



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE AMITRIPTILINA
POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM PACIENTES COM
HANSENÍASE E ESTADOS REACIONAIS**

Tânia Mara Pires Moraes

Belém-Pará

2008

Tânia Mara Pires Moraes

DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE AMITRIPTILINA
POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM PACIENTES COM
HANSENÍASE E ESTADOS REACIONAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira.

Belém-Pará

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará

Moraes, Tânia Mara Pires.

Determinação das Concentrações Plasmáticas de amitriptilina por cromatografia líquida de alta eficiência em pacientes com hanseníase e estados reacionais/ Tânia Mara Pires Moraes - Belém, 2008. 86p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Pará.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Linha de Pesquisa: Avaliação Biológica de Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Vieira, José Luiz Fernandes.

Descritores: 1. Amitriptilina. 2. Hanseníase. 3. Monitorização terapêutica. 4. validação.

UFPA/ICS/PPGCF/2008

Autor: Tânia Mara Pires Moraes

Título: Determinação das concentrações plasmáticas de amitriptilina por cromatografia líquida de alta eficiência em pacientes com hanseníase e estados reacionais.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêutica.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos

APROVADO EM: 24/10/2008

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Pergentino José da Cunha Sousa - ICS/UFPA

Prof^a. Dr^a. Hellen Thais Fuzii - ICS/UFPA

Prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira - ICS/UFPA

Belém-Pará

2008

À meus pais Maria Genildes e Francisco Soares e a querida tia Hilda Queiroz pelo apoio e carinho

À José Carlos da Silva Rocha, “In memorian” por ter feito parte da minha vida embora de forma breve, mas de maneira muito marcante e significativa. Onde você estiver sei que vai estar feliz por mais esta conquista, pois você acreditou em mim e me incentivou a lutar pelos meus sonhos ainda que estes parecessem distantes. Agradeço a Deus Pelos momentos de alegria, pelo aprendizado pela construção de sonhos. Você estará sempre vivo e presente na minha memória e no meu coração!

"Há homens que lutam um dia e são bons. Há outros que lutam um ano e são melhores. Há os que lutam muitos anos e são muito bons. Porém, há os que lutam toda a vida. Esses são os imprescindíveis."

Bertolt Brecht

AGRADECIMENTOS

Á Deus por ter me manter firme na trajetória e não permitir que eu desistisse nos momentos mais difíceis da minha vida.

A Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêutica pela oportunidade de aprendizado.

A meus queridos pais, irmãos e familiares que depositaram em mim toda a confiança e renunciaram a minha presença, por reconhecer o valor da educação.

Ao prof. Dr. José Luiz Fernandes Vieira, orientação concedida, oportunidade e pelo fundamental apoio no momento que mais precisei.

A Tia Hilda Queiroz pelo carinho, cuidado, proteção e apoio incondicional em todos esses anos de convivência.

As minhas queridas amigas do Laboratório de Toxicologia (LATOX), Margareth nascimento, Larissa Borges , Daniella paternostro, Glaécia Nascimento, kariane Nunes, Ingrid Guedes e Priscila pelo incentivo, carinho, atenção, cumplicidade e colaboração durante a realização deste trabalho. Obrigada por estarem sempre ao meu lado!!!

Ao Waldiney Pires, Alan Grisólia e Juan Rivera pela importante colaboração

A professora Dr^a Marília Brasil Xavier, Yonara katrina, Keila Madureira, Suenny leal e Michelle por terem me recebido no Ambulatório do Núcleo de Medicina Tropical (AMNT).

Ao amigo Miguel Saraty, por seu fundamental apoio com os pacientes e amizade construída durante a realização deste trabalho.

A Fátima Moraes pela compreensão, carinho e amizade no dia-a-dia e principalmente nos momentos de dificuldade e a toda equipe de colaboradores da Big ben (Duque)

A Professora Dr^a Luíza Carício, dona Fátima e Adenilson do Laboratório do Núcleo de Medicina Tropical.

Aos pacientes que gentilmente aceitaram a participar deste estudo, sem os quais nada seria possível.

Enfim, a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros e profundos agradecimentos.

RESUMO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, que afeta preferencialmente nervos periféricos e pele. O acometimento nervoso é responsável por deformidades e sintomatologia dolorosa, com consequente diminuição da qualidade de vida dos pacientes. A amitriptilina vem sendo utilizada como droga de escolha no alívio da dor neuropática nesses indivíduos. Entretanto, considerando a estreita faixa terapêutica e a importante variabilidade interindividual desse fármaco, faz-se necessário a monitorização de suas concentrações plasmáticas a fim de otimizar os esquemas terapêuticos. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi validar metodologia analítica por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, determinar as concentrações plasmáticas de amitriptilina, bem como comparar as concentrações plasmáticas de amitriptilina com a presença de poliquimioterapia e o tipo de episódio reacional nos pacientes atendidos no Ambulatório do Núcleo de Medicina Tropical, que utilizaram doses de 25 e 50 mg/dia. A técnica validada demonstrou resultados adequados e perfeitamente aplicáveis à metodologia desejada. Dentre os pacientes participantes do estudo, 12 (57%) foram do sexo masculino e 9 (43%) feminino. Em relação ao período de ocorrência do episódio reacional 8 pacientes (38%) estavam fazendo uso da poliquimioterapia e 13 pacientes (62%) após o término do tratamento. Dez pacientes (47%) participantes do estudo apresentaram episódio reacional tipo I e 11 (53%) do tipo II. A concentração plasmática média de amitriptilina na dose 25mg/dia foi de 318 ± 144 ng/mL e na dose de 50 mg/dia foi de $361,08 \pm 182$. O coeficiente de variação foi de 53, 16 e 50,5 respectivamente.

Palavras chaves: Hanseníase, monitorização, amitriptilina, validação.

ABSTRACT

Leprosy is a granulomatous disease affecting the skin and peripheral nerves caused by *Mycobacterium leprae*. The alterations in peripheral nerves can originate pain symptoms and deformities, with consequent reduction of patient life quality. Amitriptyline is the drug of choice for the treatment of pain symptoms in patients with leprosy. Amitriptyline had a narrow therapeutic range and a great variability in plasmatic concentrations between patients. Thus the therapeutic monitoring of the plasmatic concentrations of this drug it's a important tool for therapy optimization. In this sense this work aimed the validation of an analytical procedure for determination of amitriptyline by high performance liquid chromatography, in patients with hansenic reactions using amitriptyline daily doses of 25mg or 50mg, as well make the comparison between amitriptyline plasmatic concentrations in the presence or absence of multidrug therapy and in the reactions type I and II. This study was conducted in Tropical Medicine Institute from Para Federal University. Were enrolled 21 patients, 12(57%) male and 9 (43%) female. Eight patients (38%) were in curse of multidrug therapy and 10 (47%) presented hansenic reaction type I. The medium plasmatic amitriptyline concentration in dose of 25mg was $318\pm 144\text{ng/mL}$ and $361\pm 182\text{ng/mL}$. No statistical significance was observed between medium plasmatic amitriptyline concentrations in doses of 25mg and 50mg, as well in the presence of multidrug therapy.

Key Word: Amitriptyline; Leprosy; Monitoring; Validation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Prevalência de hanseníase no mundo..... 18

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 2. | Prevalência de hanseníase no Brasil..... | 19 |
| Figura 3. | Formas clínicas da hanseníase (A: hanseníase indeterminada, B: hanseníase tuberculóide, C: hanseníase dimorfa, D: hanseníase virchowiana..... | 21 |
| Figura 4. | Exame dermatoneurológico (A: palpação do nervo radial, B: palpação do nervo mediano, C: teste de sensibilidade..... | 23 |
| Figura 5. | Principais nervos acometidos na hanseníase..... | 24 |
| Figura 6. | Alterações motoras na hanseníase (A: pé caído, B e C: mão em garra)..... | 25 |
| Figura 7. | Mediadores químicos periféricos da dor..... | 28 |
| Figura 8. | Via espinotalâmica..... | 29 |
| Figura 9. | Via descendente da dor..... | 30 |
| Figura 10. | Estrutura química da amitriptilina..... | 35 |
| Figura 11. | Mecanismo de ação analgésica dos ADT..... | 37 |
| Figura 12. | Fluxograma do procedimento analítico para determinação de amitriptilina..... | 45 |
| Figura 13. | Cromatograma das soluções padrões de amitriptilina (5,0 µg/mL) (A) e clomipramina (5,0 µg/mL) (B), segundo condições cromatográficas previamente padronizadas..... | 50 |
| Figura 14. | Representação gráfica da linearidade da amitriptilina..... | 52 |
| Figura 15. | Representação gráfica da curva de calibração da amitriptilina | 53 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Tabela 1. | Esquema poliquimioterápico padrão (PQT/OMS)..... | 31 |
| Tabela 2. | Esquema terapêutico alternativo (ROM)..... | 32 |
| Tabela 3. | Tempo de retenção da solução padrão de amitriptilina (51,0 µg/mL) e declomipramina (5,0 µg/mL), segundo condições previamente padronizadas..... | 50 |
| Tabela 4. | Limites de detecção e de quantificação da amitriptilina..... | 51 |
| Tabela 5. | Linearidade da amitriptilina..... | 51 |
| Tabela 6. | Curva de calibração da amitriptilina..... | 52 |
| Tabela 7. | Recuperação da amitriptilina..... | 53 |
| Tabela 8. | Precisão intraensaio e interensaio da amitriptilina, expressa como coeficiente de variação..... | 54 |
| Tabela 9. | Tempo de retenção dos fármacos de interesse, de acordo com as condições cromatográficas padronizadas para determinação de amitriptilina..... | 54 |
| Tabela10. | Avaliação da robustez do método por CLAE – alterações no valor de pH e na proporção dos solventes, de acordo com as condições cromatográficas previamente padronizadas..... | 55 |
| Tabela 11. | Sexo, idade média e intervalo de idade dos participantes do estudo..... | 56 |
| Tabela 12. | Tipo de reação e período da ocorrência..... | 56 |
| Tabela 13. | Uso de PQT e período da ocorrência..... | 57 |
| Tabela 14. | porcentagem de pacientes que fizeram uso da dose de 25 e 50mg/dia..... | 57 |
| Tabela15. | Concentrações plasmáticas de amitriptilina em ng/mL pacientes com hanseníase que estavam fazendo uso da dose de 25 mg/dia..... | 58 |
| Tabela16. | Concentrações plasmáticas de amitriptilina em ng/mL em pacientes com hanseníase que estavam fazendo uso de 50 | 59 |

mg/dia.....

Tabela 17. Comparação entre as concentrações médias de amitriptilina de pacientes, 15 dias após a instituição da terapia nas doses de 25 e 50 mg/dia..... 60

– **Tabela 18.** Comparação entre as concentrações médias de amitriptilina de pacientes com PQT e sem PQT, nas doses de 25 e 50 mg/dia..... 60

– **Tabela 19.** Comparação entre as concentrações médias de amitriptilina de pacientes com reação tipo I e II, nas doses de 25 e 50 mg/dia 60
.....

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------|---|
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| ADT | Antidepressivo Tricíclico |
| CLAE | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| CV | Coefficiente de Variação |
| FDA | Food and Drug Administration |
| ICH | International Conference on Harmonization |
| LQ | Limite de Quantificação |
| M | Molar |
| mg/Kg | miligrama/kilograma |
| mg/mL | miligrama/mililitro |
| MTBE | Éter metil-terc-butílico |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |
| µg/mL | micrograma/mililitro |
| Nm | Nanômetro |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PI | Padrão interno |
| PQT | Poliquimioterapia |
| pKa | - log da constante de ionização de um ácido |
| RPM | rotações por minuto |
| UEPA | Universidade Estadual do Pará |
| UFPA | Universidade Federal do Pará |
| UV | Ultravioleta |

| | |
|-------------------|---------------------------|
| ng/mL | nanograma/mililitro |
| µg/L | micrograma/litro |
| µg/g | micrograma/grama |
| L/kg | Litro/quilograma |
| mL/min | miligrama/minuto |
| R | Coeficiente de correlação |
| µL | microlitro |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |
| ZnSO ₄ | Sulfato de Zinco |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | INTRODUÇÃO..... | 16 |
| 2. | REVISÃO DA LITERATURA..... | 17 |
| 2.1 | HANSENÍASE..... | 17 |
| 2.1.1 | Aspectos Epidemiológicos..... | 17 |
| 2.1.2. | Etiologia e aspectos morfológicos,..... | 19 |
| 2.1.3. | Aspectos clínicos..... | 21 |
| 2.1.4. | Reações hansênicas ou estados reacionais..... | 22 |
| 2.1.5. | Acometimento nervoso..... | 26 |
| 2.1.5.1. | Neurite..... | 26 |
| 2.1.5.2. | Dor neuropática..... | 27 |
| 2.1.6. | Aspectos do tratamento medicamentoso..... | 30 |
| 2.1.7 | Amitriptilina..... | |
| 2.1.7.1 | No tratamento da dor neuropática..... | 34 |
| 2.1.7.2. | Características químicas da amitriptilina..... | 34 |
| 2.1.7.3. | Propriedades farmacocinéticas da | 35 |
| | amitriptilina..... | |
| 2.1.8. | Mecanismo de ação dos antidepressivos..... | 36 |
| 2.1.9. | Efeitos Adversos da amitriptilina..... | 37 |
| 2.2. | Monitorização terapêutica da amitriptilina | 38 |
| 3. | JUSTIFICATIVA..... | 39 |
| 4. | OBJETIVOS..... | 40 |
| 4.1. | GERAL..... | 40 |
| 4.2. | ESPECÍFICO..... | 40 |
| 5. | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 41 |
| 5.1. | LOCAL DO ESTUDO..... | 41 |
| 5.2. | CASUÍSTICA..... | 41 |
| 5.2.1. | Critérios de Inclusão e Exclusão..... | 41 |
| 5.3. | ESQUEMA TERAPÊUTICO..... | 41 |
| 5.4. | AMOSTRAS..... | 42 |
| 5.5. | PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE | 42 |
| | AMITRIPTILINA..... | |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 5.5.1. | Soluções de Referência e Reagentes | 42 |
| 5.5.2. | Preparação de soluções padrão, calibradores e controle | 43 |
| 5.5.2.1. | Solução estoque..... | 43 |
| 5.5.2.2. | Solução de trabalho..... | 43 |
| 5.5.3. | Calibradores e controle..... | 43 |
| 5.5.4. | Aparelhos e equipamentos..... | 43 |
| 5.5.5. | Condições cromatográficas..... | 44 |
| 5.5.6. | Procedimento de extração de Amitriptilina da matriz biológica..... | 44 |
| 5.5.7. | Determinação das concentrações de Amitriptilina | 46 |
| 5.6. | VALIDAÇÃO DE MÉTODO..... | 46 |
| 5.6.1. | Tempo de Retenção..... | 46 |
| 5.6.2. | Limite de quantificação e detecção..... | 46 |
| 5.6.3. | Linearidade..... | 47 |
| 5.6.4. | Curva de calibração..... | 47 |
| 5.6.5. | Recuperação..... | 47 |
| 5.6.6. | Precisão intraensaio e interensaio..... | 48 |
| 5.6.7. | Interferentes..... | 48 |
| 5.6.8. | Robustez..... | 48 |
| 5.7. | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 48 |
| 5.8. | ASPECTOS ÉTICOS..... | 49 |
| 6. | RESULTADOS..... | 50 |
| 6.1. | VALIDAÇÃO DE MÉTODO..... | 50 |
| 6.1.1. | Determinação dos tempos de retenção da amitriptilina e da clomipramina..... | 50 |
| 6.1.2. | Limite detecção e quantificação..... | 51 |
| 6.1.3. | Linearidade..... | 51 |
| 6.1.4. | Curva de calibração..... | 52 |
| 6.1.5. | Recuperação da amitriptilina..... | 53 |
| 6.1.6. | Estudo de Precisão..... | 54 |

| | | |
|--------|--|-----------|
| 6.1.7. | Interferentes..... | 54 |
| 6.1.8. | Robustez..... | 55 |
| 6.2 | CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES PARTICIPANTES DO ESTUDO | 56 |
| 6.2.1 | Sexo e Idade..... | 56 |
| 6.2.2 | Tipo de Reação e Período de Ocorrência..... | 56 |
| 6.2.3 | Dose de amitriptilina..... | 57 |
| 6.3 | RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE AMITRIPTILINA NAS | 58 |
| | AMOSTRAS ANALISADAS..... | |
| 7 | DISCUSSÃO..... | 62 |
| 8 | CONCLUSÃO..... | 70 |
| | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 71 |
| | ANEXO I..... | 85 |
| | ANEXO II..... | 86 |

1. INTRODUÇÃO

A hanseníase é uma doença infecciosa crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, que afeta preferencialmente os nervos periféricos e a pele, acometendo principalmente olhos, mãos e pés (ARAÚJO, 2003). Há relatos de que a doença era conhecida há mais de três ou quatro mil anos, pois foi descrita no Egito, quatro mil e trezentos anos antes de Cristo, segundo um papiro da época de Ramsés II (BRASIL, 1960).

O comprometimento nervoso é a principal característica da doença, com elevado potencial para provocar incapacidades físicas que podem inclusive, evoluir para deformidades, bem como reduzir a capacidade de trabalho e limitar a vida social. Também são responsáveis pelo estigma e preconceito contra a doença, que levam a importante dano psicológico (BRASIL, 2002; OMS, 2005).

No Brasil, apesar da redução drástica no número de casos, de 19 para 4,68 doentes em cada 10.000 habitantes, no período de 1985 a 2000, a hanseníase ainda é um problema de saúde pública que exige vigilância resolutiva (BRASIL, 2002), apesar do fácil diagnóstico, tratamento e cura (OPROMOLLA, 2000). Dentre as estratégias terapêuticas se destacam: a poliquimioterapia específica, prevenção das incapacidades físicas, reabilitação física e psicossocial e supressão dos estados reacionais. Estes últimos são de cunho imunológico, e podem ocorrer durante a evolução da doença, antes ou no curso da terapia, e persistir após seu término em vários pacientes (FOSS, 1999; ARAÚJO, 2003).

O tratamento disponível na rede pública de saúde para as reações hansênica é constituído por corticosteróides, talidomida e antiinflamatórios não esteroidais (AINE's), objetivando controlar as alterações imuno-inflamatórias dos episódios reacionais e evitar as deficiências físicas decorrentes do dano neural. Medicamentos como os imunossupressores (Azatioprina e Ciclosporina), antidepressivos tricíclicos, anticonvulsivantes dentre outros, têm sido utilizados em estudos clínicos experimentais, com resultados variáveis (ARAÚJO, 2003). Dentre os antidepressivos tricíclicos, se destaca a amitrilina, pelo seu marcante efeito analgésico, em várias condições dolorosas, dentre elas a dor neuropática, nas quais outros analgésicos não são efetivos (MARQUEZ, 2005).

Ao se considerar o uso recente da amitriptilina em estudos clínicos para o tratamento dos episódios reacionais e a grande variabilidade cinética deste fármaco, faz-se necessário a validação de metodologia analítica e a monitorização das suas concentrações plasmáticas, objetivando ajustar as doses, alcançando assim, o tratamento ótimo (BRAKEL, 2007).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. HANSENÍASE

2.1.1. Aspectos epidemiológicos

Apesar dos esforços para sua eliminação, a hanseníase ainda representa um importante problema de saúde pública nos países subdesenvolvidos, configurando-se assim, a pobreza como o principal fator de risco (OMS, 2003). Embora a doença apresente elevada incidência nestes países, especificamente na população menos favorecida, não se conhece ao certo o papel de determinadas variáveis como moradia, estado nutricional, infecções concomitantes (HIV e malária) ou prévias por outras micobactérias, para manutenção ou aumento no número dos casos. Soma-se os fatores genéticos, uma vez que a distribuição da doença nos conglomerados, famílias ou comunidades com antecedentes genéticos comuns sugere esta possibilidade (VAN BEERS, 1996; VISSCHEDIJK, 2000; ARAÚJO, 2003).

Relatório da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2005) sobre a estratégia global para avaliar a carga de hanseníase, demonstra que existem países da África, Ásia e América Latina nos quais a prevalência da doença ainda está acima da meta de eliminação que é de um para cada dez mil habitantes (Figura 1).

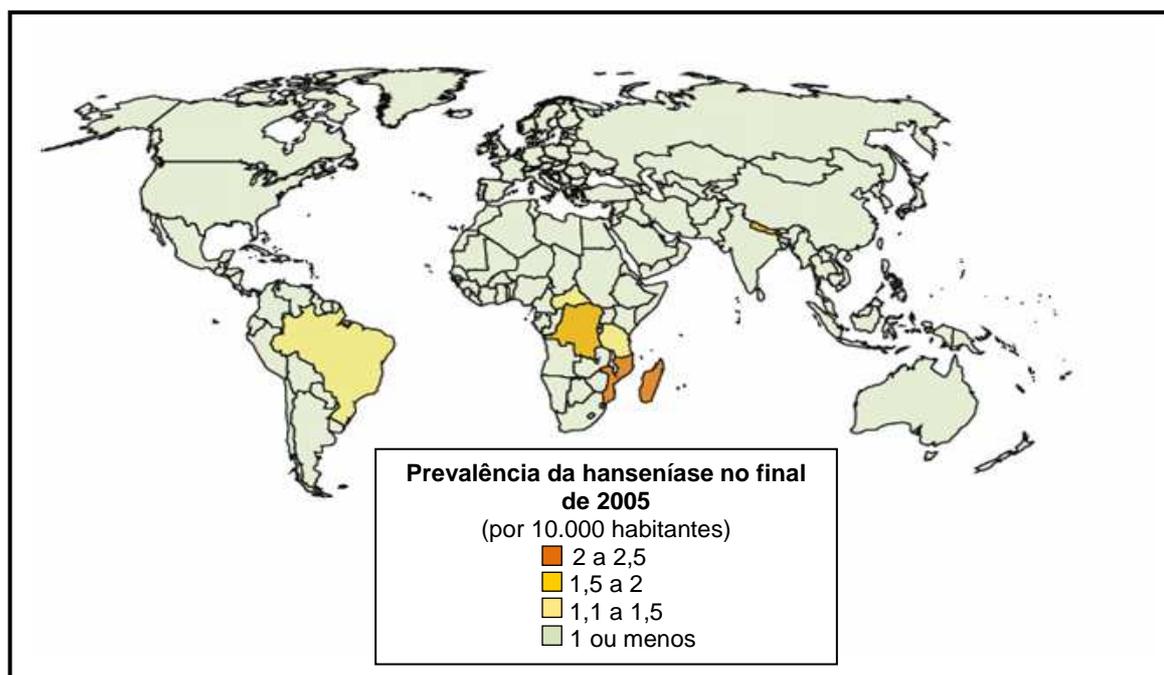


Figura 1: Prevalência da hanseníase no mundo

Fonte: Datasus, 2006.

De acordo com os relatórios do Ministério da Saúde do Brasil (2006), houve redução da taxa de detecção da doença para 2,09 casos por dez mil habitantes em 2005, considerando-se que em 2004 a taxa era de 2,76. Para a Organização Pan Americana de Saúde (OPAS), estes indicadores revelam a expectativa de que a meta proposta pela OMS, de redução da doença, como um problema de saúde pública, seja atingida até o final deste ano, com a diminuição de sua prevalência para 1 caso por 10.000 habitantes (BRASIL, 2006).

Além disso, em 2005 foi registrada redução de 13,45% da taxa de prevalência, que passou de 1,71 por dez mil habitantes em 2004, para 1,47. Com estes indicadores, o Brasil é o segundo no mundo, no número total de casos da doença, perdendo apenas para Madagascar, que tem 2,4 casos por dez mil habitantes (BRASIL, 2006).

A doença é endêmica em todo o território nacional, embora com distribuição irregular. As regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste apresentam as maiores taxas de detecção e prevalência (BRASIL, 1999; ISHII, 2003), com destaque para a Amazônia Legal, que é considerada o principal foco da hanseníase no Brasil. A Região Norte tem 5,16 casos para cada dez mil habitantes.

O centro-Oeste está em segundo lugar, com 3,75, seguido do Nordeste com 2,24 registros para cada dez mil habitantes (Figura 2). Os estados que apresentam os maiores índices são Mato Grosso com 7,85 casos para cada dez mil habitantes, Pará e Maranhão com 6,70 e 5,41 respectivamente. Por outro lado, as menores incidências estão nas regiões Sul e Sudeste com 0,75 e 0,76 para cada dez mil habitantes, respectivamente (BRASIL, 2006)

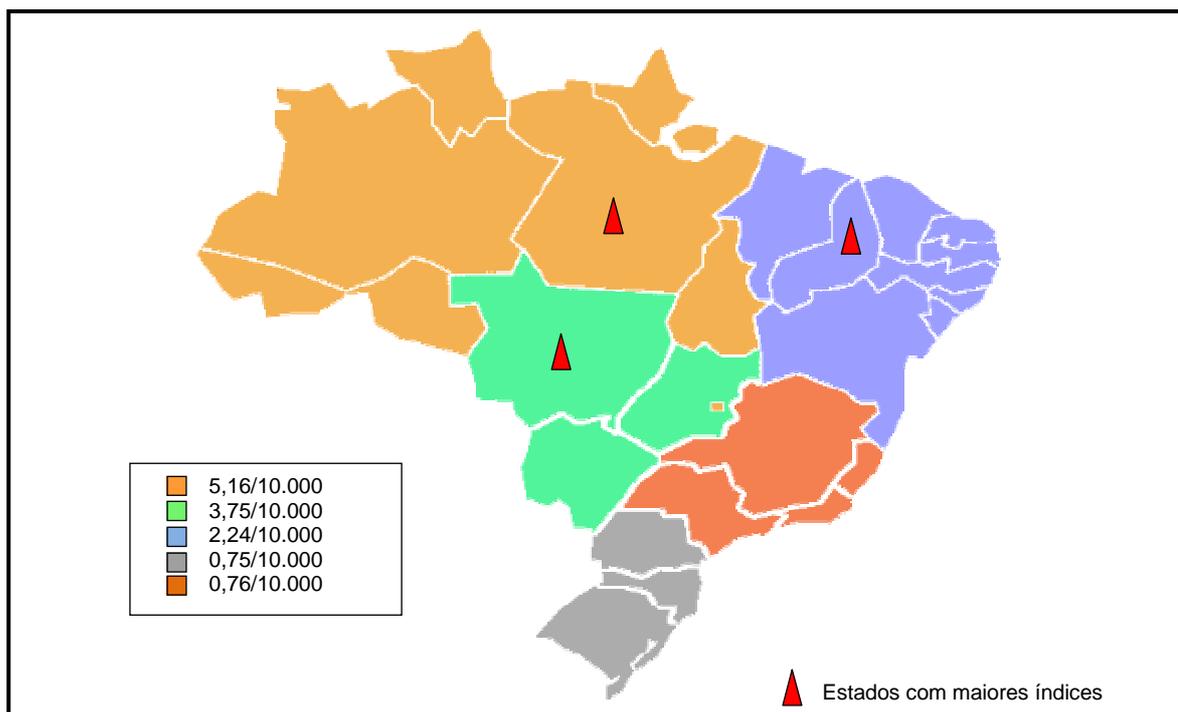


Figura 2: Prevalência da hanseníase no Brasil

Fonte: Adaptada pelo autor

2.1.2. Etiologia e aspectos morfológicos

O agente causador da hanseníase é o *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), também conhecido como bacilo de Hansen, descrito em 1873 por Amauer Hansen, apresenta forma de bastonete linear ou levemente encurvado, cujo comprimento varia de 1,5 a 8 μm e a largura de 0,2 a 0,4 μm (KATOCH, 2002). É um bacilo álcool ácido resistente, isto é, cora-se pela fucsina-ácida e não se descora pela lavagem no ácido e álcool. É um parasita celular obrigatório do sistema fagocítico mononuclear, de divisão binária lenta, a cada 20 ou 30 dias, o que determina a cronicidade da doença (TALHARI & NEVES, 1997). De maneira peculiar, possui

predileção pela pele e células de Schwann que envolvem os axônios dos nervos periféricos (ABULAFIA & VIGNALE, 1999; ARAÚJO, 2003).

O homem é considerado o único reservatório natural do bacilo, apesar do relato em animais selvagens naturalmente infectados (tatus e macacos). A principal fonte de infecção são os portadores das formas multibacilares. A existência de portadores assintomáticos tem sido caracterizada nos estudos de DNA, utilizando a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR), entretanto, o papel destes na transmissão e o seu risco de adoecimento não estão perfeitamente definidos (VISSCHEDIJK, 2000).

As vias aéreas superiores constituem a principal porta de entrada e via de eliminação do bacilo. Também pode ocorrer a transmissão via cutânea, quando existem lesões traumáticas, e pelas secreções orgânicas como o leite, esperma, suor, secreção vaginal, que podem eliminar bacilos, mas não são importantes na cadeia epidemiológica (ARAÚJO, 2003). Entretanto, para que ocorra a transmissão do bacilo, é necessário o contato direto com o doente não tratado (TALHARI & NEVES, 1997; BRASIL, 2002).

O período de incubação da doença é longo e variável, em média de dois a dez anos, e as manifestações clínicas refletem a resposta imunológica do hospedeiro (KATOCH, 2002). O bacilo de hansen tem alta infectividade e baixa patogenicidade, ou seja, infecta várias pessoas, mas poucas adoecem (BRASIL, 2002). Estima-se que 90% dos indivíduos sejam naturalmente imunes a hanseníase, por mecanismos ainda não conhecidos (BECHELLI & CUBAN, 1998; MODLIN & REA, 1987).

Dentre as pessoas que adoecem, algumas apresentam resistência ao bacilo, constituindo os paucibacilares (PB), abrigando poucos microorganismos. Entretanto em pequeno número de casos o bacilo se multiplica, passando a ser eliminado para o meio exterior, infectando outras pessoas, sendo denominados de multibacilares (MB), os quais são responsáveis pela manutenção da cadeia epidemiológica da doença. (BRASIL, 2002).

2.1.3. Aspectos clínicos

A hanseníase apresenta formas clínicas variáveis, que dependem da resposta imune do hospedeiro, conferindo espectro característico das lesões, utilizado nas diversas classificações clínicas da doença (ABULAFIA, 1999). Dentre estas, a mais empregada em saúde pública é a de Madri, que agrupa os pacientes nas formas paucibacilares, por sua vez, constituída pela forma Indeterminada (MHI) e Tuberculóide (MHT); e nas multibacilares, compreendendo as formas Dimorfa (MHD) e Virchowiana (MHV) (MARGARIDO & RIVITTI, 2005).

A hanseníase não é estável em sua forma clínica, o que levou RIDLEY & JOPLING (1960) a proporem uma classificação de acordo com a imunidade dos pacientes em um sistema de cinco grupos, a saber: os grupos BT (boderline tuberculóide), BB (boderline boderline), BL (boderline lepromatoso), LL (lepromatoso) e T (tuberculóide), atribuindo uma importância menor à forma indeterminada. No entanto, o interesse epidemiológico por esta última forma, bem como o fato de ser uma expressão precoce da doença e sem definição em seu sentido polar, ainda é considerada uma forma clínica da hanseníase (Figura 3) (GOULART, 2002; MARGARIDO & RIVITTI, 2005).



Figura 3: Formas clínicas da hanseníase (**A:** hanseníase indeterminada, **B:** hanseníase tuberculóide, **C:** hanseníase dimorfa, **D:** hanseníase virchowiana

Fonte: BRITTON, 2004.

Inicialmente a doença pode se apresentar na forma indeterminada, na qual a resposta do hospedeiro é suficientemente diferenciada para permitir a classificação, e se caracteriza pelo aparecimento de manchas hipocrômicas, com alteração da sensibilidade local (tátil, térmica e dolorosa) (OPROMOLA, 2000). Pode evoluir para cura espontânea ou para as formas tuberculóide, dimorfa ou virchowiana, de acordo com a resposta celular contra o *M. leprae* desenvolvida pelo hospedeiro (BECHELLI & CURBAN, 1988).

A hanseníase tuberculóide é o polo de forte resposta celular e alta resistência ao bacilo. As lesões cutâneas e neurais são limitadas em pequeno número e com poucos bacilos (paucibacilares). Pode haver manifestação neural pura sem lesão cutânea aparente, que é conhecida como hanseníase tuberculóide neural pura (BECHELLI & CURBAN, 1988).

A hanseníase dimorfa (HD), também denominada "*Borderline*", constitui a forma clínica imunológica instável. Pacientes com HD apresentam aspectos clínicos dos dois pólos, HT e HV, podendo se assemelhar mais a um pólo do que ao outro, tornando difícil sua classificação. Há comprometimento de um número maior de nervos, neurite grave e elevada probabilidade de seqüelas. (JACOBSON & KRAHENBUHL, 1999).

No outro pólo encontra-se a hanseníase virchowiana, que corresponde à forma de alta susceptibilidade ao bacilo, pois a deficiência da resposta imune celular do hospedeiro resulta em excessiva multiplicação bacilar, promovendo sua disseminação no organismo. Neste caso, a doença evolui de forma insidiosa, com comprometimento dos nervos periféricos, órgãos internos e pele. O dano neural evolui silencioso e gradualmente até neurite mista, distal e simétrica (JACOBSON & KRAHENBUHL, 1999; NATIONS et al., 1998).

2.1.4. Reações hansênicas ou estados reacionais

Apesar da evolução crônica, podem ocorrer episódios agudos denominados reacionais, os quais são freqüentemente acompanhados de quadros de neurite que podem resultar em incapacidade física, muitas vezes irreversíveis (OPROMOLA, 2000), cuja prevenção está associada ao diagnóstico precoce,

através de exame físico e dermatoneurológico (Figura 4), e ao início imediato do tratamento. Ressalta-se que a identificação dos mesmos não contra-indica o início da poliquimioterapia (BRASIL, 2006).

Os estados reacionais são reações do sistema imunológico do paciente ao *Mycobacterium leprae*, associadas ao antígeno bacteriano e as alterações no equilíbrio entre o sistema imunológico do hospedeiro e o bacilo (BWIRE, 1993). São consideradas as principais causas das lesões dos nervos. Apresentam-se como episódios inflamatórios agudos e subagudos. Podem ocorrer tanto nos casos paucibacilares como nos multibacilares, principalmente durante os primeiros meses do tratamento da hanseníase, como também antes ou depois da quimioterapia, isto é, após a cura do paciente. Ressalta-se que quando ocorrem antes do tratamento, podem sugerir o diagnóstico da doença (BRASIL, 2006).

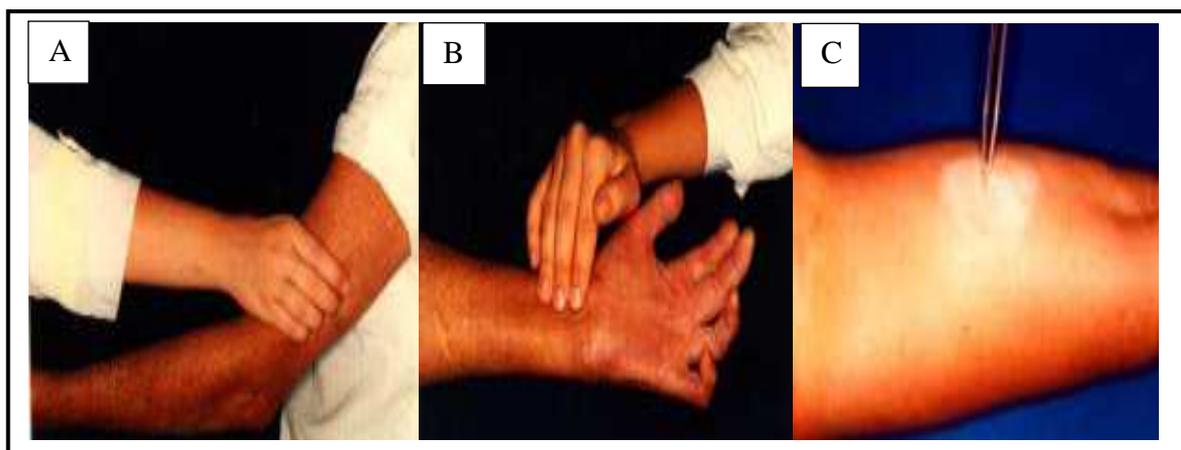


Figura 4: Exame dermatoneurológico (**A:** palpção do nervo radial, **B:** palpção do nervo mediano, **C:** teste de sensibilidade)

Fonte: BRASIL, 2006.

As reações hansênicas podem ser mediadas por células ou por anticorpos e são classificadas em Tipo I ou Reação Reversa (RR) e Tipo II ou Eritema Nodoso Hansênico (ENH) (OPROMOLLA, 2000).

A Reação Tipo I, ocorre nos pacientes com hanseníase BL, BB e BT, cuja clínica pode ser reunida em três grupos: paciente com lesões cutâneas predominantes, onde há eritema e edema sem envolvimento dos nervos; pacientes

com envolvimento dos nervos (neurite) sem alterações da pele e aqueles com envolvimento cutâneo e nervoso. Manifesta-se durante a poliquimioterapia, podendo também ocorrer algum tempo após o término do tratamento (MARGARIDO & RIVITTI, 2005 ; SCOLLARD et al, 2006).

Neste tipo de reação, os sintomas de neurite são caracterizados por espessamento do nervo, dor à palpação e dor espontânea no trajeto do nervo. As paralisias são mais precoces e intensas na forma tuberculóide, contudo com menor número de nervos lesados, ao contrário da forma Boderline. As lesões neurais estão relacionadas ao estado imunológico do paciente, que quanto mais preservado estiver, menor será o comprometimento, com menor probabilidade de destruição dos filetes nervosos (BRITTON, 2004)

O comprometimento neural é freqüente, e os nervos mais afetados são o ulnar, mediano, tibial posterior, fibular comum radial, trigêmeo e facial (Figura 5), os quais durante as reações apresentam tumefação, acompanhada de sensibilidade dolorosa local.

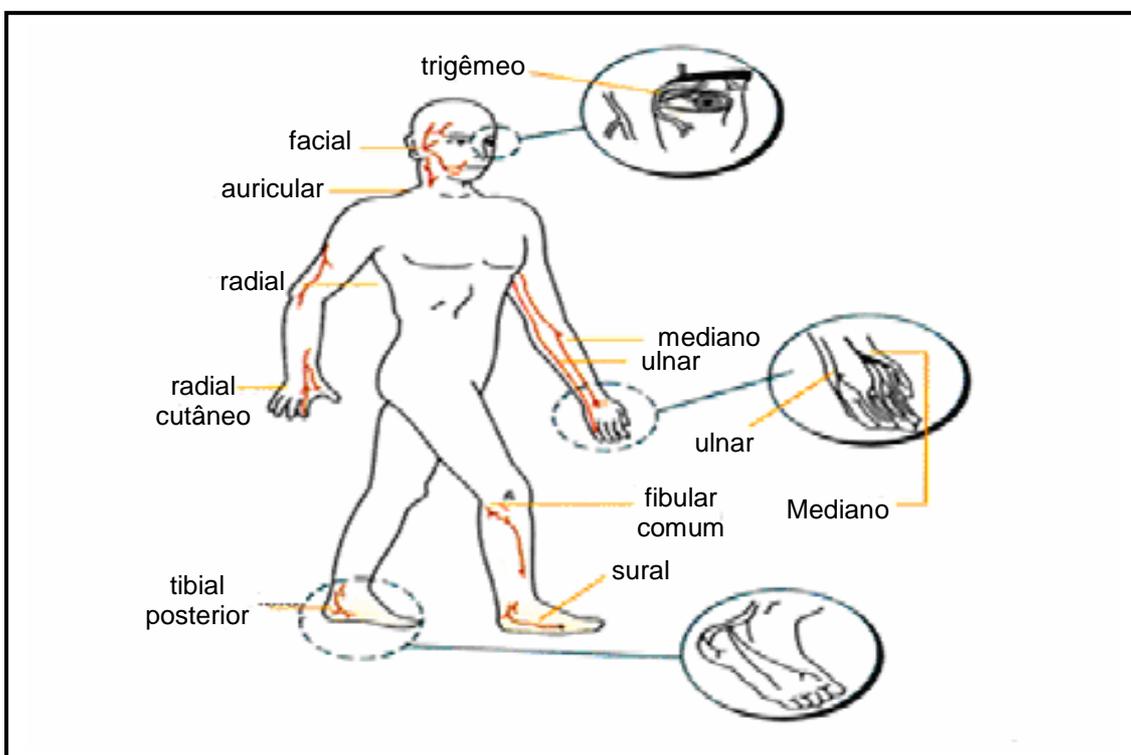


Figura 5: Principais nervos acometidos na hanseníase

Fonte: NOGUEIRA, 2006.

A alteração motora é significativa e os nervos de maior importância são o ulnar, levando a “mão em garra” o poplíteo-lateral, acarretando o “pé caído” e o facial, produzindo paralisia facial, com seqüelas oftalmológicas (Figura 6). Estes quadros clínicos costumam ser permanentes, se negligenciados ou tratados de forma incorreta. No entanto, podem ser reversíveis com tratamento rápido e adequado. Ressalta-se que não são comuns sintomas sistêmicos como mal estar geral e febre (MARGARIDO & RIVITTI, 2005).

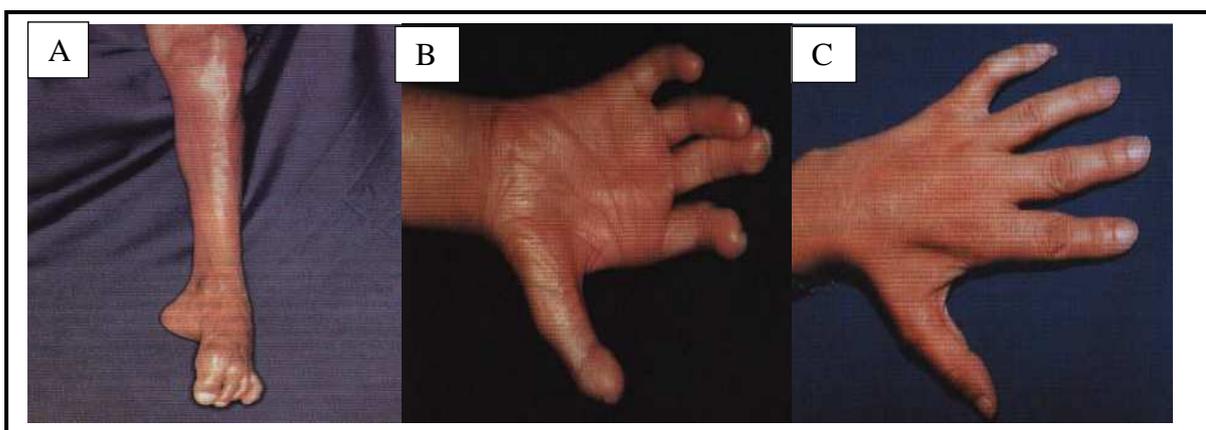


Figura 6: Alterações motoras na hanseníase (A: pé caído, B e C: mão em garra).

Fonte: BRASIL, 2006.

A reação tipo II, acomete principalmente pacientes com as formas clínicas LL e BL, e consiste de um processo inflamatório sistêmico desencadeado pela deposição de imunocomplexos em determinados órgãos e na pele (hipersensibilidade do tipo III), e estudos recentes a associaram com outros fenômenos da imunidade celular (KATOCH, 2002; SCOLLARD et al, 2006). São caracterizadas pelo aparecimento súbito de nódulos, pápulas e placas eritematosas dolorosas na pele, e pela presença de neurite, edema e artralgia, seguidos pelo aumento doloroso dos linfonodos, fígado e baço, acompanhado de febre, mal estar e leucocitose (OPROMOLLA, 2000).

Dependendo dos nervos acometidos, a neurite pode levar a inúmeras incapacidades. A artrite acarreta impotência funcional e, quando os nódulos reacionais se localizam nos dorsos das mãos, ocorre o comprometimento do sistema ósteo-artículo-muscular, denominado "mão reacional", podendo levar a deformações semelhantes àquelas da artrite reumatóide (OPROMOLLA, 2000; TALHARI & NEVES, 1997).

2.1.5. Acometimento nervoso

Os danos ao sistema nervoso periférico antes, durante ou após o término do tratamento, são responsáveis pela maioria das deformidades associadas à hanseníase, comprometendo a saúde, bem-estar e, conseqüentemente, a qualidade de vida dos pacientes (SCOLLARD, 2006). São atribuídos a proliferação bacteriana ou a resposta imunológico do hospedeiro aos poucos bacilos presentes nos nervos periféricos (BRAKEL; 2007), os quais podem ser acometidos em número e gravidade variável a cada paciente. Os episódios reacionais podem agravar o processo inflamatório do nervo e comprometer a função neural (KATOCH, 2002).

A neuropatia resulta da inflamação dos nervos periféricos, cuja intensidade, extensão e distribuição dependem da forma clínica, fase evolutiva e dos fenômenos de agudização durante as reações I e II. Podem ser acometidos os ramos cutâneos ou o tronco do nervo, de maneira isolada (mononeuropatia) ou múltipla (neuropatia múltipla). São clinicamente conhecidas como neurites, e a incidência aumenta com a evolução da doença, a idade do paciente e nas formas multibacilares (GARBINO et al, 2003).

2.1.5.1. Neurite

A neurite representa a resposta imunológica do indivíduo, a invasão neural pelo *M. Leprae*, levando a um processo inflamatório que ocasionará o espessamento do nervo e favorecerá a isquemia parcial do mesmo por compressão dos vasos sanguíneos perineurais. As lesões neurais aparecem em todas as formas da doença, exceto na indeterminada, sendo freqüentes nos estados reacionais (PIMENTEL et al, 2003).

Manifesta-se clinicamente com sintomatologia aguda, e o paciente apresenta dor intensa, edema, espessamento dos nervos, alterações da sensibilidade e motoras, que podem ser reversíveis, se houver controle do edema, mas frequentemente se torna crônica. Esta se caracteriza por início insidioso e lento, com pequenas alterações sensitivo-motoras e sintomatologia dolorosa variável. Na neuropatia não dolorosa conhecida como “neurite silenciosa”, são observadas alterações da função sensitiva ou sensitivo-motora, na ausência de

sintomas agudos de dor e espessamento do nervo (GARBINO et al, 2003). Talhari & Neves (1997) descreveram a clínica da neurite silenciosa como o aumento progressivo da anestesia e diminuição da força muscular.

A dor da neuropatia (neuralgia) pode ocorrer durante o processo inflamatório, associada ou não à compressão neural, ou decorrer de sequela da neurite (dor neuropática). A distinção entre estas duas situações é importante, pois implica em tratamento diferenciado. A dor pode ser espontânea ou desencadeada pela palpação ou percussão do nervo. Sensações desagradáveis podem estar presentes na ausência do estímulo (parestesias), e ocasionalmente são encontrados distúrbios na percepção das sensações (disestesias) (ROCHA et al, 2007; BAASTRUP, 2008).

2.1.5. 2. Dor neuropática

A dor é uma sensação de experiência desagradável que ocorre quando o tecido é lesionado, protegendo assim, o corpo de uma possível ameaça ou lesão (YUNJONG LEE et al, 2005). Resulta de vários fatores, como o aumento da pressão, devido ao edema sobre tecidos e terminações nervosas, da lesão das fibras nervosas, da irritação produzida por microorganismos ou pelo extravasamento de numerosos mediadores inflamatórios das células lesadas e pelas cininas que afetam as terminações nervosas (ROCHA et al, 2007).

A dor pode ser desencadeada pela ativação dos nociceptores específicos (dor nociceptiva), pela lesão das fibras sensoriais ou por danos ao sistema nervoso central, neste caso é conhecida como dor neuropática (MILLAN, 2002). Resulta de uma lesão primária ou disfunção do sistema nervoso central, e se caracteriza por ser espontânea e persistente e afetar 2 a 4% da população geral. É um achado clínico frequente nos pacientes com hanseníase (BRAKEL, 2007)

Pode ser dividida em dor aguda, de curta duração, geralmente persistente apenas no período de duração do dano tecidual, e em dor crônica, evidente quando cessa a função dos mecanismos normais de cicatrização e em algumas doenças, como a hanseníase, pode persistir por semanas, meses ou até anos (SERPELL, 2005).

O estímulo doloroso é propagado através das fibras aferentes primárias (PAFs) C ou A- δ . As primeiras não são mielinizadas e conduzem o estímulo nociceptivo com baixa velocidade. Por outro lado as fibras A- δ são mielinizadas, e conduzem o estímulo doloroso em alta velocidade. (JULIUS E BASBAUM, 2001). A informação nociceptiva é transferida para a lâmina superficial (lâmina I e II) e para a lâmina profunda (V e VI) no corno dorsal da medula espinhal (Figura 7). A seguir, os nociceptores primários ramificam-se na medula espinhal, estabelecendo sinapses com os neurônios de segunda ordem em uma região conhecida como substância gelatinosa (MILLAN, 2002).

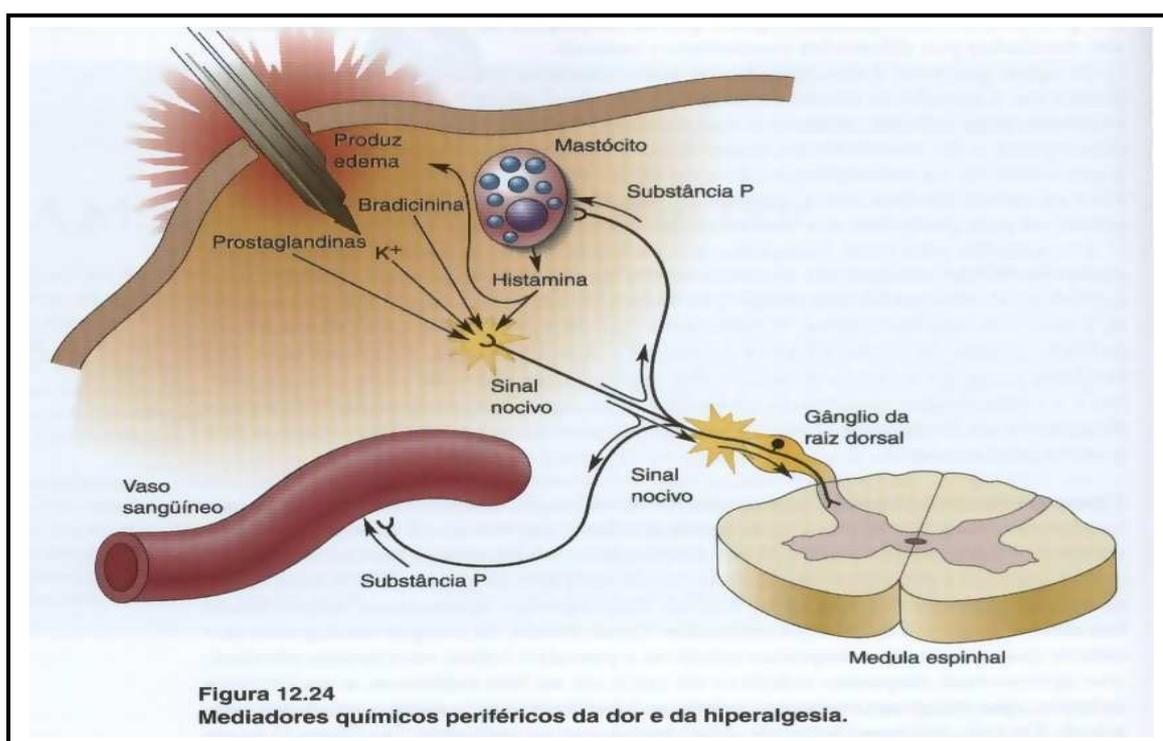


Figura 7: Mediadores químicos periféricos da dor

Fonte: BEAR et al, 2006

A informação sobre a dor converge da medula espinhal ao encéfalo pela via espinotalâmica (Figura 8). Os neurônios de segunda ordem ascendem o trato espinotalâmico ao longo da medula espinhal, sem estabelecer sinapses até alcançarem o tálamo, onde estas ocorrem (RUSSO & BROSE, 1998). Do tálamo a informação é projetada para várias áreas do córtex cerebral pelos axônios dos neurônios de terceira ordem, onde a somatização do estímulo nocivo ocorre, ou

emitem axônios ao giro cingulado anterior, onde se localiza o componente emocional da dor (RUSSO e BROSE, 1998).

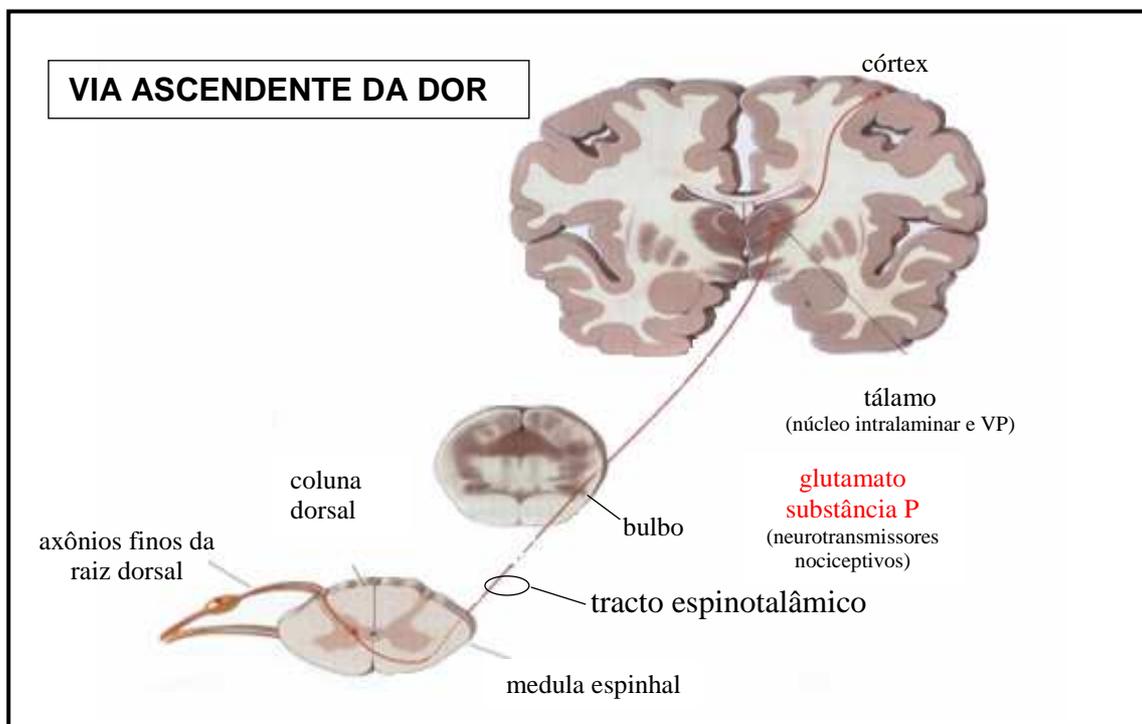


Figura 8. Via espinotalâmica, principal rota pela qual a informação da dor ascende ao córtex cerebral

Fonte: BEAR et al, 2006 (adaptado).

As vias descendentes originadas das estruturas cerebrais desempenham importante papel na modulação e integração das mensagens nociceptivas no corno dorsal da medula. Vias serotoninérgicas, adrenérgicas e em menor proporção as vias dopaminérgica, representam os principais componentes dos mecanismos descendentes (MICÓ, 2006).

Várias regiões do encéfalo têm sido implicadas na supressão da dor, dentre estas, a zona dos neurônios no mesencéfalo, denominada substância cinzenta periaquidital (PAG) e periventricular (Figura 9). A PAG normalmente recebe aferências de várias estruturas do encéfalo, e os neurônios aí situados, enviam axônios descendentes para várias regiões da linha média do bulbo, particularmente aos núcleos magno da rafe, que utilizam a serotonina como neurotransmissor. Estes neurônios do bulbo, por sua vez, projetam axônios descendentes que vão aos cornos dorsais da medula espinhal, onde podem

efetivamente deprimir a atividade dos neurônios nociceptivos. Entretanto esta via de regulação da dor está comprometida na dor crônica, como nos pacientes portadores da hanseníase (MILLAN, 2002).

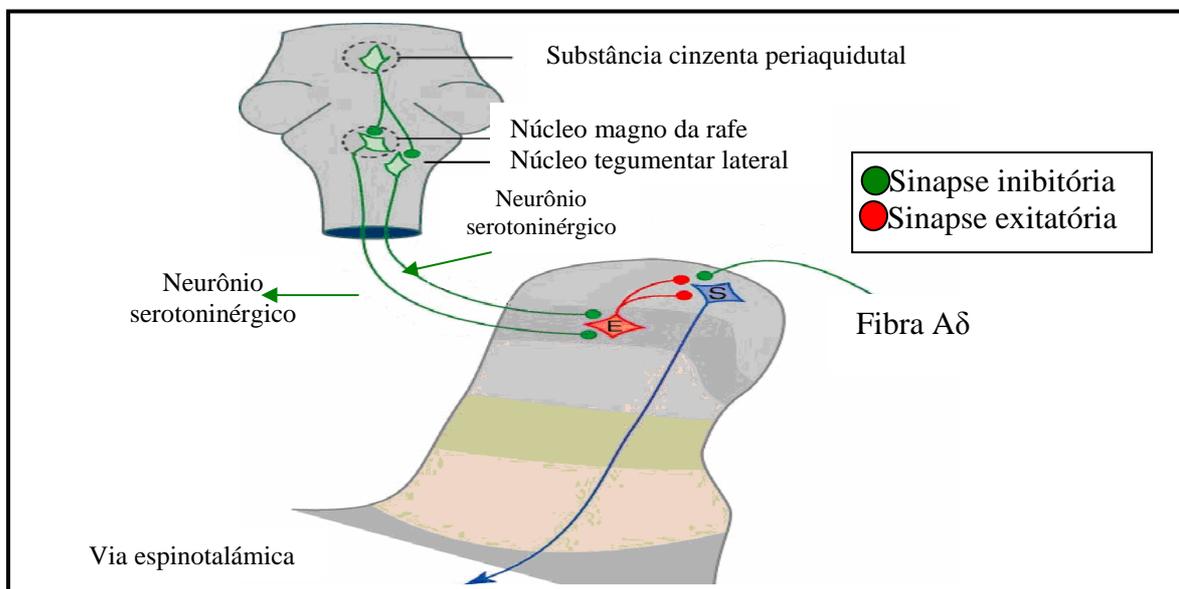


Figura 9: Via descendente da dor

Fonte: SQUIRE, 2003

2.1.6. Aspectos do tratamento medicamentoso

O tratamento do paciente com hanseníase objetiva a cura, eliminando a fonte de infecção, interrompendo assim, a cadeia de transmissão, o que é considerado estratégico para o controle da doença. O tratamento integral de um paciente com hanseníase compreende a quimioterapia específica, seu acompanhamento, com vistas a identificar e tratar as possíveis intercorrências e complicações da doença e a prevenção e tratamento das incapacidades físicas. Neste sentido, há necessidade de um esforço organizado da rede básica de saúde, para adoção das estratégias adequadas a todas as pessoas diagnosticadas (BRASIL, 2002).

Para o tratamento específico, o Ministério da Saúde do Brasil adota a poliquimioterapia recomendada pela Organização Mundial de Saúde conhecida como PQT/OMS, e que consiste no uso de três drogas associadas: rifampicina, clofazimina e dapsona. Esta associação evita a resistência medicamentosa do

bacilo, que impossibilita a cura da doença, fato frequente quando se utiliza apenas um medicamento, (BRASIL, 2001 & BRASIL, 2002).

O Ministério da Saúde adota a classificação de Madri e sugere classificação operacional com os seguintes critérios: paucibacilares (PB) – casos com até cinco lesões de pele e ou apenas um tronco nervoso comprometido e multibacilares (MB) – casos com mais de cinco lesões de pele e ou mais de um tronco nervoso acometido (Tabela 1). Ressalta-se que a baciloscopia positiva classifica o caso como multibacilar, independente do número de lesões (ARAÚJO, 2003).

Tabela 1: Esquema poliquimioterápico padrão (PQT/OMS)

| Drogas/seguimento/ Alta | Paucibacilar PQT/PB- 6 doses | Multibacilar PQT/MB- 12 doses | Multibacilar PQT/MB- 24doses |
|------------------------------------|--|---|--|
| Rifampicina | 600 mg – dose mensal supervisionada | 600 mg – dose mensal supervisionada | 600 mg – dose mensal supervisionada |
| Dapsona | 100 mg – dose diária auto administrada | 100 mg – dose diária auto administrada | 100 mg – dose diária auto administrada |
| Clofazimina | - | 300 mg – dose mensal supervisionada – 50 mg dose diária auto administrada ou 100 mg em dias alternados auto- administradas | 300 mg – dose mensal supervisionada – 50 mg dose diária auto administrada ou 100 mg em dias alternados auto- administradas |
| | Comparecimentos mensais para a dose supervisionada | Comparecimentos mensais para a dose | Comparecimento s mensais para a dose |

| | | | |
|---------------------|--|--|--|
| Seguimento do caso | revisão dermatoneurológica na 6ª dose | supervisionada revisão dermatoneurológica na 6ª e 12ª dose | supervisionada revisão dermatoneurológica na 12ª e 24ª doses |
| Alta por cura | Alta por cura, após a 6ª dose, que pode ser feita em até 9 meses, | Alta por cura, após a 12ª dose, que pode ser feita em até 18 meses, | Alta por cura, após a 24ª dose, que pode ser feita em até 36 meses, |
| Critérios para alta | independente do nº de faltas consecutivas | independente do nº de faltas consecutivas | independente do nº de faltas consecutivas |

Fonte: BRASIL, 2001.

A PQT destrói o bacilo tornando-o inviável, evitando assim, a evolução da doença, prevenindo as incapacidades e deformidades e levando à cura. Soma-se o fato do bacilo morto ser incapaz de infectar outras pessoas, rompendo a cadeia epidemiológica da doença. Assim sendo, no início do tratamento a transmissão da doença é interrompida, e a PQT realizada de forma completa e correta, garante a cura da doença (BRASIL, 2002).

Existem esquemas terapêuticos alternativos disponíveis nos centros de referência, para pacientes com impossibilidade de usar os esquemas padronizados, como o esquema ROM (rifampicina, ofloxacina e minociclina) (Tabela 2) para o tratamento de lesão única da pele, sem envolvimento de tronco nervoso nos pacientes paucibacilares (ARAÚJO, 2003; MALFARÁ, 2005).

TABELA 2: Esquema terapêutico alternativo (ROM)

| Droga | Dose adulto | Dose criança | Tempo de tratamento |
|--------------|--------------------|---------------------|----------------------------|
| Rifampicina | 600 mg | 300 mg | PB - dose única |
| Ofloxacina | 400 mg | 200 mg | PB - dose única |
| Minociclina | 100 mg | 50 mg | PB - dose única |

Fonte: BRASIL, 2001

Com o advento da poliquimioterapia específica para o bacilo, obteve-se o controle da resistência bacilar. Porém, sabe-se que sua destruição pode desencadear as reações hansênicas, fruto da resposta imunológica do hospedeiro frente aos produtos bacterianos, tornando-se necessárias condutas terapêuticas e intervenções precisas para o tratamento destas reações, que representam uma doença imune de caráter agudo no decorrer da doença infecciosa crônica (FOSS, 1999). Desta forma, o tratamento da hanseníase compreende não somente a quimioterapia específica, mas também a supressão da inflamação, o controle dos episódios reacionais, a prevenção das incapacidades e a reabilitação (KATOCH, 2002). Diversos imunossuppressores têm sido utilizados para o tratamento das reações hansênicas entre eles a talidomida, metotrexato, ciclosporina, azatioprina, pentoxifilina e corticosteroides (SCOLLARD et al, 2006)

Para o tratamento dos episódios reacionais tipo I, com quadros discretos e sem neurites, são empregados analgésicos ou antiinflamatórios não esteroidais (AINE'S), já nas neurites, a terapia com prednisona é mais efetiva. O tratamento antiálgico da reação hansênica, usualmente é realizado com altas doses de prednisona, que é um corticosteróide com potente ação antiinflamatória (GARBINO, 2003).

No eritema nodoso hansênico, a talidomida constitui a droga de escolha, salvo as restrições nos casos de eritema nodoso necrosante, comprometimento neural, irite ou iridociclite, orquiepididimite, mãos e pés reacionais, nefrite e vasculite. Nestes casos emprega-se a prednisona (BRASIL, 2002 & PANNIKAR, 2005). Entretanto, o metotrexato, ciclosporina, azatioprina e pentoxifilina têm demonstrado excelentes resultados no tratamento destas reações (SCOLLARD et al, 2006).

O tratamento da neuropatia nos pacientes com hanseníase é habitualmente difícil, e novas condutas terapêuticas estão sendo utilizadas nos pacientes com dor não controlada e crônica, que devem contemplar o tratamento da dor neuropática, requerendo a identificação do seu mecanismo gerador para defini-lo (GARBINO et al., 2003). Como até o presente nenhum medicamento foi desenvolvido exclusivamente para o tratamento da dor neuropática (LUKATS, 2000), estão sendo empregados fármacos, que a princípio foram desenvolvidos

para tratar outras desordens do sistema nervoso, como os antidepressivos (BENBOUZID, et al, 2008), uma vez que estudos demonstraram que a dor neuropática é mais responsiva aos antidepressivos tricíclicos, associado ao consenso de que estas drogas apresentam maior eficácia analgésica, particularmente a amitriptilina, que é o medicamento padrão desta classe (MICÓ, 2006).

2.1.7. Amitriptilina

2.1.7.1. No tratamento da dor neuropática

A amitriptilina é um antidepressivo tricíclico com significativo efeito analgésico nos casos de neuropatia em diferentes modelos animais (RINTALA, et al, 2007). É a droga mais utilizada no tratamento da dor crônica, dentre os antidepressivos tricíclicos, e constitui a terapia de primeira linha na neuropatia diabética, neuralgia pós-herpética, fibromialgia e na dor neuropática central e periférica (BRYSON & WILDE, 1996).

Os antidepressivos tricíclicos foram introduzidos no tratamento da depressão há mais de cinquenta anos. Por muito tempo, foi observado que estes fármacos apresentavam ação analgésica, e seu uso na dor se iniciou há mais de vinte anos, a partir das observações empíricas de seu alívio nos pacientes com neuropatia diabética. Os benefícios dos antidepressivos tricíclicos nas várias condições dolorosas têm sido confirmados por numerosas pesquisas científicas (MONKS, 1990).

Levantamento realizado em 15 países europeus demonstrou que os antidepressivos representam 3% de todas as prescrições de analgésicos utilizados atualmente para a dor crônica. Embora, tenham sido usados como drogas analgésicas por muitos anos, apenas recentemente eles têm sido aprovados pelas agências reguladoras para uso específico na dor neuropática (MICÓ, 2006). Neste sentido, PELLOSO (2005), demonstrou que a amitriptilina foi eficiente na redução da dor nos pacientes com hanseníase.

2.1.7. 2. Características químicas

Os antidepressivos tricíclicos são classificados de acordo com sua estrutura tricíclica básica. O cloridrato de amitriptilina é quimicamente definido como cloridrato de 3-10,11-diidro-5-H-dibenzo [a,d] ciclohepteno-5-ilideno-N,N-dimetil-1-propanamina. Trata-se de um composto branco cristalino, solúvel em água, álcool, clorofórmio, metanol e insolúvel em éter, seu peso molecular é 313,87. A fórmula empírica é $C_{20}H_{23}$ (Figura 10) (BOSE, 2005).

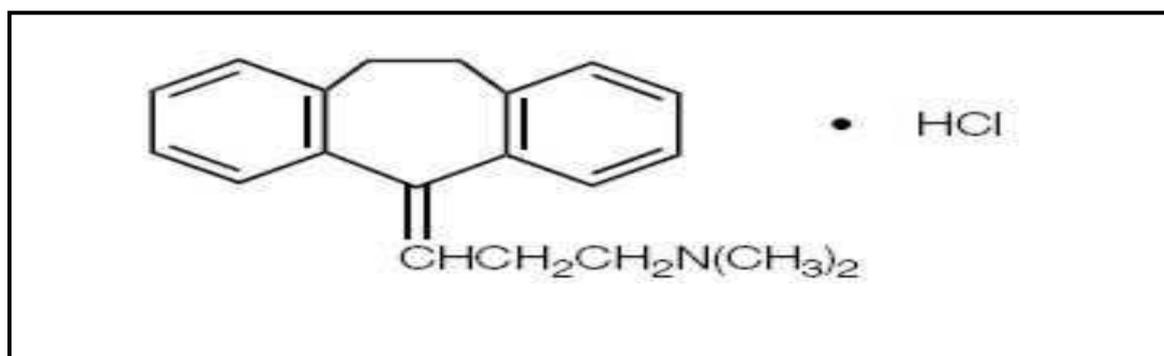


Figura 10: Estrutura química da amitriptilina.

Fonte: www.drugs.com/pro/chlordiazepoxide

2.1.7.3. Propriedades farmacocinéticas da amitriptilina

A amitriptilina é facilmente absorvida pelo trato gastrointestinal, e o pico das concentrações plasmáticas é alcançado entre 2 a 12 horas, após a administração oral nas doses terapêuticas utilizadas. A meia-vida é longa, variando de 10 a 50 horas (BOSE, 2005). Liga-se fortemente as proteínas plasmáticas, é amplamente distribuída pelo organismo humano, o que lhe confere elevado volume de distribuição, concentrando-se principalmente no miocárdio e tecidos cerebrais. O estado de equilíbrio é atingido entre 5 a 7 dias (GUPTA, 2006).

A biodisponibilidade oral é de 33 a 62% em humanos, o que é responsável pela elevada variação interindividual nas concentrações sistêmicas e nos efeitos terapêuticos. Acredita-se que uma proteína transmembrana, a glicoproteína P, possa influenciar nos níveis plasmáticos da amitriptilina (ABAUT et al, 2006). Uma vez que Wachter et al. (2001) sugeriram que a amitriptilina pode ser um substrato da glicoproteína P (gp-P) em modelos experimentais in vivo, a qual seria a principal

responsável pela baixa e variável biodisponibilidade oral, bem como aumentando sua disponibilidade ao citocromo P450.

A biotransformação é hepática à custa das isoformas do citocromo P-450. Segundo MALFARÁ et al. (2007), esta significativa variabilidade nas concentrações da droga no plasma foi observada em pacientes que utilizaram a amitriptilina para depressão e pode ser, em parte explicada através do polimorfismo nos genes que codificam algumas das isoenzimas CYP450 que estão implicadas na sua biotransformação, bem caracterizado nas isoformas CYP2D6 e CYP2C19. A amitriptilina sofre desmetilação à nortriptilina e outros produtos dotados de relativa atividade farmacológica.

Aproximadamente 25 a 50% da dose administrada são excretadas principalmente pelos rins, e o restante pela via biliar. Apenas 5% da dose ingerida é excretada em sua forma original (BOSE, 2007)

2. 1.8. Mecanismo de ação dos Antidepressivos Tricíclicos

De acordo com MICÓ (2006), muitas drogas são usadas atualmente para tratar a dor neuropática, e todas elas podem modular o sistema nervoso central e periférico que estão implicados na detecção, transmissão, modulação e integração dos processos nociceptivos, promovendo um efeito analgésico efetivo nas diferentes situações dolorosas.

O mecanismo de ação analgésica dos antidepressivos, entre eles a amitriptilina, não está completamente elucidado, apesar de seu uso extensivo no tratamento da dor (SERPELL, 2005). Vários mecanismos farmacológicos foram propostos, dentre eles o de Ivy et al. (2007), os quais demonstraram um provável envolvimento dos canais de potássio e sódio na eficácia analgésica, os quais são ativados e bloqueados, respectivamente.

Entretanto, o mecanismo de ação analgésica mais aceito atualmente, foi obtido a partir dos estudos com modelos animais, e se baseia no aumento da permanência da noradrenalina e 5-hidroxitriptamina (5-HT) na fenda sináptica, por

inibição da recaptação destas duas monoaminas, resultante do bloqueio dos seus transportadores específicos na membrana pré-sináptica (Figura 11) (MICÓ, 2006).

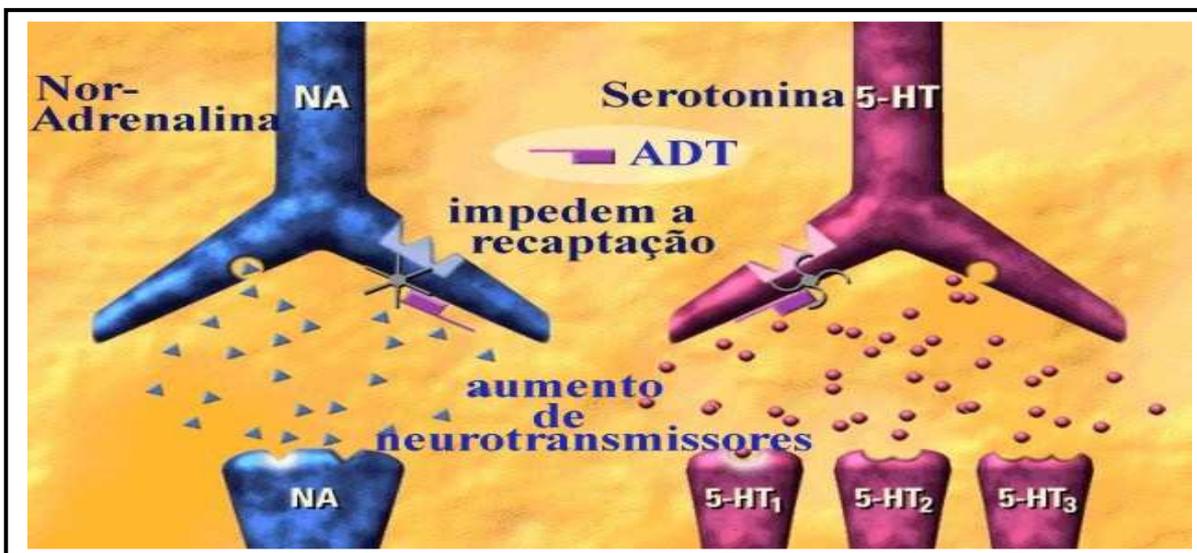


Figura 11: Mecanismo de ação analgésica dos ADT, entre eles a amitriptilina
Fonte: SILVA, 2007.

Neste sentido, a noradrenalina, serotonina e seus receptores, estariam fortemente envolvidos na regulação da sensação nociceptiva em diferentes níveis no sistema nervoso. Em virtude disto, a amitriptilina parece aumentar o controle da dor endógena, pelo aumento ou pela manutenção da atividade da via inibitória descendente bulboespinal, a qual está comprometida em algumas condições como na dor neuropática e nas sequelas de neurite nos pacientes com hanseníase (IVY et al, 2007). Deve ser ressaltado que a depressão e a dor compartilham mecanismos neuroquímicos comuns, no entanto os efeitos analgésicos, parecem ocorrer de modo independente de seu efeito antidepressivo (MICÓ, 2006).

2.1.9. Efeitos adversos da amitriptilina

A amitriptilina acarreta efeitos adversos significativos, os quais limitam seu uso clínico, particularmente nas pessoas idosas. No tratamento da dor neuropática nos pacientes com hanseníase, tais efeitos podem reduzir a cooperação e aceitação, comprometendo assim, a adesão ao tratamento. (MICÓ, 2006)

Os efeitos resultantes do bloqueio muscarínico incluem boca seca, constipação intestinal, retenção urinária e visão turva. O bloqueio do adrenoceptor α_1 pode causar hipotensão postural, enquanto que dos receptores histamínicos produz sedação. Alterações na função serotoninérgica levam a disfunção sexual, perda da libido e anorgasmia. De modo geral, em duas semanas o paciente desenvolve tolerância aos efeitos adversos colinérgicos (PAGE et al,1999). Os efeitos mais significativos ocorrem no sistema cardiovascular, tal como hipotensão postural e arritmias.

2.2. MONITORIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA AMITRIPTILINA

A monitorização terapêutica é considerada uma ferramenta para otimizar o regime de doses de fármacos, de acordo com a concentração e ou de seu produto de biotransformação em amostra de plasma ou soro, coletadas com base no contexto clínico e nos princípios da farmacocinética, objetivando assegurar a eficácia e minimizar os efeitos adversos dos fármacos prescritos. É aplicada a fármacos com estreita margem terapêutica, alta variabilidade interindividual na farmacocinética, como por exemplo, a amitriptilina, e resposta clínica não facilmente ou não imediatamente mensurável (SILVA, 2007).

A aplicação clínica da monitorização terapêutica tem sido indicada em situações nas quais a eficácia do medicamento é questionada, quando o paciente apresenta sintomas de toxicidade relacionados ao fármaco, quando há suspeita de não adesão do paciente ao regime de doses estabelecido, nas situações de interações medicamentosas, nas patologias associadas, capazes de alterar a distribuição do fármaco, nas situações de mudança na formulação ou ainda quando a condição do paciente é refratária ao regime terapêutico convencional (Kirchherr, 2006).

A amitriptilina é um exemplo de fármaco cuja monitorização terapêutica é fundamental pela ampla variabilidade interindividual nas concentrações plasmáticas obtidas. As determinações dos níveis plasmáticos devem ser realizadas entre 8 a 12 horas após a última dose e após o estado de equilíbrio ter sido alcançado, o que certifica uma interpretação exata e segura para o ajuste da dose. As concentrações plasmáticas terapêuticas recomendadas situam-se em intervalo de 50 a 300 ng/mL.

O início dos efeitos tóxicos pode ser esperado em concentrações plasmáticas acima de 500ng/mL e em níveis acima de 1µg/mL podem ser fatais (ZIEGLER, 2003).

3. JUSIFICATIVA

A terapêutica adequada e a prevenção das incapacidades constituem um desafio no controle da hanseníase no mundo. Neste contexto, a monitorização das concentrações plasmáticas de quimioterápicos usados no tratamento da doença e dos episódios reacionais representa uma importante ferramenta na avaliação da aderência do paciente a determinado esquema terapêutico, visando auxiliar na caracterização dos episódios de falha terapêutica, alcançando o “tratamento ótimo”, isto é, o efeito terapêutico em curto período de tempo, evitando os riscos de toxicidade. Desta forma, considerando que a biodisponibilidade oral da amitriptilina empregada no tratamento dos episódios reacionais é significativamente variável (33 a 62%) em humanos, sendo responsável por elevada flutuação interindividuais nas concentrações sistêmicas e nos efeitos terapêuticos e que o início dos efeitos tóxicos pode ter início em concentrações acima de 500ng/ml, faz-se necessário determinar a concentração plasmática da amitriptilina neste grupo de pacientes.

4. OBJETIVOS

4.1. GERAL

Determinar as concentrações plasmáticas de amitriptilina em pacientes com hanseníase apresentando estados reacionais, visando auxiliar no tratamento e manejo destas reações, de modo a possibilitar a aplicação de novas medidas terapêuticas.

4.2. ESPECÍFICOS

- Validar metodologia analítica para determinação de amitriptilina por cromatografia líquida de alta eficiência;
- Determinar as concentrações plasmáticas de amitriptilina em pacientes com hanseníase e estados reacionais para fins de monitorização terapêutica;
- Comparar as concentrações plasmáticas de amitriptilina com a presença de poliquimioterapia e o tipo de episódio reacional;

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi realizado no Núcleo de Medicina Tropical e no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará, localizados na cidade de Belém, utilizando amostras de pacientes com episódios reacionais em curso ou após a poliquimioterapia para hanseníase.

5.2. CASUÍSTICA

Foram selecionados 21 pacientes no período compreendido entre maio de 2007 a agosto de 2008, dentre aqueles atendidos no ambulatório do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, de ambos os sexos, com idades entre 16 e 68 anos, com diagnóstico positivo para a hanseníase e desencadeando reações hansênicas tipo I ou II, antes, durante ou após a poliquimioterapia. Todos os pacientes que aceitaram participar do estudo assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo I).

5.2.1. Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos no estudo pacientes de ambos os sexos, em tratamento poliquimioterápico para hanseníase ou curados e desencadeando reações hansênicas tipos I ou II.

Foram excluídos do estudo, aqueles que apresentaram doença crônica ou infecciosa concomitante, histórico de hipersensibilidade a amitriptilina ou a algum componente da formulação, gestantes, lactantes ou que se recusaram a assinar o termo de consentimento e/ou discordaram de qualquer etapa do estudo.

5.3. ESQUEMA TERAPÊUTICO

O esquema terapêutico foi o mesmo empregado no ambulatório do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade (NMT) Federal do Pará, e que consistiu da administração via oral de 25 ou 50mg de amitriptilina, sob a forma de cloridrato, uma vez ao dia.

5.4. AMOSTRAS

O universo amostral foi composto por 21 amostras de plasma coletadas dos 21 pacientes, após quinze dias de instituição da terapia com amitriptilina, cujo uso foi supervisionado pelos colaboradores do ambulatório do Núcleo de Medicina Tropical. O material biológico, em volume de 5 mL de sangue total, foi coletado em tubo de vidro tipo vacutainer® contendo EDTA (Acido Etileno Diamino Tetracético) como anticoagulante, centrifugado por 7 minutos a 4.000 rpm para separação o plasma, o qual foi armazenado em tubos tipo *Ependorf* a -5 °C até o processamento, no Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará – UFPA.

5.5. PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE AMITRIPTILINA

Para determinação das concentrações plasmáticas de amitriptilina, foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência, baseada em metodologia previamente descrita por QUEIROZ et al. (2005).

Para validação da metodologia analítica foram caracterizados: tempo de retenção, linearidade, limite de detecção e de quantificação, recuperação, curva de calibração, precisão, interferente e robustez a fim de garantir que o método analítico empregado gerasse resultados confiáveis, seguros e reprodutíveis, de acordo com os parâmetros propostos pelas agências regulamentadoras (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2003; Food and Drug Administration, 2001) para análise de fármacos em fluidos biológicos.

5.5.1. Soluções de referência e Reagentes

O padrão de amitriptilina foi adquirido da Sigma (Sigma-Aldrich, Inc. St Louis, Mo) e clomipramina (padrão interno) foi obtido da Medley (Medley S.A. Indústria Farmacêutica, São Paulo). Hidróxido de sódio 0,1M e o sulfato de zinco 1,0M foram adquiridos da Labsynth (Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda, São Paulo). O ácido orto-fosfórico 50% da Vetec (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro) e trietilamina da Merck (Merck, Hohenbrunn, Alemanha). Todos os reagentes foram preparados em água ultrapura. Acetonitrila e metanol foram obtidos da J.T.Baker (Mallinckrodt Baker Inc. Philipsburg, NJ) e o éter metil terc

butílico da Vetec (Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro). Os solventes utilizados foram de grau cromatográfico.

5.5.2. Preparação das soluções padrão e controle

5.5.2.1 Soluções estoque

As soluções estoques de amitriptilina e do padrão interno (clomipramina) em concentração de 1,0 mg/mL, respectivamente, foram preparadas pela dissolução dos respectivos sais em volume apropriado de metanol.

5.5.2.2 Soluções de trabalho

As soluções estoque de amitriptilina e clomipramina foram diluídas em metanol, a fim de obter soluções de trabalho em concentração de 5,0 µg/mL. Estas soluções foram preparadas imediatamente antes do uso.

Todas as soluções foram acondicionadas em frasco âmbar e armazenadas a -5 °C, mantendo-se estáveis por até seis meses.

5.5.3. Controles

Os controles utilizados no procedimento de validação da metodologia analítica foram preparados a partir de plasma, provenientes de voluntários saudáveis, que não estavam fazendo uso de amitriptilina, aos quais foram adicionadas diluições sucessivas da solução padrão de amitriptilina, a fim de obter concentrações de 50 ng/mL a 1000 ng/mL.

5.5.4. Aparelhos e equipamentos

A análise cromatográfica foi realizada utilizando cromatógrafo líquido de alta eficiência (Varian-USA), composto de módulo de bombeamento isocrático ProStart 300 e detector ultravioleta ProStart 220. A injeção foi manual empregando-se reodyne com alça de amostragem de 20 µL, modelo 772i (Rheodyne, USA). Para aquisição dos dados foi utilizado o sistema Star Chromatography Workstation versão 6.0 (Varian, USA). A coluna analítica empregada foi a X-Terra LC18 (Waters, Saint Quentin-en-Yvelines, France), com 15 cm de comprimento, 4,6 mm de diâmetro interno e partícula de 5µm, com temperatura de operação de 25°C. Também foram utilizados: Ultra-som, modelo Q-335D, (Quimis, Brasil); agitador de tubos vortex,

modelo Q-22OB1, (Quimis, Brasil); centrífuga, modelo 2K15, (Sigma Laborzentrifugen, Germany), medidor de pH, modelo PHS-EB, (Phtek, Brasil); balança analítica modelo FA - 2104N (Bioprecisa, Brasil) geladeira, 280L, cònsul[®] e sistema de purificação de água AQUAPUR, modelo AQ 0010 (Aquapur, Brasil).

5.5.5. Condições Cromatográficas

Na otimização dos parâmetros cromatográficos para determinação dos tempos de retenção da amitriptilina e da clomipramina, foram utilizadas soluções padrões destes fármacos, em concentração de 5 µg/mL. As condições ideais de separação foram obtidas com fase móvel constituída por acetonitrila em solução aquosa de trietilamina 0,01M, pH 3.0 ajustado com ácido fosfórico a 40%, previamente submetida à filtração e desgaseificação em ultra-som por 10 minutos antes do uso. O fluxo utilizado foi de 1,0 mL/min e o comprimento de onda de 254 nm (QUEIROZ et al., 2005).

5.5.6. Procedimento de extração de amitriptilina da matriz biológica

Foi utilizada uma alíquota de 200 µL da amostra de plasma, que foi transferida para microtubo de capacidade de 2 mL. Em seguida, foi adicionado 200 µL de hidróxido de sódio 0,5 M e 200 µL de sulfato de zinco 1 M. O tubo foi agitado em vórtex por 30 segundos, e submetido a centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos (QUEIROZ, 1995).

A fase orgânica foi transferida para outro microtubo, ao qual foi acrescentado 50 µL de hidróxido de sódio 0,5 M, 100 µL de clomipramina (padrão interno) em concentração de 5 µg/mL e 1 mL de éter metil terc butílico, levado ao homogenizador por 15 minutos e centrifugado por 20 minutos a 4000 rpm (QUEIROZ, 1995).

O sobrenadante foi transferido para outro microtubo, evaporado em banho-maria a 55°C, e o resíduo ressuspendido com 100 µL da fase móvel, agitado em vórtex por trinta segundos e injetado no cromatógrafo (Figura 12), seguindo-se as condições instrumentais descritas em 5.5.4 (QUEIROZ, 1995).

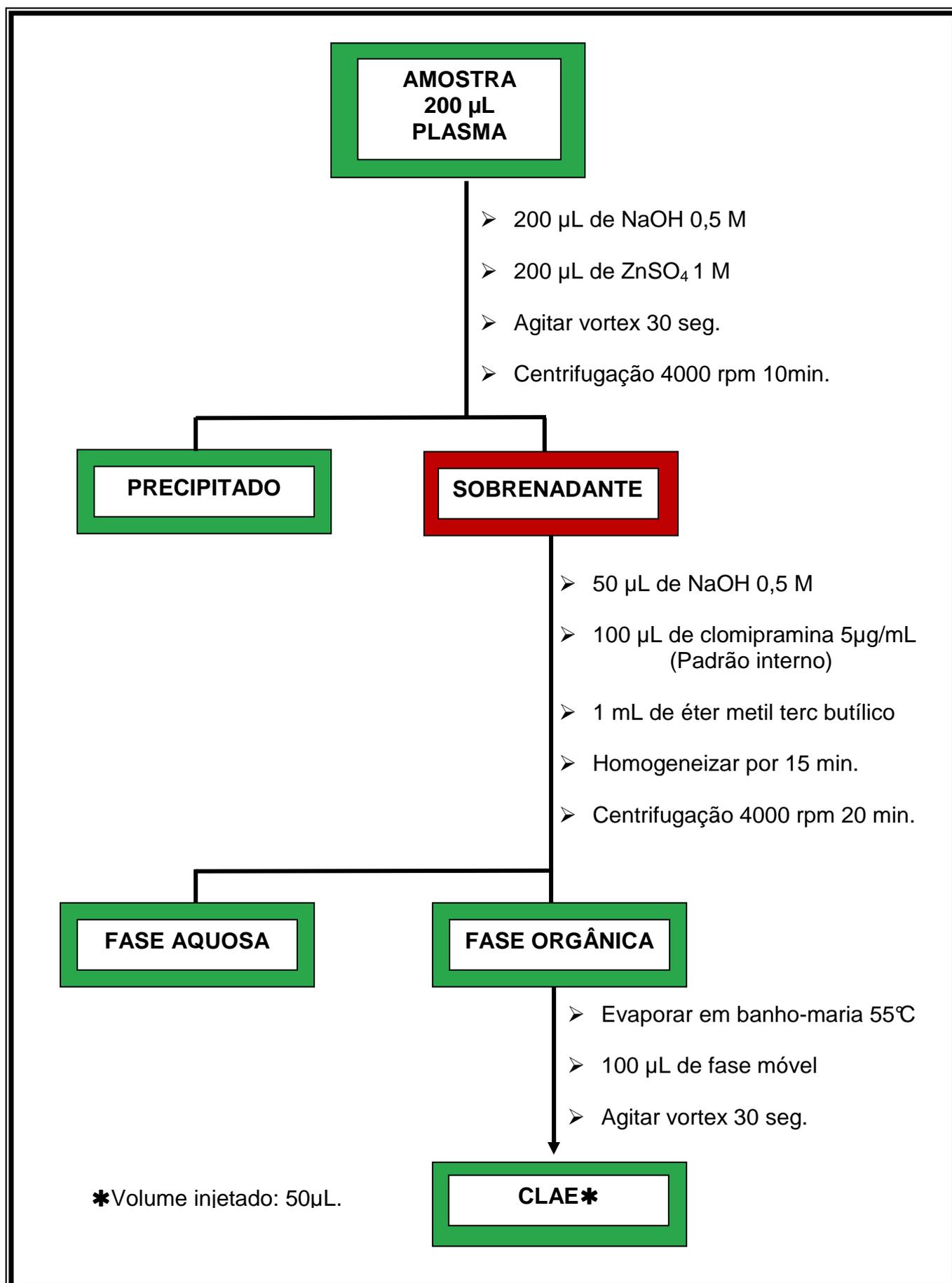


Figura 12: Fluxograma do procedimento analítico para determinação de amitriptilina

5.5.7. Determinação das concentrações de amitriptilina

As concentrações de amitriptilina foram determinadas a partir da relação entre as áreas dos picos do referido fármaco e do padrão interno, que foi plotada na curva de calibração, para obtenção das concentrações de interesse.

5.6. VALIDAÇÃO DO MÉTODO

5.6.1. Tempo de Retenção

Os tempos de retenção da amitriptilina e da clomipramina foram determinados através da injeção, em triplicata, no cromatógrafo de 50 μ L das soluções padrões de amitriptilina e clomipramina, em concentrações de 1,0 μ g/mL e de 5,0 μ g/mL, respectivamente, seguindo-se as condições cromatográficas previamente descritas no item 5.5.4.

5.6.2. Limite de Detecção e Quantificação

O limite de detecção foi determinado por meio de diluições sucessivas das soluções de trabalho de amitriptilina. Foram realizadas dez injeções de cada solução diluída no cromatógrafo. O limite de detecção foi considerado 3 vezes o desvio padrão da linha de base. Já o limite de quantificação da amitriptilina foi determinado com controles, os quais foram submetidos ao procedimento de extração descrito em 5.5.6. As relações de área da amitriptilina e do padrão interno nas diversas concentrações avaliadas foram empregadas para obtenção dos coeficientes de variação. O limite de quantificação foi considerado aquele que apresentou coeficiente de variação inferior a 15% (ANVISA, 2003; FDA, 2001).

5.6.3. Linearidade

A linearidade do método foi avaliada através de volumes apropriados das soluções de trabalho de amitriptilina. A faixa de concentração estudada foi de 50 ng/mL a 1000 ng/mL que juntamente com o padrão interno, foram transferidas para tubos tipo eppendorf e submetidas à evaporação. Os resíduos foram reconstituídos com 100 µL de fase móvel e injetados, em volume de 50 µL, no cromatógrafo. As relações das áreas da amitriptilina e do padrão interno (clomipramina) nas diversas concentrações foram plotadas no eixo da ordenada e as concentrações na abscissa. Foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (r) e a regressão linear foi feita para obtenção da equação da reta (ANVISA, 2003; FDA, 2001).

5.6.4. Curva de calibração

Foi construída a partir dos controles diluídos, contendo amitriptilina, em concentrações variando de 50 ng/mL a 1000 ng/mL. Os ensaios foram realizados em quintuplicatas e as relações de área da amitriptilina e do padrão interno foram projetados no eixo da ordenada e as concentrações na abscissa. A regressão linear foi feita para obtenção equação da reta. Foi calculado o coeficiente correlação de Pearson (r) e a regressão linear foi feita para obtenção da equação da reta (ANVISA, 2003; FDA, 2001).

5.6.5. Recuperação

A recuperação absoluta da amitriptilina foi avaliada utilizando as amostras controles em concentrações de 1000, 500 e 50 ng/mL. A área de amitriptilina presente nas amostras controle obtida após extração descrita em 4.4.5 foi comparada com aquela resultante da injeção direta no cromatógrafo da solução padrão de amitriptilina na respectiva concentração. Os resultados foram expressos em porcentagem de área da amostra extraída em relação aquela da solução injetada diretamente no cromatógrafo. Os ensaios foram realizados em triplicata por cinco dias consecutivos (ANVISA, 2003; FDA, 2001).

5.6.6. Precisão intraensaio e interensaio

Para obtenção dos coeficientes de variação intraensaio e interensaio foram utilizados controles contendo amitriptilina em concentrações de 1000, 500 e 50 ng/mL. No cálculo da precisão intraensaio foram obtidos os valores do coeficiente de variação em cada dia da análise. Já no estudo de precisão interensaio foram obtidos o coeficiente de variação das concentrações durante os cinco dias de estudo (ANVISA, 2003; FDA, 2001).

5.6.7. Interferentes

Para identificar a possível interferência de quimioterápicos administrados em associação com amitriptilina para tratamento da hanseníase, as soluções padrões, em concentrações terapêuticas, de dapsona, rifampicina, clofazimina, prednisona e talidomida foram submetidas a técnica cromatográfica nas condições previamente padronizadas, aguardando um tempo de desenvolvimento cromatográfico de quinze minutos (ANVISA, 2003; FDA, 2001).

5.6.8. Robustez

A robustez da técnica foi analisada para se determinar possíveis alterações que podem ocorrer quando o método é transferido para outros laboratórios ou realizado por analistas e equipamentos diferentes. Foram avaliados: alterações na concentração do solvente orgânico e pH da fase móvel (ANVISA, 2003; FDA, 2001).

5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliação dos diversos parâmetros de estudo das concentrações foram utilizados testes estatísticos paramétricos e não paramétricos. Os dados foram analisados no programa Bioestat 4.0 (AYRES et al., 2005). O nível de significância aceito foi de 5%.

5.8. ASPECTOS ÉTICOS

O trabalho foi desenvolvido com amostras biológicas coletadas no âmbito do projeto “Estudo da eficácia de fármacos imunossupresores no manejo e tratamento de reações hansênicas graves”, aprovado pelo Conselho de Ética em Pesquisa do Núcleo de Medicina Tropical sob o protocolo nº 169/05 CEP-NMT/UFPA (Anexo 1). O estudo foi realizado em conformidade com os preceitos da Declaração de Helsinque, do Código de Nuremberg e das Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Res. CNS 196/96) do Conselho Nacional de Saúde. Cada paciente, candidato ao presente estudo, assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo 2) aceitando participar da pesquisa e teve sua identidade mantida em sigilo.

6. RESULTADOS

6.1. Validação do Método

6.1.1. Tempos de retenção da amitriptilina e clomipramina

Os tempos de retenção das soluções padrão da amitriptilina e clomipramina, obtidos conforme descrito no item 5.6.1 estão apresentados na Tabela 3. A Figura 13 fornece o cromatograma resultante da injeção destas soluções padrão nas concentrações de 1 µg/mL e 5 µg/mL, respectivamente com os tempos de retenção em minutos.

TABELA 3: Tempo de retenção da solução padrão de amitriptilina (1,0 µg/mL) e de Clomipramina (5,0 µg/mL), segundo condições previamente padronizadas.

| Fármaco | N | Retenção (min) |
|---------------|---|----------------|
| Amitriptilina | 3 | 5,8 |
| Clomipramina | 3 | 9,3 |

n= número de determinações

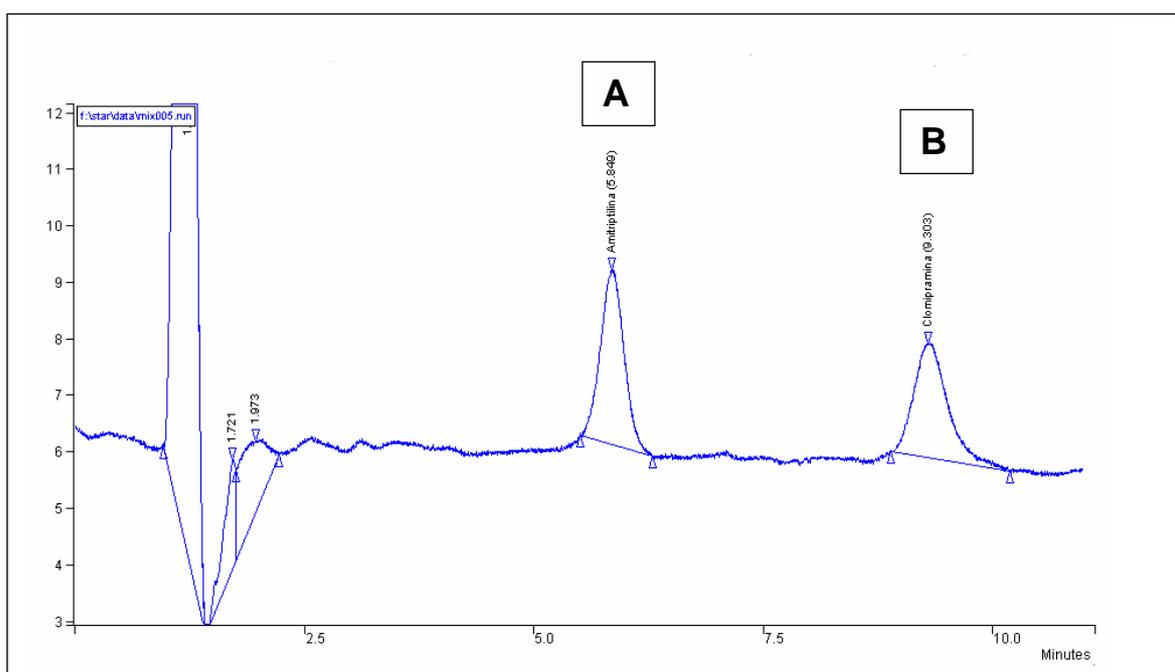


Figura 13 : Cromatograma das soluções padrões de amitriptilina (1,0 µg/mL) (A) e clomipramina (5,0 µg/mL) (B), segundo condições cromatográficas previamente padronizadas.

6.1.2 Limites de detecção e de quantificação

Os limites de detecção e de quantificação do método, determinados conforme o item 5.6.2, estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4: Limites de detecção e de quantificação da amitriptilina

| | |
|-------------------------|----------|
| Limite de detecção | 26 ng/mL |
| Limite de quantificação | 50ng/mL |

6.1.3. Linearidade

A linearidade da resposta do detector frente às diversas concentrações de amitriptilina, realizada conforme 5.6.3 está apresentada na tabela 5. As representações gráficas das referidas curvas estão representadas na Figura 14.

A equação da reta foi $Y = - 0,0325 + 0.0013 X$ e coeficiente de correlação de 0,9955.

TABELA 5: Linearidade da amitriptilina

| Amitriptilina ng/mL | n | Relação de áreas Amostra/Padrão interno |
|---------------------|---|---|
| 1000 | 5 | 1,27 |
| 700 | 5 | 0,89 |
| 500 | 5 | 0,57 |
| 250 | 5 | 0,26 |
| 100 | 5 | 0,12 |
| 50 | 5 | 0,05 |

n= número de determinações

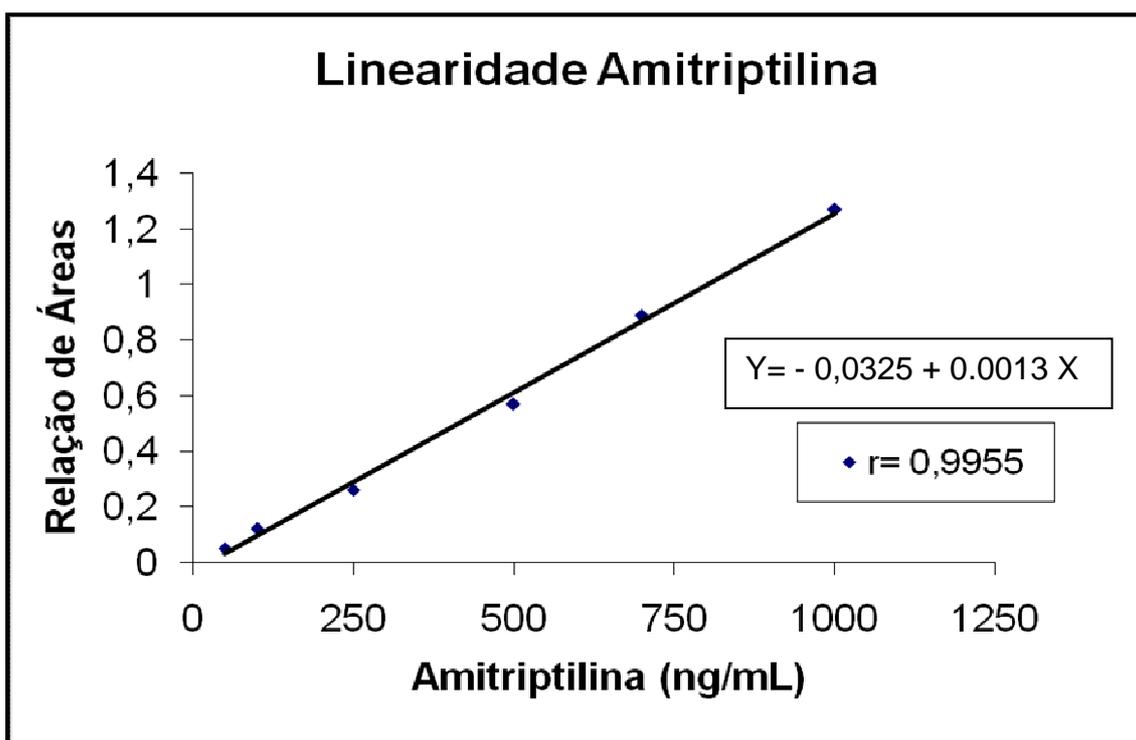


Figura 14: Representação gráfica da linearidade da amitriptilina

6.1.4. Curva de calibração

A curva de calibração da amitriptilina, realizada conforme 5.6.4 está apresentada na tabela 6. A equação da reta foi $Y = -205,9 + 0,02453 X$ e o coeficiente de correlação igual a 0,98. A representação gráfica da referida curva está na Figura 15.

TABELA 6: Curva de calibração da amitriptilina.

| Amitriptilina ng/mL | n | Relação de áreas Amostra/Padrão interno |
|---------------------|---|---|
| 1000 | 5 | 0,15 |
| 700 | 5 | 0,10 |
| 500 | 5 | 0,077 |
| 250 | 5 | 0,064 |
| 100 | 5 | 0,045 |
| 50 | 5 | 0,021 |

n= número de determinações

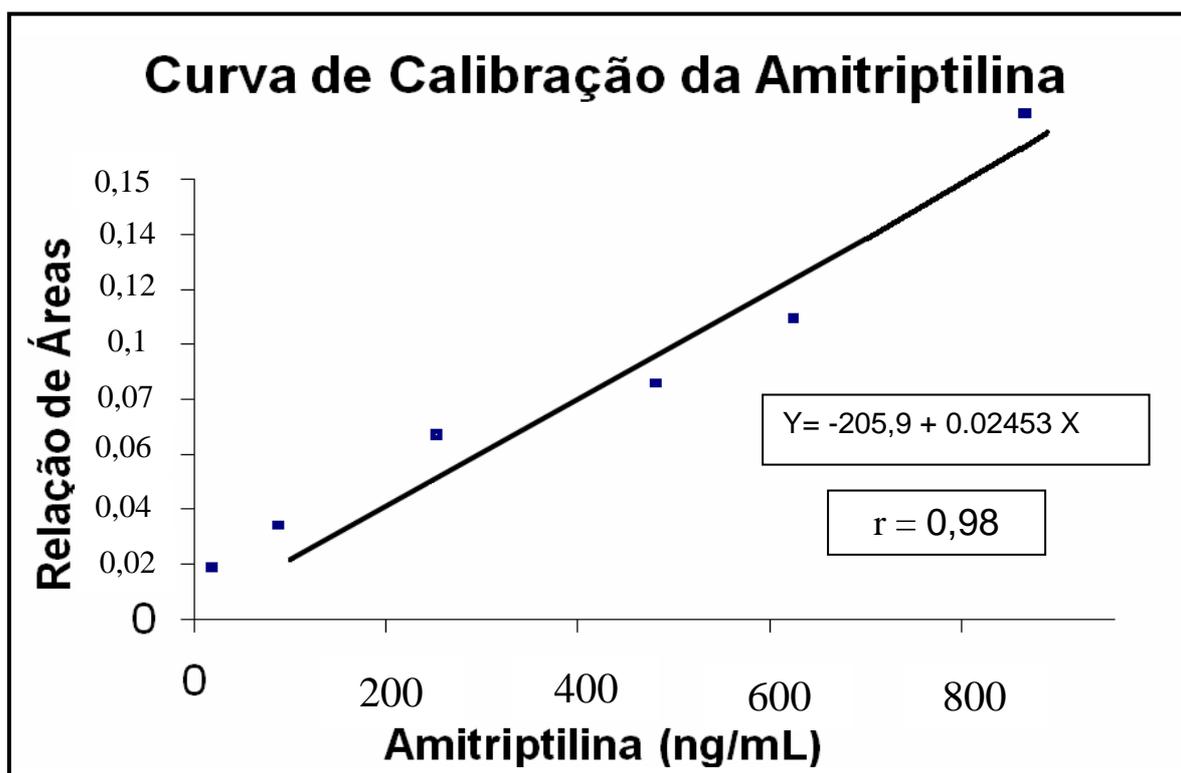


Figura 15: Representação gráfica da curva de calibração da amitriptilina

6.1. 5. Recuperação da amitriptilina

A recuperação da amitriptilina, em porcentagem, nas diversas concentrações estudadas, conforme descrito em 5.6.5, esta apresentada na Tabela 7.

TABELA 7: Recuperação da amitriptilina

| Amitriptilina | n | Recuperação (%) |
|---------------|----|-----------------|
| 1000 | 15 | 88,23 |
| 500 | 15 | 86,05 |
| 50 | 15 | 105,17 |

n= número de determinações

6.1.6. Estudo da Precisão

Os resultados dos estudos de precisão intraensaio e interensaio, expressos como coeficiente de variação e realizados conforme descritos em 5.6.6 estão descritos na Tabela 8.

TABELA 8: Precisão intraensaio e interensaio da amitriptilina, expressa como coeficiente de variação

| Amitriptilina ng/mL | n | Coeficiente de Variação INTRAENSAIO (%) | n | Coeficiente de Variação INTERENSAIO (%) |
|------------------------|---|--|----|--|
| 1000 | 5 | 10,26 | 25 | 11,53 |
| 500 | 5 | 5,47 | 25 | 8,97 |
| 50 | 5 | 8,4 | 25 | 12,85 |

n= número de determinações

6.1.7. Interferentes

Os possíveis fármacos que poderiam ser administrados juntamente com a amitriptilina e seus respectivos tempos de retenção, de acordo com as condições cromatográficas padronizadas para determinação de amitriptilina encontram-se descritos na tabela 9.

TABELA 9: Tempo de retenção dos fármacos de interesse, de acordo com as condições cromatográficas padronizadas para determinação de amitriptilina.

| Fármaco | Tempo de retenção (minutos) |
|---------------|--------------------------------|
| Amitriptilina | 5,8 |
| Dapsona | NE |
| Rifampicina | NE |
| Clofazimina | 12 |
| Prednisona | NE |
| Talidomida | 3,5 |

N.E: Não eluiu nas condições cromatográficas padronizadas

6.1.8. Robustez

Para avaliação da robustez do procedimento foram variados o pH da fase móvel em 3,0, 5,5 e 10,0 e a concentração do solvente orgânico, acetoneitrila, nas proporções de 40:60 (v/v), 60:40 (v/v), 70:30 (v/v) respectivamente. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 10.

TABELA 10: Avaliação da robustez do método por CLAE – alterações no valor de pH e na proporção dos solventes, de acordo com as condições cromatográficas previamente padronizadas.

| Variação | Tempo de Retenção (min) | | |
|--|-------------------------|---------------|--------------|
| | n | Amitriptilina | Clomipramina |
| Água : Acetonitrila (40:60, v/v) 0,01% trietilamina pH= 3,0 (H3PO4 50%) | 5 | 4,4 | 4,9 |
| Água : Acetonitrila (60:40, v/v) 0,01% trietilamina pH= 5,5 (H3PO4 50%) | 5 | 6,2 | 9,2 |
| Água : Acetonitrila (40:60, v/v) 0,01% trietilamina pH= 10,0 (H3PO4 50%) | 5 | NE | NE |
| Água : Acetonitrila (70:30, v/v) 0,01% trietilamina pH= 3,0 (H3PO4 50%) | 5 | 5,8 | 9,3 |

n= número de determinações.

N.E: Não eluiu nas condições cromatográficas padronizadas

6.2 CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES PARTICIPANTES DO ESTUDO

6.2.1 Sexo e Idade

TABELA 11: Sexo, idade média e intervalo de idade dos participantes do estudo

| Sexo | Pacientes | % | Idade média | Intervalo de idade |
|-----------|-----------|----|-------------|--------------------|
| | n | | (anos) | (anos) |
| Masculino | 12 | 57 | 35± 12 | 13 a 59 |
| Feminino | 9 | 43 | 38± 15 | 16 a 68 |

- Quanto ao sexo: $X^2= 1,69$ e $p_{yates}= 0.1936$;
- Quanto à idade média dos pacientes dos sexos masculino e feminino

$t= -0.5015$, $p= 0.6208$.

6.2.2. Tipo de reação e período da ocorrência

TABELA 12: Tipo de reação e período da ocorrência

| Tipo de reação | Pacientes | % |
|----------------|-----------|----|
| | n | |
| I | 10 | 47 |
| II | 11 | 53 |

- Em relação ao episódio reacional tipo I e II nos pacientes deste estudo $X^2=0,36$ e $p_{yates}= 0.6181$.

TABELA 13: Uso de PQT e período da ocorrência

| PQT | Pacientes | % |
|------------|------------------|----------|
| | n | |
| Sim | 8 | 38 |
| Não | 13 | 62 |

- Quanto ao episódio reacional e período da ocorrência $X^2=5,76$ e $p_{yates}=0.0214$.

6.2.3 Doses de amitriptilina

TABELA 14: Porcentagem de pacientes que fizeram uso de dose de 25 e 50mg/dia

| Dose diária | Pacientes | % |
|--------------------|------------------|----------|
| mg | n | |
| 25 | 9 | 38 |
| 50 | 13 | 62 |

- Em relação à dose de amitriptilina utilizada pelos participantes do estudo $X^2=5,29$ e $p_{yates}=0.0214$.

6.3. RESULTADOS DA DETERMINAÇÃO DE AMITRIPTILINA NAS AMOSTRAS ANALISADAS.

TABELA 15: Concentrações plasmáticas de amitriptilina em ng/mL em pacientes com hanseníase que estavam fazendo uso de 25 mg/dia.

| Pacientes | n | Concentração de amitriptilina ng/mL |
|-----------|---|-------------------------------------|
| 182/07 | 3 | 114 |
| 216/07 | 3 | 267 |
| 243/08 | 3 | 292,5 |
| 016/99 | 3 | 361 |
| 151/05 | 3 | 200 |
| 117/07 | 3 | 175 |
| 300/07 | 3 | 280 |
| 086/02 | 3 | 588 |
| 139/02 | 3 | 590 |
| \bar{X} | | 318±169 |

n = número de determinações realizadas; \bar{X} =média das determinações.

TABELA 16: Concentrações plasmáticas de amitriptilina em ng/mL em pacientes com hanseníase que estavam fazendo uso de 50 mg/dia.

| Pacientes | n | Concentração de amitriptilina ng/mL |
|------------------|----------|--|
| 212/07 | 3 | 133 |
| 219/07 | 3 | 575 |
| 247/08 | 3 | 203 |
| 238/08 | 3 | 156 |
| 218/08 | 3 | 408 |
| 244/08 | 3 | 292 |
| 171/06 | 3 | 459 |
| 134/04 | 3 | 280 |
| 054/01 | 3 | 764 |
| 067/01 | 3 | 333 |
| 220/08 | 3 | 453 |
| 237/08 | 3 | 277 |
| \bar{X} | | 361,08 ± 182 |

n = número de determinações realizadas; X=média das determinações.

TABELA 17: Comparação entre as concentrações médias de amitriptilina de pacientes, 15 dias após a instituição da terapia nas doses de 25 e 50 mg/dia .

| Dose | n | Concentração de amitriptilina ng/mL | Intervalo de concentração | CV (%) |
|-------|----|--|---------------------------|--------|
| 25 mg | 9 | 318 ± 169 | 114 - 588 | 53,16 |
| 50 mg | 12 | 361,08 ± 182 | 133 - 764 | 50,5 |

n = número de determinações realizadas.

TABELA 18: Comparação entre as concentrações médias de amitriptilina de pacientes com PQT e sem PQT, nas doses de 25 e 50 mg .

| Dose diária (mg) | n | Concentração de amitriptilina | Intervalo de concentração | n | Concentração de amitriptilina | Intervalo de concentração | p |
|------------------|---|-------------------------------|---------------------------|---|-------------------------------|---------------------------|--------|
| | | ng/mL Presença de PQT | ng/mL | | ng/mL Ausência de PQT | ng/mL | |
| 25 | 1 | 267 | - | 8 | 317±187 | 114-590 | - |
| 50 | 7 | 358 | 133-575 | 5 | 364±243 | 156-764 | 0,4791 |

p= probabilidade com nível de significância de 5%

TABELA 19: Comparação entre as concentrações médias de amitriptilina de pacientes com reação tipo I e II, nas doses de 25 e 50 mg .

| Dose diária | N | Concentração de amitriptilina | Intervalo de concentração | n | Concentração de amitriptilina | Intervalo de concentração | p |
|-------------|---|-------------------------------|---------------------------|---|-------------------------------|---------------------------|--------|
| | | ng/mL | ng/mL | | ng/mL | ng/mL | |
| | | Reação I | | | | Reação II | |
| 25 | 3 | 220 ± 92 | 114-280 | 6 | 367 ± 184 | 171-590 | 0,1258 |
| 50 | 7 | 389 ± 214 | 133-764 | 5 | 320 ± 139 | 156-459 | 0,5441 |

p= probabilidade com nível de significância de 5%

7. DISCUSSÃO

A hanseníase constitui importante problema de saúde pública no Brasil e em vários países do mundo. Apesar de todo o empenho em sua eliminação, o Brasil continua sendo o segundo país em número de casos no mundo. Aproximadamente, 94% dos casos novos diagnosticados nas Américas são notificados pelo Brasil, apesar de últimas décadas, a taxa de prevalência têm declinado, resultado da consolidação do tratamento poliquimioterápico (ARAÚJO, 2003).

Entretanto, o comprometimento da função neural continua a ser um problema que requer atenção cuidadosa, tanto com o objetivo de minimizar a sua progressão, como para reduzir suas sequelas, quer sejam as deficiências sensitivas ou sensitivo-motoras e as incapacidades e deformidades que podem resultar deste comprometimento neural (GARBINO, 2003).

A dor neuropática pode estar presente na hanseníase devido ao comprometimento neural frequentemente observado. No entanto, não responde adequadamente à terapêutica e as doses dos analgésicos tradicionais. Neste sentido, a amitriptilina constitui uma alternativa terapêutica e tem sido amplamente utilizada para controlar a dor nos pacientes em condições dolorosas (LUND et al, 2007).

Entretanto, este medicamento, possui uma estreita faixa terapêutica e requer o acompanhamento da determinação de suas concentrações plasmáticas. Desta forma, a monitorização da amitriptilina em fluidos biológicos constitui um fator fundamental para uma supervisão da relação dose – resposta, pois esta droga possui ampla variabilidade interindividual na biotransformação. A baixa correlação dose-resposta e o estreito índice terapêutico dos antidepressivos tricíclicos, fazem destas drogas excelentes para monitorização objetivando melhorar a eficácia terapêutica. Uma vez que efeitos adversos são observados em concentrações plasmáticas superiores a 500 ng/mL, o que é facilmente alcançado nas doses terapêuticas usuais. (BOSE et al, 2005).

A determinação das concentrações de amitriptilina nos fluidos biológicos foi relatada desde 1960, empregando técnicas como a espectrofluorimetria, diluição isotópica e radioimunoensaio (SCOGGINS et al, 1980). Porém, para fins de

monitorização terapêutica, o grau de especificidade, necessário para uma quantificação segura deste composto em plasma, conduziu à escolha das técnicas cromatográficas como as mais adequadas, e o emprego da Cromatografia Líquida de alta Eficiência (CLAE) para quantificação de amitriptilina foi relatada primeiramente em 1975. No presente estudo, a CLAE foi utilizada como ferramenta para a análise de amitriptilina e suas principais vantagens são a versatilidade e a simplicidade para preparação da amostra (JATLOW, 1980).

A implementação de um sistema de controle de qualidade em laboratórios é necessária para garantir que um método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, desta forma, foi realizada a validação do procedimento analítico para determinação de amitriptilina em amostras de plasma (RIBANI et al, 2004). Conforme descrito no *Guia de Validação de Métodos Bioanalíticos* (FDA, 2001) para determinação quantitativa de drogas e/ou metabólitos em diferentes matrizes biológicas (por exemplo, sangue total, soro, plasma, urina e tecido), os parâmetros fundamentais para validação incluem: exatidão, precisão, seletividade, sensibilidade, linearidade e robustez.

Várias condições cromatográficas foram testadas para obter satisfatória resolução cromatográfica em um menor intervalo de tempo de análise. A fase móvel acetonitrila:solução aquosa de trietilamina 0,1% (30:70 v/v), pH 3,0, fluxo de 1mL/min e detecção a 254 nm apresentou melhor resultado. Nestas condições, a amitriptilina e o padrão interno (clomipramina) demonstraram excelente resolução, eluindo em 5,8 e 9,3 minutos respectivamente.

Condições cromatográficas diferentes, com fase constituída de acetonitrila: tampão de acetato de sódio 0,25 N (50:50 v/v), pH 5,5 com fluxo de 1,0 mL/min e com comprimento de onda de 254 nm foram descritas por QUEIROZ et al. (1995). Já MALFARÁ et al. (2007), descreveram outras condições com fase constituída de um mistura de 35% acetonitrila: metanol (92:08 v/v) e 65% de tampão de acetato de sódio 0,25 molL⁻¹, pH 4,5 com fluxo de 1,0 mL/min e com comprimento de onda de 230 nm.

Os valores dos limites de detecção e quantificação foram 26 ng/mL e 50 ng/mL, respectivamente, indicam que a detecção na região do ultravioleta, com comprimento de onda de 254 nm é perfeitamente aplicável na monitorização terapêutica da amitriptilina. (QUEIROZ et al, 1995)

O parâmetro linearidade denota a capacidade do método em fornecer resultados quantitativos diretamente proporcionais à quantidade de analito presente na amostra. O coeficiente de regressão linear (r) foi 0,999. Tais valores estão de acordo com o proposto para a validação de metodologias analíticas, segundo a ANVISA, que estabelece valor mínimo de 0,99. (ANVISA, 2003)

A determinação das concentrações de amitriptilina nas amostras foi estimada com base na equação da reta ($Y = -205,9 + 0.02453 X$) que foi obtida através do método dos mínimos quadrado, apresentada na figura 15 e na tabela 6 apresentou coeficiente de correlação $r=0,98$, atendendo os requisitos dos procedimentos de validação de métodos analíticos.(FDA, 2001)

A recuperação de um método representa a eficiência do processo de extração. No método analisado a recuperação da amitriptilina nas diversas concentrações estudada foram 88,23; 86,05 e 105,6 %. Os intervalos aceitáveis de recuperação variam de 85 a 115% conforme descrito no *Guia de Validação de Métodos Bioanalíticos* (FDA, 2001).

A Tabela 8 apresenta os valores dos coeficientes de variação dos estudos de precisão intra ensaio e inter ensaio demonstrando que o método possui boa precisão quando analisado no mesmo dia e em dias diferentes. Estes resultados são satisfatórios, segundo as normas da ANVISA, as quais preconizam coeficientes de variação inferiores a 15% (ANVISA, 2003).

A seletividade do método pode ser demonstrada pela Tabela 9, pois outros fármacos não eluíram no mesmo tempo de retenção da amitriptilina, no qual não foi observado nenhuma interferência significativa nos tempos de retenção do analito, o que demonstra a capacidade do método para quantificar, sem equívoco, o fármaco na presença de interferentes. (ANVISA, 2003)

O método mostrou-se sensível a variação da composição de solventes da fase móvel com significativa diminuição ou aumento do tempo de retenção do analito de interesse (Tabela 10).

A validação do método foi adequada e aplicável ao objetivo proposto, logo foi possível determinar as concentrações plasmáticas da amitriptina nos pacientes participantes do estudo, com confiabilidade analítica.

Dentre os pacientes participantes do estudo, 12 (57%) foram do sexo masculino e 9 (43%) feminino. Não foi observada diferença estatística significativa

quanto ao sexo dos indivíduos participantes do estudo ($X^2= 1,69$ e $p_{yates}= 0.1936$), corroborando com OMS (2005), cujo relatório demonstra que os determinantes da hanseníse referem-se as condições de pobreza dos conglomerados, atingindo indistintamente indivíduos de ambos os sexos (Tabela 11)

A idade média dos pacientes do sexo masculino foi 35 ± 12 anos, com intervalo de 13 a 59 anos. Já nos participantes do sexo feminino a idade média foi 38 ± 15 anos, com intervalo de 16 a 68 anos. Não foi observada diferença estatística significativa entre a idade média dos pacientes dos sexos masculino e feminino ($t= -0.5015$, $p= 0.6208$), caracterizando assim, a homogeneidade da população selecionada para estudo (Tabela 11).

Conforme apresentado na Tabela 12, dez pacientes (47%) participantes do estudo apresentaram episódio reacional tipo I e 11 (53%) do tipo II. Não foi observada diferença estatística significativa no tipo de episódio reacional. ($X^2=0,36$ e $p_{yates}= 0.6181$). Em relação ao período de ocorrência do episódio reacional 8 pacientes (38%) estavam fazendo uso da poliquimioterapia e 13 pacientes (62%) após o término do tratamento (Tabela13).

Em relação à dose de amitriptilina utilizada pelos participantes do estudo 13 (62%) estavam utilizando 50mg e 9 (38%) 25mg. Ressalte-se que foi observada diferença estatística significativa ($X^2=5,29$ e $p_{yates}= 0.0214$). Neste sentido, a opção entre o emprego das doses de 25mg ou 50mg ao dia, baseou-se fundamentalmente em critérios empíricos, uma vez que este estudo fez parte de um projeto no qual uma das linhas de ação baseava-se na avaliação da resposta clínica frente às referidas doses (Tabela 14).

Os resultados da determinação de amitriptilina nas amostras de plasma dos pacientes, que fizeram uso de 25 mg/dia, variaram de 114 ng/mL a 590 ng/mL, com valor médio 318 ± 169 ng/mL, e coeficiente de variação igual a 53,16 % (Tabela 15). Dados semelhantes foram obtidos por SCHULTZ et al (1985), os quais demonstraram elevada variabilidade (64%) das concentrações plasmáticas da amitriptilina. Ressalte-se tanto neste estudo, quanto no de SCHULTZ et al (1985), o intervalo de tempo entre o início da administração do fármaco e a coleta do

material biológico foi superior a 3 meias-vidas biológicas, isto é, no estado de equilíbrio.

Tal achado justifica-se com o estudo de ABAUT et al, (2006) os quais demonstraram que a diferença interindividual pode ser decorrente do aumento da produção da glicoproteína-P (P-gp) e pela redução da absorção e conseqüentemente dos níveis plasmáticos. Adicionalmente, UHR et al, (2005) demonstraram que ratos *knockout* para P-gp, quando receberam uma dose oral de amitriptilina obtiveram concentrações plasmáticas maiores que os ratos controle, confirmando a influência da P-gp na cinética deste fármaco.

Entretanto, apesar da elevada variabilidade das concentrações, o regime posológico foi eficaz, pois o valor médio das concentrações plasmáticas de amitriptilina dos pacientes deste estudo, foi cerca de 5 vezes superior ao menor valor terapêutico recomendado (50 ng/mL), uma vez que aceita-se como janela terapêutica, concentrações plasmáticas de 50 a 300 ng/mL (MIHAJLOVIC, 2003). Ressalta-se que não foram observados pacientes com concentrações plasmáticas subterapêuticas.

É importante destacar que os pacientes 086/02 e 139/02 apresentaram valor plasmático de 588 ng/mL e 590 respectivamente (Tabela 15), os quais, de acordo com BAASTRUP et al, (2008), associados a efeitos nocivos, não relataram sinais e sintomas de intoxicação, os quais poderiam comprometer adesão ao tratamento. Este achado, está de acordo com FUNCH, et al. (2002), os quais descreveram que durante o uso de antidepressivos tricíclicos, alguns pacientes, mesmo fazendo uso de doses terapêuticas podem apresentar valores plasmáticos acima dos níveis recomendados, próximos daqueles considerados tóxicos, no entanto, nem sempre o paciente apresenta sinais de intoxicação.

Corroborando com esta observação, DE LA TORRE (1995) descreveu que a correlação entre concentração plasmática de amitriptilina e o efeito terapêutico ou tóxico é pouco compreendida e bastante discutida. Adicionalmente, HOLLISTER, (1982) analisando as concentrações plasmáticas de quatro drogas antidepressivas em 180 pacientes, entre as quais a amitriptilina, observou que a maioria dos pacientes alcançou as concentrações plasmáticas terapêuticas nas doses de 150 mg/dia. Porém, estas concentrações não obtiveram uma boa correlação com a resposta clínica.

Os mesmos resultados foram encontrados por CORONA et al. (1977), em estudo com 59 pacientes psiquiátricos que utilizavam amitriptilina 100 mg/dia, os quais demonstraram que efeitos adversos foram menores nas concentrações de 100-200 ng/mL e nenhuma diferença significativa foi achada na incidência destes em relação a idade dos participantes.

As concentrações plasmáticas de amitriptilina nos pacientes que estavam fazendo uso de 50mg/dia, variou de 133 ng/mL a 764 ng/mL, com valor médio de $361,08 \pm 182$ e coeficiente de variação de 50,5%. Ressalta-se a mesma variabilidade de concentrações plasmáticas dos pacientes que fizeram uso de 25 mg/dia, permitindo inferir que o aumento da dose não influenciou na variação dos teores plasmáticos do fármaco, bem como reforça a necessidade da monitorização terapêutica da amitriptilina (Tabela 16).

A posologia de 50 mg/dia também demonstrou ser suficiente em gerar valores plasmáticos no intervalo de concentrações terapêuticas efetivas (MIHAJLOVIC et al, 2003) sendo que a media foi 5 vezes superior ao valor mínimo recomendado, bem como não foram observados pacientes com doses subterapêuticas.

Interessante destacar que a elevação da posologia em 100% (de 25 para 50 mg/dia) não resultou no aumento proporcional dos níveis plasmáticos do fármaco, que foi de apenas 12% (de $318 \pm 169 \pm 144$ para 361 ± 182 ng/mL), conforme apresentado na Tabela 17, bem como não foi observada diferença estatística significativa entre estes grupos ($t= 0.5438$, $p=0.2964$). Entretanto observando individualmente os pacientes que tomaram 50 mg/dia, aproximadamente metade apresentaram valores acima da janela terapêutica (50 a 300 ng/mL) (MIHAJLOVIC et al, 2003) enquanto que os pacientes de 25 mg/dia, apenas 22.2% (2 pacientes) apresentaram esta condição.

Tais dados corroboram com os estudos de UHR et al. (2005) que descrevem que a farmacocinética da amitriptilina é complexa e multifatorial, dependendo não somente da apresentação farmacêutica, mas também dos aspectos individuais, ocasionando respostas não lineares, o que vem dificultar o seu entendimento. Estes achados confirmam dados anteriormente publicados, nos quais a variação interindividual nos níveis plasmáticos de antidepressivos em resposta a determinada dose é de 10 a 30 vezes, sendo devida em grande parte ao controle genético das enzimas oxidativas microsômicas hepáticas (BOSE, 2005).

Diferenças interindividuais na oxidação de fármacos vêm sendo referenciadas como fonte de maior importância na variabilidade farmacocinética, pois esta é catalisada, principalmente, por enzimas do citocromo P450 (CYP450), que é determinada por fatores genéticos e ambientais. (BROSEN, 1996). O envolvimento de isoformas específicas do CYP na biotransformação da amitriptilina, associado ao provável envolvimento da glicoproteína-P (GLY-P), pode explicar os fatos observados.

Fármacos com longa meia-vida terminal, como a amitriptilina, têm elevado potencial de interação com outros medicamentos. Castberg et al (2005), descreveram um relato de caso de uma paciente com capacidade metabólica normal (CYP2D6) que foi tratada com amitriptilina, valproato e olanzapina, e quando a terbinafina foi introduzida, foi observado significativo aumento nas concentrações plasmáticas de amitriptilina e nortriptilina. A seguir, a terbinafina foi descontinuada, e a dose de amitriptilina reduzida. Surpreendentemente, as concentrações de amitriptilina e nortriptilina não voltaram aos valores normais até aproximadamente 6 meses. Estudos mostraram que a terbinafina é um inibidor competitivo da CYP2D6, uma isoforma importante na biotransformação de amitriptilina para nortriptilina, a qual também é metabolizada a 10-hydroxynortriptilina, principalmente pela CYP2D6.

Alguns pacientes deste estudo estavam fazendo uso da PQT, contendo rifampicina, a qual é um potente indutor de algumas isoformas do citocromo P450 hepático e intestinal e da Gly-P do sistema de transporte, o que resulta em numerosas possibilidades de interações medicamentosas clinicamente significativas (FINCH, 2002), uma vez que a interação entre fármacos representa um papel importante na terapia farmacológica, sejam estas de origem dinâmica ou cinética, representando importante fonte de variável clínica (KREMERS, 2002). Os dados apresentados na Tabela 18 indicam a ausência de significância estatística na comparação entre os teores médios das concentrações plasmáticas de amitriptilina, na presença e ausência de PQT, o que é creditado ao fato da isoforma CYP-2D6, não ser considerada substrato para rifampicina, bem como não são conhecidos até o presente substratos específicos para esta isoforma (FINCH, 2002).

Na Tabela 19 estão apresentados os teores médios das concentrações plasmáticas de amitriptilina considerando o tipo de estado reacional, percebe-se que as concentrações plasmáticas médias de amitriptilina nos pacientes usando 50mg/dia foi inferior aqueles de 25mg/dia, reforçando a variabilidade da cinética deste fármaco. Sabe-se que a relação dose-efeito ou a relação concentração plasmática-efeito são elementos básicos na farmacologia experimental. Contudo, na clínica a demonstração destas relações é difícil, uma vez que alguns fármacos apresentam considerável variação interindividual que pode resultar na redução da aderência do paciente ao esquema terapêutico proposto, sendo imprescindível ajustar a dose para se atingir o efeito terapêutico desejado sem correr o risco de toxicidade (RASMUSSEN, 2000).

8. CONCLUSÃO

- a. O procedimento validado mostrou-se adequado para a quantificação de amitriptilina no plama, visto que os resultados da validação do método estão em conformidade com os parâmetros recomendados pelos órgãos internacionais e pela legislação sanitária vigente no País;
- b. A concentração plasmática média de amitriptilina nos pacientes que fizeram uso de 25mg ao dia foi 318 ± 169 ng/mL, com intervalo de 114 ng/mL a 590 ng/mL e coeficiente de variação de 53,16 %;
- c. A concentração plasmática média de amitriptilina nos pacientes que fizeram uso de 50mg ao dia foi $361,08 \pm 182$ ng/mL , com intervalo de 133 ng/mL a 764 ng/mL e coeficiente de variação de 50,5%;
- d. Não foi observada diferença estatística significativa entre as concentrações plasmáticas médias de amitriptilina nas doses de 25 mg e 50mg, caracterizando a ampla variabilidade das concentrações plasmáticas deste fármaco, que se reflete na pouca correlação entre dose e concentração plasmática, reforçando assim, a importância da monitorização terapêutica;
- e. Tanto o emprego de 25mg quanto 50mg ao dia originaram concentrações plasmáticas no intervalo considerado efetivo;
- f. A poliquimioterapia para o tratamento da hanseníase e o tipo episódio reacional não interferiram nas concentrações plasmáticas de amitriptilina;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAUT, A. Y; CHEVANNE, F; LE CORRE, P. Oral bioavailability and intestinal secretion of amitriptyline: Role of P-glycoprotein?. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 330, p. 121-128, 2007.

ABULAFIA, J; VIGNALE, R. A. Leprosy: pathogenesis updated. **International Journal of Dermatology**, v. 38, n.05, p. 321-334, 1999.

ARAÚJO, M. G. Hanseníase no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 03, p. 373-382, 2003.

AYRES, M; AYRES Jr, M; AYRES, D. L; SANTOS, A. A. S. **Bioestat- aplicações estatísticas nas áreas das ciências Bio-Médicas**. 4 ed. Belém, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia para Validação de Métodos Analíticos. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

AQUILA, C. D; Separation of tricyclic antidepressants by capillary zone electrophoresis with N, N, N', N' – tetramethyl -1,3- butanediamine (TMBD) as an effective electrolyte additive. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, p. 341-350, 2002.

BAASTRUP, C; FINNERUP, B, N. Pharmacological Management of Neuropathic Pain Following Spinal Cord Injury. **Danish Pain Research Center**, v. 22, p. 455-475, 2008.

BECHELLI, L., M; CUBAN, G. V. **Compêndio de Dermatologia**. 6 ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

BEAR, M. F; CONNORS, B. W; PARADISO, M.A. Neurociências: desvendando o sistema nervoso. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

BENBOUZID, M; JAAFAR, C, N; YALCIN, I; WALTISPERGER, E; MULLER, A; MERCIER, M, J, F; BARROT, M. Chronic, but not acute, tricyclic antidepressant treatment alleviates neuropathic allodynia after sciatic nerve cuffing in mice. **European journal of pain**, p. 1-10, 2008.

BOSE, D; DURGBANSHI, A; DOMINGUEZ, A. M; PEIRÓ, M. E. C; BROCH, S. C; ROMERO, J. E; AGUSTÍ, M. G. Amitriptyline and nortriptyline serum determination by micellar liquid chromatography. **Journal of pharmacological and Toxicological Methods**, v. 52, p. 323-329, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento Nacional de Saúde. Serviço Nacional de Lepra. **Manual de Leprologia**. Rio de Janeiro, p. 171, 1960.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. DGPE. **Guia para implantar/implementar as atividades de controle da hanseníase nos planos estaduais e municipais de saúde**. Brasília , 1999

BRASIL. Área Técnica de Dermatologia Sanitária. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Manual de Incapacidades**. Brasília: Ministério da Saúde, p. 107, 2001.

BRASIL.Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia para o controle da hanseníase**. 3. Ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

BRASIL. **Casos de Hanseníase caem 24,27% em dois anos.** Disponível em: <<http://www.saúde.gov.br.html>>. Acesso em 27 jan. 2006.

BRAKEL, W. H. V; SHETTY, P. S. V; BRANDSMA, J. W; POST, E; JELLEMA, R; MCKNIGHT. International Workshop in neuropathology in leprosy – **consenses report. Lepr Rev**, p. 416-433, 2007.

BRITON J. W. L.; LOCKWOOD, D. N. J. Diagnostic signs of leprosy Hypopigmented or reddish patches with definite loss of Sensation. **The Lancet**, v. 363, p. 1209-1219, 2004.

BROSEN, K. Drug-metabolizing enzymes and therapeutic drug monitoring in psychiatry. *Therapeutic Drug Monitoring* v.18, p. 393-396, 1996.

BRYSON, H. M.; WILDE, M. I. Amitriptyline: a review of its pharmacological properties and therapeutic use in chronic pain states. **Drugs and aging**, 459–476, 1996.

BWIRE, R. et al. Hospital based epidemiological study of. Reactions, Buluba Hospital, 1985 a 1989. **Leprosy Review**, v. 64, p. 325 329, 1993.

CORONA, G. L; CUCCHI, M. L; FRATINNI, P; SANTAGOSTINOS, G; SCHINELLI, S; ZERBI, F; SAVOLDI, F. Aspects of amitriptyline and nortriptyline plasma levels monitoring in depression. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 100, p. 334-338, 1990.

DATASUS – Tecnologia de Informação a serviço do SUS. Informações de Saúde.

Acompanhamento da hanseníase, disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/tabcgi.exe>>. Acesso em: 14 de dezembro de 2006.

DE LA TORRE, B. R; DREHER, J; MALEVANY, I; BAGLI, M; KOLBINGER, M; OMRAN, H; LUDERITZ, B; RAO, M. L. Serum levels and cardiovascular Effects of Tricyclic Antidepressants and selective Serotonin Reuptake Inhibitors in Depressed Patients. **Therapeutic Drug Monitoring**, v.23, p. 435-440, 2001.

FARDEL, O; Ratanasavanh, D.; Loyer, P., Ketterer, B., Guillouzo, A. Overexpression of the multidrug resistance gene product in adult rat hepatocytes during primary culture. **Eur. J. Biochem.** 205, 847–852, 1992.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for industry. Bioanalytical Method Validation, 2001. Disponível em: <<http://www.fda.gov/cder/guidance>>. Acesso em: setembro de 2007.

FOSS, N. T. Hanseníase: aspectos clínicos, imunológicos e terapêuticos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 74, n. 02, p. 113-119, 1999.

FINCH, C. K; CHRISMAN, C. R; BACIEWICZ, A. M. Self TH. Rifampin and rifabutin drug interaction: an update. **Archives of Internal Medicine** 162: 985-992, 2002

GOODMAN, S. L; GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

GOULART, I. M. B; PENNA, G.O; CUNHA, G. Immunopathology of leprosy: the complexity of the mechanisms of host immune response to *Mycobacterium leprae*. In: **Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 365-375, 2002.

GARBINO, J.A; NERY, J. A; VIRMOND, M; STUMP, P. R. N; BACAREELI, R; MARQUES, W. Hanseníase: Diagnóstico e Tratamento da Neuropatia hanseniana. In: **Sociedade Brasileira de hansenologia**, 2003. .

GUPTA, S. K.; SHAH, J, GUINTA, D; HWANG, S. Multiple-dose pharmacokinetics and pharmacodynamics of OROS and immediate - release amitriptyline hydrochloride formulations. **Pharmacopsychiatry**. v. 39, n. 4, p.121-127, 2006.

HOLLISTER, L. E. Plasma concentrations of tricyclic antidepressants in clinical practice. **J Clin Psychiatry**. V. 43, p. 66-69, 1982.

ISHII, N. Recent advances in the treatment of leprosy. **Dermatol. Online J.**, Davis, v. 9, n.5, p.1-18, 2003.

IVY, E. D; BROCHU R. M; PUROHIT Y; KACZOROWSKI G. J; MARTIN W. J; PRIEST B. T. Sodium Channel Blockade May Contribute to the Analgesic Efficacy of Antidepressants. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 4, p. 315-324, 2007.

JACOBSON, R.R.; KRAHENBUHL, J.L. Leprosy. **The Lancet**, v. 353, p. 655-660, 1999.

JATLOW, P. Therapeutic monitoring of plasma concentrations of tricyclic antidepressants. **Arch. Pathol. Lab. Med.** v.104, p. 341-344, 1980.

JULIUS, D; BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v. 413, p. 203-310, 2001.

KATOCH, V. M. Advances in the diagnosis and treatment of leprosy. **Expert Rev Mol Med.**, Cambridge, v.2, p.1-14, 2002.

KIRCHHERR. H; VELTEN, W. N. K. Quantitative determination of forty-eight antidepressants and antipsychotics in human serum by HPLC tandem mass spectrometry: A multi-level, single sample approach. **Journal of Chromatography B**, v. p. 100 -113, 2006.

KREMERS, P. can drug-drug interactions be predicted from in vitro studies? **The Scientific World Journal**, v.19, p. 751-766, 2002.

LUND, C; KOSKINEN, M; SUNEETHA, S; LOCKWOOD, D. N. J; MAIJA HAANPA, M. A; HAAPASALO, H; HIETAHARJU, A. Histopathological and clinical findings in leprosy patients with chronic neuropathic pain. *Lepr Rev*, v.78, p. 369–380, 2007.

LUKATS, I. W. T; MEGEFF, C.; BACKONJA, M. M. Anticonvulsivantes for neuropathic pain. Syndromes – mechanisms of action and place in therapy. **Drugs**, p. 1029-1050, 2000.

MALFARÁ, W.R; BERTUCCI, C; QUEIROZ, M. E. C; CARVALHO, S.P; BIANCHI, M. L.P; CESARINO, E. J; CRIPPA, J. A; QUEIROZ, R. H. C; Reliable HPLC method for therapeutic drug monitoring of frequently prescribed tricyclic and nontricyclic antidepressants. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**. p 955-962, 2007.

MALFARÁ, W.R. **Estudo da correlação dose/concentração plasmática e de alterações bioquímicas, hematológicas, hemostáticas e histopatológicas induzidas pela rifampicina, ofloxacina e minociclina, em ratos Wistar.** 2005. 209 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005

MARGARIDO, L. C; RIVITTI, E. A. Hanseníase. In: VERONESI. Tratado de Infectologia. 3 ed. 2005.

MARQUEZ, J.O. **Tratamento farmacológico.** In: Drumond JP, Márquez JO. Dor neuropática. Fisiopatologia, clínica e terapeutica. Curitiba: Editora Evidence; 2005, p. 105-24.

MICÓ, J. A.; ARDID, D.; BERROCOSO, E.; ESCHALIER, A.; *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, 27, 7.

MIHAJLOVIC, G.S; MILOVALOVIC, D. R; JANKOVIC, S. M. Comparison of efficacy and safety between individualized and empiric dose regimen of amitriptyline in the treatment of major depressive episode. **Psychiatry Clin Neurosci**, v. 57, p. 580-585, 2003.

MILLAN, M. J. Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.*, v.57, p. 355-474, 2002.

MODLIN et al. Learning from lesions: patterns of tissue inflammation in leprosy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 85, p. 1213-1217, 1998.

MODLIN, R. L; REA, T. H. Leprosy: new insight into an ancient disease. **Journal of American Academy of Dermatology**, v. 17, n.1, p.1-13, 1987.

MONKS, R. Psychotropic drugs. In: Bonica, J. J. The management of pain. **Philadelphia: Lea e Febiger**, p. 1676-1689 1990.

NATIONS S. P; BAROHN R. J. Peripheral neuropathy due to leprosy. **Curr Test Options Neural**, p. 189-196, 2002.

NATIONS S. P; KATZ; LYDE, C. B.; BAROHN, R. J. Leprous neuropathy: an american pespective. **Seminin Neurol**, p. 113-124, 1998.

NOGUEIRA, W.; Hanseníase: O Controle de uma Endemia Secular em São Paulo. **Prática Hospitalar**, v. 37, 2005.

OPROMOLLA D.V.A. **Noções de Hansenologia**. Bauru: Centro de Estudos Dr. Reynaldo Quagliato, 2000.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAUDE - OMS. **A Estratégia do Esforço Final para a Eliminação da Hanseníase como problema de Saúde Pública: Perguntas e Respostas**. 2.ed. Genebra: OMS, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - OMS. **A estratégia global para aliviar a carga da Hanseníase e manter as atividades de controle da Hanseníase, 2005 (período de plano: 2006-2010)**. Tradução original WHO/CDS/CPE/CEE/2005.53. Disponível em: <<http://www.who.int/lep/reports/globalstrategy-PDF-version.pdf>>. Acesso em: 20 de abril de 2007.

PAGE, C. P; CURTIS, M. J; SUTTER, M. C; WALKER, M. J. A; HOFFMAN, B. B. Farmacologia integrada. In: Page, C.P. **As drogas e o sistema nervoso**. São Paulo: editora Manole, p. 109 -110, 1999.

PANNIKAR, V. The return of thalidomide: New use and renewed concerns. Thalidomide and leprosy. Geneva, 2005. Disponível em: <http://www.who.int/lep>. Acesso em: 15 dez. 2005.

PELLOSO, LRCA. **Efeito dos anticonvulsivantes gabapentina e carbamazepina associados ou não ao antidepressivo amitriptilina no controle da dor neuropática em pacientes portadores de hanseníase**. 2005. Tese (Doutorado em ciências) – Faculdade de medicina de São Paulo.

PIMENTEL, M.I.F.; BORGES, E; SARNO, E.N.; NERY, J.A.C.; GONÇALVES, R. O exame neurológico inicial na hanseníase multibacilar: correlação entre a presença de nervos afetados com incapacidades presentes no diagnóstico e com a ocorrência de neurites francas. **An bras Dermatol, Rio de Janeiro**, v. 78, n. 5, p. 561-568, 2003

QUEIROZ R. H. C; LANCHOTE, V. L; BONATO, P. S; CARVALHO, D. Simultaneous HPLC analysis of tricyclic antidepressants and metabolites in plasma samples. **Pharmaceutics Acta Helvetiae**, v. 70, p.181-186, 1995.

RASMUSSEN, B. B; BESEN, K. Is Therapeutic Drug Monitoring a case for optimizing clinical outcome and avoiding interactions of selective serotonin reuptake inhibitors? *Therapeutic Drug Monitoring*. V. 22, p. 143-154, 2000

RIBANI, M; BOTTOLI C. B. G; COLLINS, C. H; FONTES, I. C.S; MELO, J. L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quimica Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIDLEY, D.S., JOPLING, W.H. Classification of Leprosy According to Immunity. A Five-group System. **Int. J. Lepr.**, v.34, p.255-273, 1966.

RINTALA, D. H; HOLMES, S. A; FIESS, R. N; TASTARD, L. V; LOUBSER, P. G. Comparison of the Effectiveness of Amitriptyline and Gabapentin on Chronic Neuropathic Pain in Persons With Spinal Cord Injury. **Arch Phys Med Rehabil**, v. 88, p.1547-1560, 2007.

ROCHA, A. P. C; KRAYCHETE, D. C; LEMONICA, L; CARVALHO, L. R; BARROS, G. A. M; GARCIA, J. B. S; SAKATA, R. K. Dor: Aspectos Atuais da Sensibilização Periférica e Central Pain: Aspects on peripheral and Central sensitization. **Rev. Bras Anesthesiol**, v. 57, p. 94-105, 2007.

RUSSO, C. M; BROSE, W. G. Cronic pain. *Ann. Rev. Med.* v.49, p. 122-133,1998_

SCHULTZ, P.; DICK, P; BLASCHKLE, T.F; HOLLISTER, L. Discrepancies between pharmacokinetic studies of amitriptyline. **Clin. Pharmacokinet.**, v. 10, p. 257–268, 1985.

SCOGGINS, B.A., MAGUIRE, K.P., NORMAN, T.R., BURROWS, G.D. Measurement of tricyclic antidepressants. Part I. A review of methodology. **Clin. Chem.**, v. 26, n. 7, p. 805-15, 1980.

SCOLLARD, D. M; ADAMS, L. B; GOLLIS, T, P; KRAHENBUUHL, J. L; TRUMAN, R. W; WILLIAMS, D. L. The Continuing Challenges of Leprosy, V. 19, p. 338–381, 2006

SERPELL, M. Pharmacological treatment of chronic pain. **Anaesthesia and intensive care medicine**, v. 6, n. 2, p. 39-42 2005.

SILVA, S. M, **Padronização e validação do método de extração sortiva em barra de agitação e cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de antidepressivos em amostras de plasma**. 2007. Dissertação (Mestrado em Toxicologia) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SINDRUP, S.H. Antidepressants and chronic pain. In: JENSEN T S; WILSON, P.R; RICE, A.S.C. **Chronic pain**. London: Oxford university Press, 2003.

TALHARI, S; NEVES, R. G. **Dermatologia Tropical** – hanseníase. 3 ed. Manaus: Gráfica Tropical, 1997.

UHR, M; GRAUER, M. T, YASSOURIDIS, A; EBINGER, M. Blood–brain barrier penetration and pharmacokinetics of amitriptyline and its metabolites in P-glycoprotein (abcb 1 ab) knock-out mice and controls. **J. Psychiatr. Res**, 29. 2005

VAN BEERS SM, DE WIT MYL, KLASTER PR. MiniReview: The epidemiology of Mycobacterium leprae: Recent insight. **FEMS Microbiology Letters** 136:221-230, 1996.

VISSCHEDIJK, J; VAN DE BROEK, J; EGGENS, H; LEVER, P; VAN BEERS, S; KLATSER, P. Mycobacterium leprae – millennium resistant! Leprosy control on the

threshold of a new era. *Tropical medicine & International Health*. V. 5, p. 385-387, 2000.

WACHER, J. V., SALPHATI, L., BENET, L. Z. Active secretion and enterocytic drug metabolism barriers to drug absorption. **Adv. Drug Deliv.** Ver. 1b, 89-102, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chemotherapy of leprosy for control programs. **WHO Technical Report Series**, n. 675, Geneva, 1982.

ZIEGLER, V. E; CO, B.T; TAYLOR J. R; CLAYTON P. J.; BIGGS J. T. Amitriptyline plasma levels and therapeutic response. **Pharmacopsychiatry**, v. 36, n.4, p. 134-142, 2003.

ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLO DE MEDICINA TROPICAL
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Protocolo: N°169/2005-CEP/NMT
2. Projeto de Pesquisa: ESTUDO DA EFICÁCIA DE FÁRMACOS IMUNOSSUPRESSORES NO MANEJO E TRATAMENTO DE REAÇÕES HANSÊNICAS GRAVES.
3. Pesquisador Responsável: Juarez Antonio Simões Quaresma.
4. Instituição / Unidade: NMT/UFPA.
5. Data de Entrada: 1º/12/2005.
6. Data do Parecer: 15/12/2005.

PARECER

Considerando: - a urgência em iniciar o estudo referente a proposta em tela; - que o protocolo apresentado, atende as exigências da resolução 196/96/CNS/MS, decidimos aprová-lo "ad referendum" e , apresentá-lo à próxima reunião prevista para 15/12/2005.

Parecer: **APROVADO**

Belém, 10 de dezembro de 2005.


Profª Mª da Conceição Nascimento Pinheiro
Coordenadora do CEP-NMT/UFPA.

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto: Determinação das Concentrações Plasmáticas de Amitriptilina em Pacientes com Hanseníase e Eritema Nodoso Hansênico.

A hanseníase é uma doença infecto-contagiosa causada por uma bactéria chamada *Micobacterium leprae*, que é um ser vivo tão pequeno que só conseguimos vê-lo através de aparelhos com lentes de aumento. Essa doença é transmitida de uma pessoa doente para uma sadia principalmente através de gotículas da saliva, e pode levar anos para se manifestar.

O projeto propõe um melhor entendimento da doença e com isto é necessário a sua autorização para coletarmos 5 mL do seu sangue.

A coleta é realizada no Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará (UFPA), sediado no município de Belém-Pará, e tem por finalidade verificar se existe associação entre a quantidade do medicamento no sangue e a quantidade presente no eritrócito. Para isto, utilizaremos também alguns dados contidos no seu prontuário.

Destaca-se que a realização deste estudo não incorrerá em riscos ou prejuízos físicos e morais para os pacientes, já que as informações relatadas serão de uso exclusivamente científico, e as identificações pessoais serão mantidas em segredo.

Os participantes do estudo têm a liberdade de optar pela participação ou retirada desta pesquisa, caso seja necessário, sem o risco de represália.

O conhecimento da quantidade de amitriptilina no plasma durante o tratamento constituirá um benefício à população, na medida em que tais informações forem usadas com o intuito de aperfeiçoar o tratamento, no controle médico e criação de medidas terapêuticas que procurem melhorar a recuperação do portador desta doença.

Em qualquer momento os pacientes estudados poderão ter acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento e tirar dúvidas.

Os pesquisadores utilizaram os dados e o material coletados somente para esta pesquisa e posteriores eventos no âmbito científico, tais como publicações e congressos.

Os principais pesquisadores são a farmacêutica Tânia Mara Pires Moraes e o professor Dr. José Luiz Fernandes Vieira, orientador desta pesquisa.

Assinatura do Pesquisador Responsável
Nome: Tânia Mara Pires Moraes
End: Travessa Tupinambás, 18 Vila Gomes Barbosa
Fone: 8146-8878

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma, compreendendo seus benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa, cooperando com a pesquisa através da utilização das informações provenientes dos prontuários e amostra doada.

Belém, __/__/2007

Assinatura do sujeito da pesquisa ou do responsável