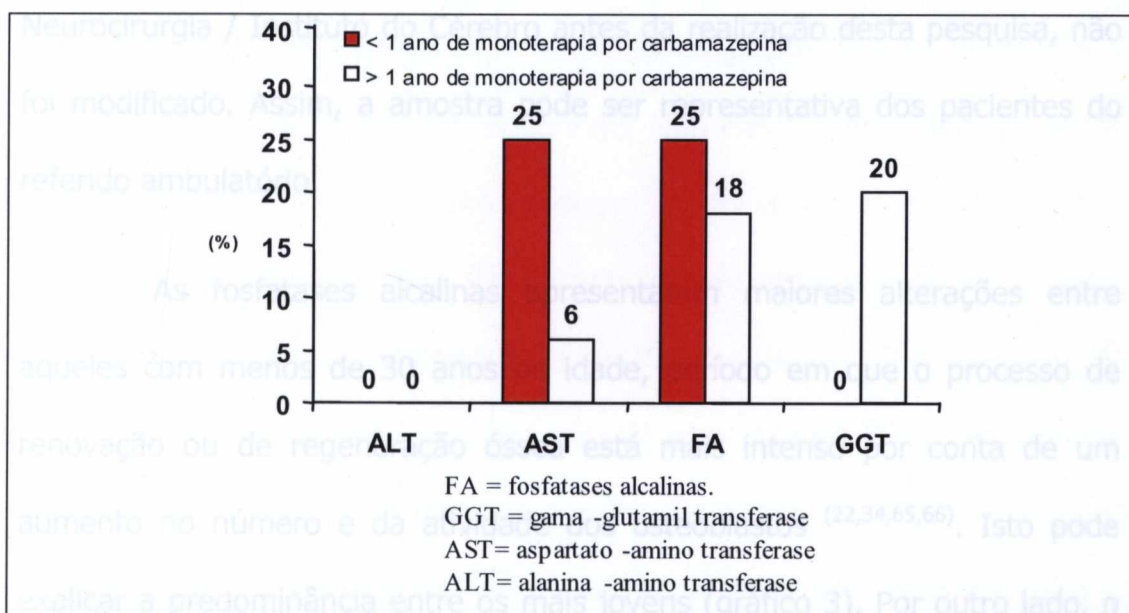


Gráfico 5. Proporção de alteração de enzimas em pacientes com epilepsia sob monoterapia de carbamazepina na faixa etária de 31 a 90 anos de acordo com o tempo de uso deste fármaco

DISCUSSÃO

O agendamento dos pacientes, já previamente organizado pelo serviço do ambulatório filantrópico da Fundação de Neurologia e Neurocirurgia / Instituto do Cérebro antes da realização desta pesquisa, não foi modificado. Assim, a amostra pode ser representativa dos pacientes do referido ambulatório.

As fosfatases alcalinas apresentaram maiores alterações entre aqueles com menos de 30 anos de idade, período em que o processo de renovação ou de regeneração óssea está mais intenso por conta de um aumento no número e da atividade dos osteoblastos^(22,34,65,66). Isto pode explicar a predominância entre os mais jovens (gráfico 3). Por outro lado, o aumento das atividades destas enzimas acima do limite máximo não implica na existência de lesão celular neste órgão, mas, indicam aumento da síntese ou secreção enzimática como, por exemplo, das FA pelo epitélio dos

canalículos biliares quando da existência de processos patológicos que facilitam ou promovem o aparecimento da colestase ^(22,36,67,68). A baixa frequência de alterações para as GGT em relação às FA (gráfico 2) permite pensar que, além das isoenzimas hepáticas, há uma possibilidade da contribuição das isoenzimas ósseas para a hegemonia das FA sobre as outras enzimas ⁽⁵⁷⁾. Outros pesquisadores indicam a determinação das isoenzimas das FA como monitoramento dos efeitos da carbamazepina em seus pacientes epiléticos ⁽⁶⁹⁾. A dosagem sérica dos marcadores hepáticos como uréia e arginase I e a determinação do tempo de protrombina poderá indicar a magnitude do estresse provocado pela referida droga.

Contudo, os métodos de dosagem para γ -GT podem explicar as diferenças entre os resultados encontrados (gráficos 2,3 e 4) e RAO (1993) ⁽⁵¹⁾. O que há de semelhante entre os primeiros grupos de autores ^(51,54) é o fato de utilizarem o mesmo kit "Boehringer Mannheim", sem referirem sobre o princípio de dosagem. Quanto ao outro ⁽⁴⁷⁾, foi usado o método cinético enzimático de SZASZ (1969) ⁽⁴⁹⁾. O princípio de dosagem de γ -GT desta dissertação foi baseado no método de NAFTALIN (1969b) ⁽³⁰⁾ modificado ⁽³³⁾ e no fundamento utilizado por CALLAGHAN *et al.* (1994) ⁽⁵²⁾. O método de SZASZ (1969) distingue-se pela temperatura de experimento que é de 25°C e tendo como valores normais de 3.2 a 13.5 mU/mL para sexo feminino e 4,5 a 24,8 mU/mL para o sexo masculino ⁽⁴⁹⁾. O método de Doles (2003) trabalha a 37°C e os valores normais de atividade enzimática incluem 4 a 22

UI/L (4-22 mU/mL) para o sexo feminino e 4 a 26 UI/L (4-26 mU/mL) para o sexo masculino ⁽³³⁾.

Comparando os resultados desta dissertação (gráficos 3 e 4), percebe-se que as atividades das transaminases são maiores entre aqueles com menos de 30 anos de idade ^(47,51,52,54). As baixas freqüências das transaminases em relação às outras enzimas (gráfico 3) são explicadas pela localização predominante destas enzimas na região periportal do lobo hepático ⁽⁷⁰⁾. Não se conhece o motivo da grande diferença do resultado deste trabalho (gráficos 3 e 4) em relação aos 56% de aumento para AST na faixa etária de 5 a 15 anos com tempo de terapia de 5 a 92 meses ⁽⁵⁴⁾. Contudo, devem-se investigar as causas destes resultados.

É conhecido que a carbamazepina induz seu próprio metabolismo quando o tratamento é de longa duração, tendo, conseqüentemente, o aumento dos níveis séricos desta droga durante o tratamento ⁽¹⁶⁾. Os resultados encontrados (tabelas 3 e 4) indicam a ocorrência da auto-indução da carbamazepina ao longo do tempo, pois o grupo de pacientes que houve maior tempo de monoterapia, também, houve maior concentração sérica desta droga.

A predominância do sexo masculino (tabela 1.) pode se constituir num viés de seleção ou de confusão. As alterações foram predominantes entre os do sexo masculino (tabela 5.). Assim como a influência numérica do sexo masculino, algum fator de proteção na mulher deve ser pesquisado

para melhor definir seus poderes de influência sobre os resultados. Além disso, a renda familiar e o estado civil (tabela 1.) podem indicar fatores de risco que predisponham a elevação das atividades enzimáticas a níveis não-fisiológicos como, por exemplo, a hábitos de vida pouco saudáveis. O peso e a altura do paciente, que não foram mensurados neste trabalho, poderiam indicar a influência do índice de massa corpórea (IMC) ou do sexo sobre os resultados (tabela 5.) agrupando os pacientes por IMC.

A maioria dos trabalhos citados nesta dissertação não apresentou nem o modo de seleção de suas amostras e nem uma descrição do método de dosagem das enzimas citadas, o que pode indicar um viés de aferição assim como um viés de seleção. Outros autores ⁽⁷¹⁾ acreditam, entretanto, que os efeitos da carbamazepina na densidade óssea não foram adequadamente esclarecidos.

VIII.

LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS CONCLUSÕES

1. As enzimas FA, GGT, AST e ALT apresentaram maiores freqüências de alterações de suas atividades séricas naqueles da amostra com idade igual ou inferior a 30 anos.
2. As concentrações séricas da carbamazepina estiveram aumentadas naqueles da amostra com mais de um ano de monoterapia.

IX.

LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS DO ESTUDO

A não referência por todos os pesquisadores sobre a aleatoriedade da mobilização amostral, permite pensar na existência de um viés de seleção, e, por isso, os resultados não serem representativos de seus centros ambulatoriais e, tão pouco, não representarem suas respectivas populações de pacientes epiléticos sob monoterapia por carbamazepina.

Além daquelas dificuldades, também houve as que acompanharam a pesquisa de dados para esta dissertação. Uma parte dos prontuários dos pacientes não tinha o endereço ou telefone para contactos, inviabilizando o sorteio das amostras, e por isso, a representatividade da população de onde originou tal amostra; o estudo foi realizado num ambulatório de uma unidade de saúde dificultando a extrapolação para a população; houve estratos que tinham 3 ou 2 pacientes; os pacientes já faziam uso de carbamazepina,

impossibilitando a aplicação de um estudo experimental. Além disso, a relação entre de politerapia e monoterapia foi em média de 4 para 1.

Mesmo com tais dificuldades e com a possibilidade de influência dos vieses de amostragem e de confusão, inclusive em relação às atividades das FA, acredita-se na importância destes resultados como sinalizadores de uma provável situação de saúde, e, para verificá-la, sugerem estudar probabilisticamente e com grupo controle, que pode ser feito pelos acompanhantes dos pacientes ou outro membro de sua família, para se conhecer a magnitude da influência carbamazepina sobre as atividades séricas das fosfatases alcalinas e suas isoenzimas, AST, ALT, GGT e de outros marcadores de função hepática, principalmente a isoenzima arginase tipo I, ou óssea. Também, sugerem realizar estudos transversais controlados randomizados para conhecer as características dos métodos de dosagens quanto aos valores preditivos, sensibilidade e especificidade nos pacientes hígidos, controles e nos pacientes epiléticos ambulatoriais assim como a influência da carbamazepina nestas características.

SUMMARY

THE γ -GLUTAMYL TRANSFERASE, TRANSAMINASE AND ALKALINE SERUM PHOSPHATASE IN EPILEPTIC PATIENTS TREATED WITH CARBAMAZEPINE.

Introduction: Carbamazepine is the drug utilized in the treatment of patients who bear epilepsy with secondary generalization. Furthermore, carbamazepine has been implicated with the serum increase of certain enzymes. Some authors have found a prevalence of 13% while others have found 22%, or even 53% of alterations for alkaline phosphatases.

Objective: the goals of this study are to determine the ratio of alterations of the serum activities of the enzymes gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatases (AF) and transaminases (AST, aspartate aminotransferase; and ALT, alanine aminotransferase) were determined as well as the serum concentrations of carbamazepine in samples taken from the metropolitan region of Salvador, Bahia. **Methodology:** the design of this study is descriptive and it has been approved by the local Ethics Committee. A convenience sample of 52 epileptic ward patients was distributed according to age groups of 12 to 30 and 31 to 90 years-old, and was also subdivided according to the period of usage. The serum activities of the enzymes GGT, AF, AST, and ALT were determined as well as the serum concentrations of carbamazepine. The proportions of alterations per variables were described.

Results: 52% of the patients showed alteration in at least one enzyme, 42% with alterations in the AF, 18% in the GGT, 2% in the ALT, and 12% in the AST. The age group of 12 to 30 years-old showed 56% of the alterations in AF while the group of 31 to 90 year olds showed only 18% alterations.

Conclusion: age group may contribute to the increase of prevalence of altered alkaline phosphatases in these patients. In regard to the low values

altered alkaline phosphatases in these patients. In regard to the low values of GGT and transaminases, further studies would be necessary for better understanding of those variations.

Key words: *Alkaline phosphatases, gamma-glutamyl transferase, transaminases, carbamazepine.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Commission on Classification and Terminology of the International League against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. **Epilepsia** 1981; 22: 489-501.
2. Nashef L. Definitions, aetiologies and diagnosis of epilepsy. In: Shorvon S, Dreifuss FL, Fish D, Thomas D, editors. **The treatment of epilepsy**. Cambridge: Blackwell Sciences; 1996. p.66-96.
3. McNamara JO. Drugs effective in the therapy of the epilepsies. In: Gilman AG, consulting editor, Hardman JG, Limbird LE, editors-in-chief, Molinoff PB, Ruddon RW, editors. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. Ninth edition, international edition. New York: McGraw-Hill; 1996. p. 461-86.
4. Naffah-Mazzacoratti MG, Amado D. Bases neuroquímicas das epilepsias refratárias. In: Cukiert A (editor). **Tratamento clínico e cirúrgico das epilepsias de difícil controle**. São Paulo: Lemos Editorial; 2002. p.1-19.

e cirúrgico das epilepsias de difícil controle. São Paulo: Lemos Editorial; 2002. p.1-19.

5. Marino R, Cukiert A, Pinho E. Aspectos epidemiológicos da epilepsia em São Paulo. Um estudo da prevalência. **Arq Neuro-Psiquiatr (São Paulo)** 1983; 44(3): 243-54.
6. Fernandes JG, Schimidt MI, Monte TL, Tozzi S, Sander JWAS. Prevalence of epilepsy: the Porto Alegre study. **Epilepsia** 1992; 33 (3): 132.
7. Commission on Epidemiology and Prognosis of The International League Against Epilepsy. Guidelines for epidemiological studies on epilepsy. **Epilepsia** 1993; 34 (3): 586-92.
8. Guerreiro, CAM, Guerreiro MM, Cendes F, Lopes-Cendes I. Considerações gerais. In:_____. **Epilepsia**. São Paulo: Lemos; 2000. p. 1-10.
9. Commission on Classification and Terminology of the International League against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndrome. **Epilepsia** 1989; 30: 389-99.
10. Engel Jr J. As convulsões. In: Wyngaarden JB, Smith Jr LH, Bennett JC, editors. **Cecil Tratado de Medicina Interna**. 19ª edição . Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1993. p. 2249-60.
11. Andrade Filho AS, Tavares MLO, Figueirôa FLS, Silveira Santos SR, Fernandes AF, Rego MF, et al. Epilepsia em ambulatórios públicos de Salvador-Bahia-Brasil - parte I. **RBNP** 1996; 0(0): 5-9.
12. King MA, Newton MR, Jackson GD, Fitt GJ, Mitchell LA, Silvapulle MJ, et al.. Epileptology of the first-seizure presentation: a clinical, electroencephalographic and magnetic resonance imaging study of 300 consecutive patients. **Lancet** 1998; 352: 1007-11.

13. Mattson RH, Cramer JA, Collins JF. The Department of Veterans Affairs Epilepsy Cooperative Study Number 264. A comparison of valproate with carbamazepine for the treatment of complex partial seizures and secondarily generalized tonic-clonic seizures in adults. **N Engl J Med** 1992; 327: 765-71.
14. McLean MJ, MacDonald RL. Carbamazepine and 10,11-epoxy-carbamazepine produce use- and voltage-dependent limitation of rapidly firing action potentials of mouse central neurons in cell culture. **J Pharmacol Exp Ther** 1986; 238: 727-38.
15. Julien RM, Hollister RP. Carbamazepine: Mechanism of action. **Adv. Neurol** 1975; 2: 263-5.
16. Eichelbaum M, Kothe KW, Hoffmann F, Unruh GEV. Kinetics and metabolism of carbamazepine during combined antiepileptic drug therapy. **Clin Pharmacol Ther** 1979; 26: 366-71.
17. Eichelbaum M, Tomson T, Tybring G, Bertilsson L. Carbamazepine metabolism in man: induction and pharmacogenetic aspects. **Clin Pharmacokinet** . 1985; 10: 80-90.
18. Porter RJ, Meldrum BS. Drogas epilépticas. In: Katzung BG. **Farmacologia básica e clínica**. 6^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p.276-90.
19. Nakamura H, Torimoto N, Ishii I, Ariyoshi N, Nakasa H, Ohmori S, Kitada M. CYP3A4 and CYP3A7-mediated carbamazepine 10,11-epoxidation are activated by differential endogenous steroids. **Drug Metab Dispos** 2003 Apr; 31(4): 432-8.
20. Liu H, Delgado MR. A comprehensive study of the relation between serum concentrations, concentration ratios, and level/dose ratios

of carbamazepine and its metabolites with age, weight, dose, and clearances in epileptic children. **Epilepsia** 1994; 35(6):1221-9.

21. Rodrigues LEA. Transaminase glutâmico pirúvica. In:_____. **Enzimologia Clínica**. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p.44-9.
22. Moss DW, Henderson R, Kachmar JF. Enzymes, In.: TIETZ N W (editor). **Textbook of Clinical Chemistry**. Philadelphia: W B Saunders; 1986. p.619-74.
23. Panteghini M, Malchiodi A, Calarco M, Bonora R. Clinical and diagnostic significance of aspartate aminotransferase isoenzymes in sera of patients with liver diseases. **J Clin Chem Clin Biochem** 1984; 22: 153-8.
24. Balistreri WF, Shaw LM. Subcellular Distribution In.: Tietz NW, editor. **Textbook of Clinical Chemistry**. Philadelphia: W B Saunders; 1986. p.1373-433.
25. Doles. **Transaminases**, B-38, revisão 04, edição 05/01. Goiânia: Doles; 2001. 3pp.
26. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. **Am J Clin Pathol** 1957; 28(1): 56-63.
27. Devlin TM.. Group translocation involves chemical modification of the transported substrate. In:_____. Biological membranes: structure and membrane transport. In.:_____. (editor). **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, fifth edition**. New York: Wiley-Liss; 2002. p.493-533.
28. Rodrigues LEA. Gama-glutamil transferase. In:_____. **Enzimologia Clínica**. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p.49-53.

29. Naftalin L, Child VJ, Morley DA. Observation on the site of origin of serum γ -glutamyltranspeptidase. **Clin Chim Acta** 1969; 26: 297-300.
30. Naftalin L, Sexton M, Whitaker JF, Tracey D. A routine procedure for estimating serum gamma-glutamyl-transpeptidase activity. **Clin Chim Acta** 1969; 26(2): 293-6.
31. Tietz NW. **Textbook of Clinical Chemistry**. Philadelphia: W B Saunders; 1986.
32. Sherlock S. Patterns of hepatocyte injury in man. **Lancet** 1982; 1: 782-6.
33. Doles. **γ -glutamyltransferase**, B-26, revisão 09, edição 02/03. Goiânia: Doles; 2003. 4pp.
34. Moss DW. Alkaline phosphatase isoenzymes. **Clin Chem** 1982; 28: 2007-16.
35. Hopfer U. Digestion and absorption of basic nutritional constituents.. In.: Devlin TM, editor. **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations**. Fifth edition. New York: Wiley-Liss; 2002. p. 1081-115.
36. Rodrigues LEA. In:_____. Hidrolases. In:_____. **Enzimologia Clínica**. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p.94-5.
37. Birkett DJ, Conyers RAJ, Neale FC, Solomon P, Brudenell-Woods J. Action of urea on human alkaline phosphatases with a description of some automated techniques for the study of enzyme kinetics. **Arch Biochem Biophys** 1967; 124: 470-9.
38. Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. **J Biol Chem** 1946; 164: 321-9.

39. MacWilliam KM, Moody AH, Silk J. Variation in alkaline phosphatase results using the method of Bessey, Lowry and Brock. **Clin Chim Acta** 1967; 17(3): 514-5.
40. Doles. **Fosfatases**, B21, revisão 09, edição 03/2003. Goiânia: Doles; 2003. 4pp.
41. Bjondahl K. A study on cerium-induced liver injury in rats after pretreatment with spironolactone, phenobarbital, pregnenolone-16 alpha-carbonitrile and nafenopin. **Arzneimittelforschung** 1978; 28(5): 817-9.
42. Thygesen J, Boensen F. 2 cases of reversible liver lesion induced by valproate. **Acta Neurol Scand** 1982; 66(3): 396-9.
43. Jezequel AM, Bonazzi P, Novelli G, Venturini C, Orlandi F. Early structural and functional changes in liver of rats treated with a single dose of valproic acid. **Hepatology** 1984; 4(6): 1159-66.
44. Schoen FJ, Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. **Robbins: Pathologic basis of disease**. 5th edition. Philadelphia: W B Saunders Company; 1994. p.44-5.
45. Jmelnitzky AC, Guidi M, Bologna A, Biola M, Soccini C, Barbero R, et al. Clinic-epidemiological significance of drug hepatotoxicity in liver disease consultation. **Acta Gastroenterol Latinoam** 2000; 30(2): 77-84.
46. Aldenhovel HG. The influence of long-term anticonvulsant therapy with diphenylhydantoin and carbamazepine on serum gamma-glutamyltransferase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase. **Eur Arch Psychiatry Neurol Sci** 1988; 237(5): 312-6.

47. Mapelli G, Pavoni M, Dossi BC, Huber R. Induction of liver microsomal enzymes in epileptics under treatment with carbamazepine. **Riv Neurol** 1983; 53(2):127-37.
48. Bowers GN, McComb RB. Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. **Clin Chem** 1975; 21: 1988-95.
49. Szasz G. A kinetic photometric method for serum γ -glutamyltranspeptidase. **Clin Chem** 1969; 15: 538-43.
50. Fortman CS, Witte DL. Serum 5'-nucleotidase in patients receiving anti-epileptic drugs. **Am J Clin Pathol** 1985; 84(2): 197-201.
51. Rao ML, Stefan H, Scheid C, Kuttler AD, Froscher W. Serum amino acids, liver status, and antiepileptic drug therapy in epilepsy. **Epilepsia** 1993; 34(2): 347-54.
52. Callaghan N, Majeed T, O'Connell A, Oliveira DB. A comparative study of serum F protein and other liver function tests as an index of hepatocellular damage in epileptic patients. **Acta Neurol Scand** 1994; 89(4): 237-41.
53. Isojarvi JI, Pakarinen AJ, Myllyla VV. Basic haematological parameters, serum gamma-glutamyltransferase activity, and erythrocyte folate and serum vitamin B12 levels during carbamazepine and oxcarbazepine therapy. **Seizure** 1997; 6(3): 207-11.
54. Cepelak I, Grubisic TZ, Mandusic A, Rekić B, Lenicek J. Valproate and carbamazepine comedication changes hepatic enzyme activities in sera of epileptic children. **Clin Chim Acta** 1998; 276(2): 121-7.
55. Beck PR. Butanol extraction of serum and urinary gamma-glutamyltransferase and its application in clinical diagnosis. **Ann Clin Biochem** 1978; 15: 151-6.

56. Tutor-Crespo MJ, Hermida-Ameijeiras J, Tutor-Valcarce JC. A study of some indirect biochemical markers in the evaluation of enzymatic induction caused by antiepileptic drugs. **Rev Neurol** 2002; 35(8): 711-6.
57. Okesina AB, Donaldson D, Lascelles PT. Isoenzymes of alkaline phosphatase in epileptic patients receiving carbamazepine monotherapy. **J Clin Pathol** 1991 Jun; 44(6): 480-2.
58. Sheth RD, Wesolowski CA, Jacob JC, Penney S, Hobbs GR, Riggs JE, et al. Effect of carbamazepine and valproate on bone mineral density. **J Pediatr** 1995; 127(2): 256-62.
59. Verroti A, Greco R, Latini G, Morgese G, Chiarelli F. Increased bone turnover in prepubertal, pubertal, and postpubertal patients receiving carbamazepine. **Epilepsia** 2002; 43(12): 1488-92.
60. Caksen H, Dulger H, Cesur Y, Atas B, Tuncer O, Odabas D. Evaluation of thyroid and parathyroid functions in children receiving long-term carbamazepine therapy. **Int J Neurosci** 2003; 113(9): 1213-7.
61. Callegari-Jacques SM. Estimaco da proporo populacional (P). In:_____. **Bioestatística, princípios e aplicaes**. Porto Alegre: Editora Artmed; 2003. p.125-7.
62. _____. Cálculo de n visando estimar parâmetros. In:_____. _____. Porto Alegre: Editora Artmed; 2003. p.149-50.
63. Callegari-Jacques SM. Tabelas. In:_____. **Bioestatística, princípios e aplicaes**. Porto Alegre: Editora Artmed; 2003. p.221-46.
64. Rodrigues LEA. Alteraes bioquímicas lisossmicas na esquistossomose mansônica hepática experimental [**Tese**

- apresentada ao Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia para o concurso de professor titular do Departamento de Biofunção-Setor de Bioquímica]**. Salvador (BA): Universidade Federal da Bahia; 1984.
65. Rieger-Wettengl G, Tutlewski B, Stabrey A, Rauch F, Herkenrath P, Schauseil-Zipf U, et al. Analysis of the musculoskeletal system in children and adolescents receiving anticonvulsant monotherapy with valproic acid and carbamazepine. **Pediatrics** 2001; 108(6): E 107.
 66. Ecevit C, Aydogan A, Kavakli TU, Altinoz S. Effect of carbamazepine and valproate on bone mineral density. **Pediatr Neurol** 2004; 31(4): 279-82.
 67. Weisiger RA. Exames de laboratório na doença hepática. In.: Wyngaarden JB, Smith Jr LH, Bennett JC, editors. **Cecil Tratado de Medicina Interna**. 19^a edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 1993. p. 777-80.
 68. Gaw A, Cowan RA, O'Reilly DSTJ, Stewart MJ, Shepherd J (editores). Testes da função hepática. In.:_____. **Bioquímica clínica, um livro ilustrado em cores**. 2^a edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 50-1.
 69. Voudris K, Moustaki M, Zeis PM, Dimou S, Vagiakou E, Tsagris B, et al. Alkaline phosphatase and its isoenzyme activity for the evaluation of bone metabolism in children receiving anticonvulsant monotherapy. **Seizure** 2002; 11(6):377-80.
 70. Tutor-Crespo MJ, Hermida J, Tutor JC. Activation of serum aminotransferases by pyridoxal-5' -phosphate in epileptic patients

treated with anticonvulsant drugs. **Clin Biochem** 2004; 37(8): 714-7.

71. Pack AM, Morrell MJ. Epilepsy and bone health in adults. **Epilepsy Behav** 2004; 5 Suppl 2:S24-S29.

ANEXO 1 - Ofício do comitê de ética e pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PESQUISA EM NEUROCIÊNCIAS DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PESQUISA EM NEUROCIÊNCIAS DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PESQUISA EM NEUROCIÊNCIAS DE SÃO PAULO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

ANEXOS

Este ofício tem como objetivo informar a todos os membros do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNESP-FBDC, referente ao Projeto de Pesquisa "Efeitos da administração intravenosa de piracetam no comportamento das atividades séricas de enzimas, na função da função da memória e na presença de alterações de epilepsia, que fazem uso de piracetam".

O projeto de pesquisa em questão encontra-se em fase de aprovação pelo CEP UNESP-FBDC com o número de registro 001/2010. O projeto de pesquisa encontra-se em fase de aprovação pelo CEP UNESP-FBDC com o número de registro 001/2010.

Este ofício tem como objetivo informar a todos os membros do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNESP-FBDC, referente ao Projeto de Pesquisa "Efeitos da administração intravenosa de piracetam no comportamento das atividades séricas de enzimas, na função da função da memória e na presença de alterações de epilepsia, que fazem uso de piracetam".

Este ofício tem como objetivo informar a todos os membros do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNESP-FBDC, referente ao Projeto de Pesquisa "Efeitos da administração intravenosa de piracetam no comportamento das atividades séricas de enzimas, na função da função da memória e na presença de alterações de epilepsia, que fazem uso de piracetam".

Anexo 1 – Ofício do comitê de ética e pesquisa



FUNDAÇÃO BAHIANA PARA DESENVOLVIMENTO DAS CIÊNCIAS
ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

Salvador, 04 de junho de 2004.

CEP-COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Senhor Mestrando,

Passo às suas mãos o teor do Parecer nº 06/2004 do CEP-FBDC, referente ao Projeto de Pesquisa de V. Sa., intitulado: **“Prevalência de aumento nas atividades séricas de enzimas, na avaliação da função hepática, em pacientes com diagnóstico de epilepsia, que fazem uso de antiepiléticos”**.

O supracitado protocolo de pesquisa foi julgado e **APROVADO** com **RECOMENDAÇÕES**, na reunião plenária do dia 27 de maio de 2004.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Norival de Souza Sampaio
Coordenador do CEP/FBDC.

Ilmo. Sr.
MESTRANDO HELDER JACOBINA SANTOS
Rua “O” - Caminho 31 – Casa 1 – Setor “G”
Mussurunga
CEP.41.510-180 – SALVADOR – BAHIA



FUNDAÇÃO BAHIANA PARA DESENVOLVIMENTO DAS CIÊNCIAS
ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

2

CEP-COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
PARECER Nº06/2004

PROJETO DE PESQUISA:

“Prevalência de aumento nas atividades séricas de enzimas, na avaliação da função hepática, em pacientes com diagnóstico de epilepsia, que fazem uso de antiepilépticos, por mais de cinco dias consecutivos.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Mestrando Helder Jacobina Santos.

PROFESSORES ORIENTADORES:

Prof. Dr. Luiz Erlon Araújo Rodrigues
Prof. Dr. Antônio de S. Andrade Filho

INSTITUIÇÕES ONDE SERÁ REALIZADA A PESQUISA:

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública e
Instituto do Cérebro

DISCUSSÃO E VOTAÇÃO DO PROJETO:

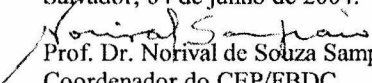
Os documentos exigidos para a avaliação ética estão completos. O pesquisador apresentou o orçamento pormenorizado. A bibliografia é atualizada. Não há riscos para os sujeitos da pesquisa. Os critérios de inclusão e exclusão são corretos. A privacidade e a confidencialidade estão asseguradas.

O projeto tem importância médico-social.

Após a Análise e a Verificação da Adequação Metodológica do supracitado Projeto, os membros do CEP/FBDC julgaram-no **APROVADO**, com **RECOMENDAÇÕES**.

As **RECOMENDAÇÕES** seguem em folha anexa, para serem respondidas e enviadas para este Comitê, no prazo de 60 (sessenta) dias, pelo pesquisador.

Salvador, 04 de junho de 2004.


Prof. Dr. Norival de Souza Sampaio
Coordenador do CEP/FBDC



FUNDAÇÃO BAHIANA PARA DESENVOLVIMENTO DAS CIÊNCIAS
ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

3

CEP-COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

PROJETO DE PESQUISA:

“Prevalência de aumento nas atividades séricas de enzimas, na avaliação da função hepática, em pacientes com diagnóstico de epilepsia, que fazem uso de antiepilépticos, por mais de cinco dias consecutivos”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL:

Mestrando Helder Jacobina Santos

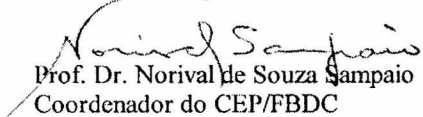
RECOMENDAÇÕES:

1 – No título, corrija-se a expressão **“preditoras da função hepática”**, por, **“na avaliação da função hepática”**.

2 – Na Introdução, na página 04, corrija-se a oração: **“A crise epiléptica é que ela ocorre...”**, para, **“A crise epiléptica é aquela que ocorre...”**.

3 – O TCLE, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá ser modificado. A linguagem, ao invés de científica, deverá ser coloquial, porquanto o documento objetiva a plena compreensão dos sujeitos da pesquisa.

Salvador, 04 de junho de 2004.


Prof. Dr. Norival de Souza Sampaio
Coordenador do CEP/FBDC

Anexo 2 – Primeira versão do termo de consentimento



FUNDAÇÃO PARA DESENVOLVIMENTO DAS CIÊNCIAS ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA MÉDICA

“Prevalência de aumento nas atividades séricas de enzimas, preditoras da função hepática, em pacientes com diagnóstico de epilepsia, que fazem uso de antiepilépticos por mais de cinco dias consecutivos.”

Orientador: Prof. Dr. Luiz Erlon Araújo Rodrigues, médico e Professor Titular de Bioquímica Médica da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, telefone de contacto: 071 – 243-9455 e Prof. Dr. Antonio de S. Andrade Filho, médico e professor da Titular de Neurologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, telefone de contacto: 071 328-8888

Pesquisador: Helder Jacobina Santos, médico, aluno de Pós-Graduação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Telefone de contato: 071- 243-9455

Pesquisadores auxiliares:

Tiago Spolador, acadêmico de medicina da EBMSP, 4º ano.

Olivia Lordelo Sanches, acadêmica de medicina da EBMSP, 3º ano.

Prezado(a) Sr(a):

A proporção de usuários de epiléticos que apresentam aumento dos níveis séricos de enzimas hepáticas varia de acordo com o tipo de medicação. Entre os que consomem fenitoína, 10% (McNAMARA, 1996d). Naqueles que usam carbamazepina, 5 a 10% (McNAMARA, 1996c). O grupo que consome valproato, 40% (McNAMARA, 1996e). Quanto ao fenobarbital, não há dados sobre a prevalência daqueles que apresentam aumento dos níveis séricos das referidas enzimas.

Em um estudo experimental com 12 cães, foram investigados os efeitos hepatotóxicos e o impacto no nível sérico de enzimas hepáticas nos animais submetidos ao uso de fenobarbital, administrados numa proporção de 5 mg fenobarbital/Kg de peso corporal, por 29 semanas. Os exames foram feitos antes e durante o tratamento. A radiografia revelou aumento do tamanho do fígado, o exame histopatológico não observou alterações nos hepatócitos, a fosfatase alcalina e a alanina aminotransferase tiveram suas atividades séricas aumentadas ($p < 0,05$), a gama-glutamil transferase teve um aumento transitório e a albumina, uma redução (MULLER et al, 2000).

Não há, em Salvador, estudo de prevalência sobre atividade sérica de enzimas hepáticas em pacientes com diagnóstico de epilepsia que usam antiepilépticos. Conhecer esta proporção amostral e estimá-la para nossa população pode indicar se as condições sócio-econômicas influenciaram para a alteração da variável em estudo quando comparados com os trabalhos de outros países ou pode contribuir para um melhor planejamento da política de saúde para o paciente com epilepsia.

Durante a anamnese ou pesquisa em prontuários, os pacientes são identificados como aqueles que respondem aos critérios de inclusão. Uma vez, identificados, solicita-lhes a participação neste estudo mediante a assinatura do consentimento livre e informado.

A região da pele, onde será feita a venopuntura, será submetida a uma exposição abrasiva com álcool a 70% e, em seguida, ao povidine por 2 minutos. Serão retirados 5 mL de sangue em seringa sem anticoagulante e armazenados em tubos coletores sem anticoagulante. Esta amostra será transportada, respeitando as condições de biossegurança, à temperatura ambiente, até o Laboratório de Pesquisas Básicas

da Escola Bahiana de Medicina, onde será submetida á uma centrifugação a 900g, obtido e conservado a - 20°C o soro para a dosagem de enzimas preditoras de função hepática no momento oportuno.

Os dados sobre condições sócio-econômicas, queixas, descritores da moléstia atual, inquérito sistemático, antecedentes, exame físico, diagnóstico(s), terapêutica(s) e exame(s) complementares poderão ser obtidos dos prontuários ou por entrevista.

O sangue será obtido por punção venosa obedecendo os critérios de biossegurança.

Os dados, registros e espécimes apenas serão utilizados para propósitos da pesquisa proposta por este projeto.

Está garantido o sigilo de dados confidenciais e o anonimato dos sujeitos desta pesquisa, assim como, a liberdade deste sujeito em se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo a seu cuidado.

Serão oferecidas seringa e agulha descartáveis e estéreis ao paciente. Outros gastos ficam sob responsabilidade do paciente ou seu familiar ou seu responsável.

Caso o paciente refira ser alérgico ao povidine ou álcool iodado, a assepsia da pele será feita com outro tipo de solução. Caso desenvolva alergia, o paciente será submetido a aplicação de anti-histamínico sem nenhum ônus ao mesmo.

V. Sa., tem o direito de recusar sua participação nesta pesquisa, basta, portanto, não assinar este documento. Isto não acarretará em qualquer prejuízo sobre o seu atendimento.

Caso V. Sa. esteja de acordo em cooperar, por favor assine o presente termo de consentimento.

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa da FDC. Endereço – Av. D. João VI, 274 – Brotas – Salvador – BA – CEP: 40290-000.

Nome: _____ Data: ___/___/_____

Assinatura: _____

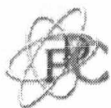
Nome do Responsável (se o sujeito da pesquisa for menor de 18 anos de idade):

Assinatura do Responsável: _____

Testemunha: _____

Médico: _____

Anexo 3 – Segunda versão do termo de consentimento



Fundação para Desenvolvimento das Ciências
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA MÉDICA

“Prevalência de aumento nas atividades séricas de enzimas, na avaliação da função hepática, em pacientes com diagnóstico de epilepsia, que fazem uso de antiepiléticos por mais de cinco dias consecutivos.”

Orientador: Prof. Dr. Luiz Erlon Araújo Rodrigues, médico e Professor Titular de Bioquímica Médica da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, telefone de contacto: 071 – 243-9455 e Prof. Dr. Antonio de S. Andrade Filho, médico e professor da Titular de Neurologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, telefone de contacto: 071 328-8888

Pesquisador: Helder Jacobina Santos, médico, aluno de Pós-Graduação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Telefone de contato: 071- 243-9455

Pesquisadores auxiliares:

Tiago Spolador, acadêmico de medicina da EBMS, 5º ano.

Olivia Lordelo Sanches, acadêmica de medicina da EBMS, 4º ano.

Prezado(a) Sr(a):

A pesquisa para a qual vossa senhoria está sendo convidada a participar tem por objetivo estimar quantas pessoas com diagnóstico de epilepsia em Salvador-BA, fazendo uso de apenas 1 tipo de medicação para tratamento da epilepsia, apresentam mudanças no sangue das enzimas que estão relacionadas com alterações do fígado.

O conhecimento sobre esta estimativa permite que os profissionais dos serviços de saúde possam avaliar sobre a saúde dos seus pacientes e sobre a possibilidade de trocar o tipo de medicação. Além disso, os dados sobre as enzimas e os outros de sua ficha cadastral para esta pesquisa podem permitir gerar novas hipóteses sobre os motivos das possíveis alterações nas atividades séricas das ações das enzimas acima citadas.

A execução desta pesquisa é constituída de coleta de 5 mL de sangue, utilizando agulha e seringa estéreis e descartáveis, que são abertos na presença do participante, seguida de transporte da amostra assim como o seu condicionamento e dosagem. Além disso, o participante não terá gastos com materiais de coleta e nem com transporte do sangue.

Se o participante da pesquisa desenvolver alergia a algum componente da coleta durante a coleta, o pesquisador assumirá os cuidados para seu tratamento sem nenhum custo para o paciente.

Está garantido o sigilo de seus dados confidenciais e o seu anonimato. Os resultados ou as análises sobre os exames feitos serão divulgados.

V. Sa. tem o direito de recusar sua participação nesta pesquisa, basta, portanto, não assinar este documento. Isto não acarretará em qualquer prejuízo sobre o seu atendimento.

Caso V. Sa. esteja de acordo em cooperar, por favor assine o presente termo de consentimento.

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa da FDC. Endereço – Av. D. João VI, 274 – Brotas – Salvador – BA – CEP: 40290-000.

Nome: _____ Data: ____/____/____

Assinatura: _____

Nome do Responsável (se o sujeito da pesquisa for menor de 18 anos de idade): _____

Assinatura do Responsável: _____

Testemunha: _____

Médico: _____

Anexo 4 – Ficha cadastral do paciente



FUNDAÇÃO PARA DESENVOLVIMENTO DAS CIÊNCIAS
 ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
 FUNDAÇÃO DE NEUROLOGIA – NEUROCIRURGIA / INSTITUTO DO CÉREBRO
 AMBULATÓRIO DE EPILEPSIA



FICHA CADASTRAL DO PACIENTE

IDENTIFICAÇÃO

Número de cadastro: _____

Nome: _____

Idade: ____ Sexo: () masculino () feminino Estado civil: solteiro () casado () viúvo () divorciado ()

Número da Carteira de Identidade: _____

Endereço: (tipo e nome do logradouro: rua, avenida, alameda, caminho, travessa, beco)

_____ n° _____ apto _____ Bloco ou Prédio _____

Conjunto ou Condomínio _____ Bairro: _____

Cidade: _____ Estado: _____ Telefone: _____

Renda familiar (salários mínimos):

0 (zero) ou recebe doação (), 1 a 2 (), 2 a 3 (), 3 a 4 (), 4 a 5 (), 5 a 6 (), acima de 6 ()

SOBRE EPILEPSIA

Diagnóstico de epilepsia: **sim** () ou **não** ()

Classificação quanto ao estado da consciência: **simples** () **complexa** ()

Classificação quanto a extensão da descarga inicial no córtex cerebral: **parcial** () **generalizada** ()

Secundariamente generalizada ()

Classificação quanto aos sinais ou sintomas:

a) motores: **clônica** () **tônica** () **tônico-clônica** () **mioclônica** () **atônica** ()

b) sensitivos ()

c) psico-ilusórios ()

d) autonômicos ()

Faz uso diário de quais **medicamentos** anti-epilépticos: **carbamazepina** (C), **fenobarbital** (F), **valproato** (V), **fenitoína** (difenilhidantoína) (D), **outros** (escrever abaixo no nome do fármaco ou da especialidade farmacêutica)? Qual a dose diária e por quanto tempo para cada medicamento?

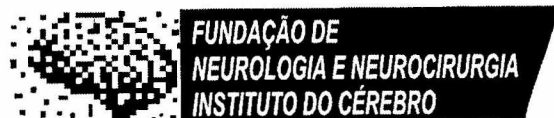
EFEITOS COLETARIS DURANTE O USO DE DROGAS ANTIEPILEPTICAS

- | | | | |
|--|--------------------------------------|--|--|
| <input type="checkbox"/> Vertigem | <input type="checkbox"/> Cefaléia | <input type="checkbox"/> Ataxia | <input type="checkbox"/> Sonolência |
| <input type="checkbox"/> Fadiga | <input type="checkbox"/> Diplopia | <input type="checkbox"/> Náuseas | <input type="checkbox"/> Vômitos |
| <input type="checkbox"/> Dor abdominal | <input type="checkbox"/> Constipação | <input type="checkbox"/> Tremor | <input type="checkbox"/> Alopecia |
| <input type="checkbox"/> Distonia | <input type="checkbox"/> Tiques | <input type="checkbox"/> Asterixis | <input type="checkbox"/> Nistagmo |
| <input type="checkbox"/> Discinesia | <input type="checkbox"/> Disartria | <input type="checkbox"/> Fraquesa muscular | <input type="checkbox"/> Parestesias |
| <input type="checkbox"/> Alucinações | <input type="checkbox"/> Depressão | <input type="checkbox"/> Perda do apetite | <input type="checkbox"/> Inquietação |
| <input type="checkbox"/> Comportamento agressivo | <input type="checkbox"/> Agitação | <input type="checkbox"/> Confusão | <input type="checkbox"/> Reações Alérgicas em Pele |
| <input type="checkbox"/> Leucopenia | <input type="checkbox"/> Leucocitose | <input type="checkbox"/> Trombo-citopenia | <input type="checkbox"/> Eosinofilia |

OUTROS DIAGNÓSTICOS E CONDUTAS TERAPÊUTICAS AFINS

Algum outro problema de saúde ? Qual ? Faz uso de outras medicações? Quais? Qual a dose diária?
Por quanto tempo?

Anexo 5 – Ofício de aceitação do trabalho em revista especializada



Salvador, 11 de Abril de 2005.

Ilmo.

Profº Dr. Bernardo Galvão

Coordenador da Pós-Graduação em Medicina

Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências

Nesta

Prezado Coordenador,

Encontra-se no prelo da Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria o trabalho “As fosfatases alcalinas, transaminases e γ -glutamyl-transferase séricas em pacientes epilépticos tratados com carbamazepima”, do autor Helder Jacobina Santos.

Atenciosamente,



Profº Dr. Antonio de Souza Andrade Filho

Editor da Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria – RBNP.

Anexo 6 – Ata de aprovação de defesa do mestrado



**PÓS-GRADUAÇÃO
EM MEDICINA**



Salvador, 15 de abril de 2005

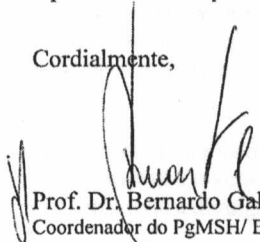
Ilm. Sr.
Dr. Helder Jacobina Santos
Aluno do Curso de Pós-Graduação em Medicina

Prezado Mestrando,

Estamos encaminhando a ata de Sessão de Defesa de dissertação de Mestrado em Medicina e Saúde Humana, realizada por V.Sa., conforme as normas em vigor. e com as observações da banca examinadora, ficando o Dr.Túlio César de Azevedo Alves, responsável pela orientação final do trabalho.

Aproveitamos a oportunidade para barabenizá-lo pela brilhante exposição.

Cordialmente,



Prof. Dr. Bernardo Galvão Castro Filho
Coordenador do PgMSH/ EBMS/ FBDC



EBMS
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz - Bahia
Centro de Pesquisas Gonçalo Meniz

ATA DA SESSÃO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA

Título da Dissertação: As γ -glutamil-transferase, transaminases e fosfatases alcalinas séricas em pacientes epilépticos tratados com carbamazepina.

Candidato: Helder Jacobina Santos

Orientador: Prof. Dr. Luiz Erlon Araújo Rodrigues

Comissão Examinadora: Prof. Dr. Túlio César Azevedo Alves
Prof. Dr.ª. Maria Conceição Galvão Sampaio
Prof. Dr. Jamary Oliveira Filho

A Comissão Examinadora, indicada pelo Programa de Pós-Graduação em Medicina, da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, da Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências, conforme o que estabelecem as normas em vigor, deu início aos trabalhos de avaliação da Defesa de Dissertação, às 16:00 horas, do dia 15 de abril de 2005. O candidato realizou apresentação oral de seu trabalho, com duração de 30 minutos. As arguições e as defesas foram encerradas às 17:35 horas. A Comissão Examinadora reuniu-se e, após avaliação conjunta dos conhecimentos demonstrados e da capacidade de discutir e analisar os resultados obtidos, o aluno foi considerado aprovado. E para constar do processo respectivo, a Comissão Examinadora elaborou a presente ATA, que vai assinada por todos os seus membros.

A Comissão Examinadora é:

- () Favorável à divulgação da Dissertação na sua forma atual.
(x) Favorável à divulgação da Dissertação após as modificações sugeridas pela Comissão

Salvador, 15 de abril de 2005

Membros da Banca Examinadora

Túlio César Azevedo Alves
Maria Conceição Galvão Sampaio
Luiz

Aluno:

Helder Jacobina Santos