

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS

MARIA HELIANA ALENCAR DA COSTA

**ESTRESSE OXIDATIVO NA HEPATOTOXICIDADE AOS MEDICAMENTOS
ANTI-TUBERCULOSE**

BELÉM-PA
2016

MARIA HELIANA ALENCAR DA COSTA

**ESTRESSE OXIDATIVO NA HEPATOTOXICIDADE AOS MEDICAMENTOS
ANTI-TUBERCULOSE**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do grau de Doutorado em Doenças Tropicais.

Orientador: José Luiz Martins do Nascimento
Coorientador: Barbarella de Matos Macchi

BELÉM-PA

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca do Hospital Universitário João de Barros Barreto (HUJBB/UFPa)

Costa, Maria Heliana Alencar da, 1957-

Estresse oxidativo na hepatotoxicidade aos medicamentos anti-tuberculose / Maria Heliana Alencar da Costa; Orientador, Prof^o. Dr^o. José Luiz Martins do Nascimento. — 2016.

63 f. : il. ; color. : 30 cm.

Inclui bibliografias.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Medicina Tropical, Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais, Belém, 2016.

1. Tuberculose. 2. Antituberculosos. 3. Hepatopatias. 4. Estresse Oxidativo. I. Nascimento, José Luiz Martins do, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.995098115

Maria Heliana Alencar da Costa

Estresse Oxidativo na Hepatotoxicidade aos Medicamentos Anti-Tuberculose

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do grau de Doutorado em Doenças Tropicais

Aprovada em: 30/ 06/ 2016

Avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento – Orientador

Prof. Dra. Barbarella de Matos Macchi – Coorientadora

Prof. Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro

Prof. Dr. Chubert Bernardo Costa de Sena

Prof. Dra. Edilene Oliveira da Silva

Prof. Dr. Paulo Pimentel Assumpção

Dedico este trabalho a minha família e amigos que sempre foram grandes colaboradores e incentivadores, assim como, a todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização do mesmo.

Agradecimentos

A Deus que sempre esteve presente na minha vida.

Aos meus familiares, a quem considero como meus eternos colaboradores e incentivadores.

Ao Professor Dr. José Luiz Martins Nascimento pela orientação e todo o apoio em propiciar as condições necessárias para a realização desse trabalho.

A Professora Barbarella Macchi por toda ajuda prestada na produção dessa tese.

A toda equipe de profissionais da Unidade do Hospital Universitário João de Barros Barreto pelo apoio prestado durante o período em que a pesquisa foi realizada, em especial aos profissionais Dra. Sonia Elenita e Guilherme.

A secretaria de saúde de Belém por permitir que uma parte deste trabalho fosse realizada na Unidade de saúde do Guamá.

A equipe de profissionais da Unidade de saúde do Guamá pela receptividade e colaboração na realização dessa pesquisa.

A equipe de trabalho da Gerência de Risco que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste estudo.

A equipe do LMNC e LBE pelo apoio ao alcance deste objetivo. Aos pacientes por participarem deste trabalho.

Resumo

O tratamento da tuberculose envolve uma associação de fármacos com ocorrência de interações entre si e outros fármacos. Seus efeitos adversos mais frequentes estão relacionados à hepatotoxicidade. A biotransformação de fármacos pode resultar na formação de metabólitos reativos capazes de produzir danos celulares, e tem sido considerada como um importante processo da patogênese de algumas formas de hepatotoxicidade. **Objetivos:** Avaliar a participação do estresse oxidativo em pacientes com hepatotoxicidade com medicamentos anti-tb. **Metodologia:** Este estudo é tipo Caso Controle e para a Revisão sobre hepatotoxicidade como reação adversa aos medicamentos anti-Tb, foi realizado uma ampla busca no Portal da Biblioteca Virtual da Saúde (BVS) visando a disponibilidade de literatura em língua portuguesa e inglesa para encontrar artigos publicados até dezembro de 2014. Para a análise das enzimas antioxidantes foram incluídos os pacientes atendidos no HUIBB no Ambulatório de Referência Secundária de Clínica de Pneumologia e internados na Clínica de Pneumologia, e os pacientes atendidos no Ambulatório da Unidade Básica de Saúde do Guamá em Belém do Pará. **Resultados:** Conforme a revisão da literatura sobre Reações adversas a medicamentos antituberculosos, realizada em 2015 foi constatado que o comprometimento hepático está entre as reações adversas de maior incidência associada aos medicamentos anti-tuberculose no cenário brasileiro, e que as reações adversas durante o tratamento da tuberculose são um dos principais fatores associados ao abandono. Conforme as análises das enzimas antioxidantes, Glutathione nos grupos Controle, grupo com hepatotoxicidade (PCH) e o grupo sem hepatotoxicidade com medicamentos anti-TB (PCT) apresentaram medianas de níveis de glutathione com valores de 221 nmol/mL, 227 nmol/mL e 236 nmol/mL, respectivamente. As distribuições da Catalase nos grupos controle, grupo com hepatotoxicidade (PCH) e o grupo sem hepatotoxicidade com medicamentos anti-TB (PCT), apresentaram medianas de atividade de catalase com valores de 213 nmol/mL, 319 nmol/mL e 2.035 nmol/mL, respectivamente. A mediana dos níveis de antioxidantes da glutathione para o grupo PCT foi a maior, e não se observou uma diferença estatisticamente significativa ao aplicar o teste ANOVA. As distribuições da atividade da Catalase na população de pacientes com TB nos grupos que evoluíram com hepatotoxicidade (PCH) e os que evoluíram sem hepatotoxicidade (PCT) foram aumentadas quando comparados com os voluntários saudáveis. Particularmente, observou-se uma diferença estatisticamente significativa da atividade da catalase no grupo (PCT) em relação aos demais grupos. **Conclusão:** Os resultados sugerem que a hepatotoxicidade não está somente associada às enzimas antioxidantes e novas análises com mais variáveis explanatórias devem ser realizadas para entender este fenômeno.

Palavras-chave: Tuberculose; Hepatopatias; Estresse oxidativo.

Abstract

Tuberculosis treatment involves a combination of drugs with possible interactions with each other and other drugs. The most common side effects are related to hepatotoxicity. The biotransformation of drugs may result in the formation of reactive metabolites that can produce cellular damage which has been considered as an important process in the pathogenesis of hepatotoxicity. **Goals:** Evaluate the role of oxidative stress in patients with hepatotoxicity that have used anti-TB drugs. **Methodology:** To reach the first goal a Review of hepatotoxicity as an adverse reaction to anti-TB drugs was performed. Such an review was done through a wide search in the Portal of the Virtual Library of Health that targeted Portuguese and English literature to find papers published until December 2014. On the other hand, a Case Control study was performed to reach the second goal. For the analysis of antioxidant enzymes, patients treated at HUIBB in Secondary Reference Clinic of Pulmonology Clinic and admitted in Clínica de Pulmonologia, and the patients seen at the Basic Health Unit Guamá in Belém were included. **Results:** As for the literature review, it was found that hepatic impairment is among the highest incidence of adverse reactions associated with anti-tuberculosis drugs in the Brazilian scene and adverse reactions during treatment of tuberculosis are one of the main factors associated with therapy abandonment. Regarding the analysis of antioxidant enzymes, the analysis of glutathione in the control group with hepatotoxicity (PCH) and the group without hepatotoxicity with anti-TB drugs (PCT) achieved median glutathione levels of 221 nmol / ml, 227 nmol / ml, and 236 nmol / ml, respectively. The distribution of catalase in the control group with hepatotoxicity (PCH) and the group without hepatotoxicity with anti-TB drugs (PCT) showed medians of catalase activity with values of 213 nmol / ml, 319 nmol / ml and 2035 nmol / ml, respectively. The median levels of antioxidants glutathione to the PCT group was the largest. However, glutathione levels were not statistically significant when applying the ANOVA test. Distributions of catalase activity in the population of TB patients in the group who developed hepatotoxicity (PCH) and that evolved without hepatotoxicity (PCT) were larger when compared to healthy volunteers. In particular, there was a statistically significant difference in catalase activity in the group (PCT) compared to the remaining groups. **Conclusion:** The results suggest that hepatotoxicity is not only associated with antioxidant enzymes and further analysis with more explanatory variables should be made to better understand this phenomenon.

Keywords: Tuberculosis. Liver diseases. Oxidative stress.

Lista de Ilustrações

Figura 1 – Modelo hipotético envolvidos na patogênese da hepatotoxicidade dos anti-TB	19
Figura 2 – Metabolismo da isoniazida no fígado	21
Figura 3 – Formação de Radicais Livres e Enzimas Antioxidantes	23
Figura 4 – Reação Catalase	25
Figura 5 – Reação Glutaciona.....	25
Figura 6 – Distribuições dos níveis de glutaciona nos grupos analisados. Os grupos controle, PCH e PCT apresentam medianas de níveis de glutaciona com valores de 221, 227 e 236, respectivamente	31
Figura 7 – Distribuições da atividade da catalase nos grupos analisados. Os grupos, controle, PCH e PCT apresentam medianas de níveis de catalase com valores de 213, 319 e 2.035, respectivamente	32

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Esquemas terapêutica utilizados ao longo dos anos	18
Tabela 2 – Valores do teste de Shapiro para verificar se os dados utilizados provavelmente seguem uma distribuição normal.....	26
Tabela 3 – Caracterização dos pacientes em terapia com medicamento anti-TB. Belém(PA)– 2016	29
Tabela 4 – Perfil dos participantes da pesquisa. Belém(PA)– 2016.....	30
Tabela 5 – Valores de TGO e TGP. Belém(PA) – 2016.....	30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Tratamento da Tuberculose: Esquema RHZE.....	16
2.2 Reações Adversas a Drogas: hepatotoxicidade e o papel dos anti-TB nesse contexto	18
2.3 Estresse Oxidativo e Sistema antioxidante	22
3. OBJETIVOS	21
3.1 Geral.....	21
3.2 Específicos.....	21
4. MATERIAISE MÉTODOS	22
4.1 Área de abrangência do estudo	22
4.2 Revisão sobre hepatotoxicidade como reação adversa aos medicamentos anti-tb	22
4.3 Obtenção das amostras de sangue	23
4.4 Preparação das amostras	24
4.5 Análise laboratorial de amostras	24
4.5.1 <i>Medição da atividade enzimática da Catalase (CAT)</i>	24
4.5.2 <i>Medição dos níveis de glutatona</i>	25
4.6 Análise estatística	26
4.7 Aspectos éticos.....	27
5. RESULTADOS	29
6. DISCUSSÃO	33
6.1 Hepatotoxicidade.....	33
6.2 Medicamentos anti-TB e Radicais Livres	34
6.3 Medicamentos anti-TB e Estresse Oxidativo	35
7. CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	37
APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	42
APÊNDICE B – Artigo de Revisão sobre Hepatotoxicidade aos Medicamentos Anti-TB 44	
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa	57
ANEXO B – Autorização emitida pela Comissão de Análise de Projeto de Pesquisa – CAPP	60

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa e contagiosa causada principalmente pelo *Mycobacterium tuberculosis*. As micobactérias são bacilos aeróbicos, pequenos, em bastonetes e não esporulantes, não produzem toxinas e, é capaz de sobreviver no interior de células fagocitárias, o que o caracteriza como um patógeno intracelular aeróbio estrito. Sua parede é constituída principalmente por ácidos micólicos, formando uma barreira hidrofóbica que confere resistência à dessecação e à descoloração por álcool e ácido, sendo esta propriedade morfotintorial a mais importante característica diagnóstica do bacilo. Em virtude disso, as micobactérias são também denominadas Bacilo Álcool-Ácido Resistentes (BAAR) (COSTA et al., 2013). A Tuberculose é a segunda causa principal de morte dentre as doenças infecciosas no mundo, depois do HIV, o que causou um número estimado de 1,8 milhões de mortes em 2008 (ORGANIZATION, 2011).

A tuberculose pode manifestar-se sob diferentes apresentações clínicas, as manifestações pulmonares são as mais frequentes, visto que o agente etiológico da doença tem maior predileção pelo pulmão. No entanto, existe uma variedade de apresentações extrapulmonares, de acordo com o órgão acometido. Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), um terço da população mundial está infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, em risco de desenvolver a doença (ORGANIZATION, 2011). A maioria das pessoas infectadas com *M.tuberculosis* apresentam uma infecção latente. Aproximadamente de 5 a 10% dessas pessoas irão sofrer uma reativação da infecção e apresentar tuberculose ativa (TB pós-primária) que normalmente acontece em resposta a perturbações do sistema imune (FLYNN; CHAN, 2001; CREVEL; OTTENHOFF; MEER, 2002).

O Brasil ocupa a 18ª posição em carga de tuberculose. Em 2015, foram notificados 23.161 casos novos de tuberculose, o que corresponde a 36,6% do total do país. As capitais Manaus-AM (98,3/100 mil hab.), Porto Alegre-RS (88,8/100 mil hab.), Recife-PE (78,3/100 mil hab.) e Rio de Janeiro-RJ (66,8/100 mil hab.) destacaram-se por apresentarem coeficientes de incidência que excederam o valor nacional (30,9/100 mil hab.). A proporção de abandono de tratamento de tuberculose no Brasil ainda é alta (11,0%) e, com exceção do Acre e do Amapá, esse resultado está acima do que é preconizado pela Organização Mundial de Saúde (>5%) em todas as demais Capitais Brasileiras (GONZALES, 2016).

O tratamento da tuberculose envolve uma associação de fármacos com ocorrência de interações entre si e outros fármacos. Seus efeitos adversos mais frequentes estão relacionados à hepatotoxicidade, manifestações cutâneas variadas e distúrbios neurológicos e gastrointestinais. O período mínimo de tratamento para as drogas preconizadas, como esquema inicial ou esquema básico dentre essas a isoniazida (INH), rifampicina (RMP) e pirazinamida (PRZ) é de até seis meses e o dano hepático por esses medicamentos no geral ocorre nos três primeiros meses de forma leve e moderada, sem necessidade da suspensão da terapia. Porém, em alguns casos, no entanto, aparecem sérios danos hepáticos com consequências fatais, sendo que a susceptibilidade a esses efeitos hepatotóxicos relacionam-se os fatores idade, sexo, ingestão crônica de álcool, politerapia, polimorfismo genético e sistemas enzimáticos envolvidos no metabolismo do fármaco (NICOLETTI, 2010; MADDREY, 2005; FERNANDEZ-VILLAR et al., 2004).

A biotransformação de fármacos pode resultar na formação de metabólitos reativos capazes de produzir danos celulares, e tem sido considerada como um importante processo da patogênese de algumas formas de hepatotoxicidade. Essas reações são mediadas pelo complexo enzimático CYP450 e são classificadas como reações de Fase I ou reações de Fase II. As reações de Fase I convertem o fármaco original em um metabólito mais polar, através de oxidação, redução ou hidrólise. O metabólito resultante seria farmacologicamente inativo, menos ativo ou, às vezes, mais ativo que a molécula original (no caso de pró-droga). Esse metabólito pode ser eliminado ou participar das reações de Fase II. As reações de Fase II, denominadas reações de conjugação ou síntese, envolvem a ligação do fármaco ou metabólito primário a um substrato endógeno, como glicuronato, sulfato, acetato, aminoácidos ou glutadiona (tripeptídeo). Essas reações incluem reações de glicuronidação, metilação, sulfatação, acetilação, conjugação com glutadiona, conjugação com glicina (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Estudos demonstram a susceptibilidade genética da hepatotoxicidade na formação e acúmulo de metabólitos reativos são fatores que contribuem para a lesão dos hepatócitos por estresse oxidativo e o desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante celular que tentam impedir a lesão celular. A Isoniazida é um dos medicamentos anti-TB mais conhecido por sua hepatotoxicidade, tanto na utilização isolada para a profilaxia da Tuberculose Latente quando associado à Rifampicina. O mecanismo do dano hepático - Hepatotoxicidade Induzida por Drogas (HID) é caracterizado pela

produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) possivelmente derivados da biotransformação da INH (KUMAR et al., 2010; CHOWDHURY et al., 2006; ZHAI et al., 2008; RAMAPPA; AITHAL, 2013). Um ou mais desses metabólitos podem, portanto, interagir com macromoléculas-alvo (DNA, RNA, proteínas, receptores), resultando em efeito tóxico. O local da toxicidade é geralmente aquele onde ocorre a metabolização ou excreção dos metabólitos (MITCHELL et al., 2012).

Os resultados negativos do tratamento da TB, além de causar danos individuais, colocam em risco a saúde pública, uma vez que podem proporcionar um prolongamento da infecção, aumentando, dessa forma, a possibilidade de transmissão de bacilos multirresistentes. Em virtude disso, fatores associados ao insucesso do tratamento tem sido pesquisado para aperfeiçoar terapias e melhorar o prognóstico (RESENDE; SANTOS-NETO, 2015).

A realização desse trabalho se justifica pela importância do tema em relação a doença e a produção de metabólitos tóxicos, assim como a escassa literatura de relatos publicados sobre estresse oxidativo em seres humanos com hepatotoxicidade em terapia aos medicamentos anti-tb. É importante ressaltar que na prática clínica identificar bioindicadores da hepatotoxicidade aos medicamentos anti-tb poderá contribuir na prevenção desses danos, reduzir a taxa de abandono, elevar a taxa de adesão e a efetividade da terapia medicamentosa e conseqüentemente redução na transmissão de bacilos multirresistentes a essas drogas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Tratamento da Tuberculose: Esquema RHZE

O marco do tratamento e do controle da TB ocorreu em 1943, com a descoberta da estreptomicina pelo americano Selman Waksman, sendo o primeiro antibiótico capaz de atuar de maneira eficaz no combate à tuberculose. Após esta descoberta, novos fármacos foram utilizados com sucesso, destacando-se a Isoniazida (INH), em 1952; a Rifampicina (RPM), em 1965; o Etambutol (EMB), sintetizado em 1960 e empregado em 1968; e a Pirazinamida (PZA), sintetizada em 1936 e utilizada em 1970 (SOUZA; VASCONCELOS, 2005; MACIEL et al., 2012).

No Brasil, desde 1979 o esquema terapêutico de primeira escolha para tuberculose tem a duração de seis meses e os fármacos utilizados são a Rifampicina, a Isoniazida, a Pirazinamida e, desde 2009, o Etambutol. Atualmente o tratamento de primeira linha indicado pelo Ministério da Saúde para os casos de todas as formas de TB pulmonar e extrapulmonar consiste no uso de dois meses de RPM, INH, PZA e EMB, na forma de um único comprimido que apresenta quatro drogas com doses fixas combinadas conhecido como (RHZE), seguido depois do uso de quatro meses de RPM e INH (RH).

Os esquemas terapêuticos descritos na Tabela 1 mostram os respectivos tempos de duração, adotados pelo Ministério da Saúde para o tratamento da doença no Brasil ao longo dos anos.

Rifampicina – Possui atividade bactericida contra *M. Tuberculosis* pela ligação a subunidade β da RNA polimerase e consequente inibição da transcrição de RNA e síntese proteica, dependente do DNA bacteriano. A biotransformação ocorre aproximadamente 85% no fígado através de enzimas microsossomais integrantes do sistema CYP450. A excreção é por via biliar (60-65%). Parte da rifampicina (6-15%) é excretada, não metabolizada e reabsorvida no intestino, aumentando progressivamente o nível sérico do fármaco. Ao final de aproximadamente 14 dias, ocorre a produção de enzimas que aumentam o metabolismo do fármaco (autoindução metabólica), Uma menor parte do fármaco é excretada pela urina (ARBEX et al., 2010; ORGANIZATION, 2010).

Isoniazida – É uma pré-droga que necessita ser ativada pela enzima catalase/-peroxidase (KatG) do *M. tuberculosis*, consequentemente produzindo radicais reativos de oxigênio (superóxido, peróxido de hidrogênio e peroxinitrato) e radicais orgânicos

que inibem a formação de ácido micólico da parede celular, causando danos ao DNA e subsequente morte do bacilo. A metabolização é hepática, por acetilação pela N-acetiltransferase, que produz acetilisoniazida e ácido isonicotínico. A velocidade dessa acetilação é característica genética de cada paciente.

A isoniazida é excretada por via renal (70-96%), gerando, na sua maior parte, metabólitos inativos; 7% da isoniazida excretada na urina podem aparecer de forma livre nos pacientes com acetilação rápida, e 37% dessa pode aparecer de forma conjugada nos pacientes com acetilação lenta. Uma pequena proporção é eliminada pelas fezes (ARBEX et al., 2010; ORGANIZATION, 2010).

Pirazinamida – É outro pró-fármaco ativado pela pirazinamidase bacteriana, o que ocorre apenas em condições ácidas (pH 5,5). O metabólito ativo é o ácido pirazinoico que inibe a síntese de ácidos graxos na *M. tuberculosis*. Este fármaco é utilizado nos dois meses iniciais de tratamento, a fim de reduzir a duração da terapia, não sendo utilizado de forma isolada. O mecanismo de ação da pirazinamida ainda é pouco conhecido. Supõe-se que a pirazinamida penetre no bacilo de forma passiva, seja convertida em ácido pirazinoico pela pirazinamidase e atinja altas concentrações no citoplasma bacteriano em virtude de um ineficiente sistema de efluxo.

A pirazinamida elimina os bacilos, denominados persistentes e de fase de multiplicação esporádica na lesão pulmonar por tuberculose. Esses bacilos são responsáveis pela recaída bacteriológica da tuberculose e a pirazinamida é o medicamento mais eficaz para eliminar essa população. Diante desta característica a pirazinamida é conhecida como a droga de poder esterilizante. A metabolização é hepática e 70% da droga é excretada pela urina (3% de forma não metabolizada), principalmente por filtração glomerular. (ARBEX et al., 2010; ORGANIZATION, 2010).

Etambutol – O etambutol interfere na biossíntese de arabinogalactano, principal polissacarídeo da parede celular da *M. tuberculosis*. Atua inibindo a enzima arabinosil transferase codificada pelo gene embB, que media a polimerização de arabinose para arabinogalactano. A metabolização é hepática, e o mecanismo principal é a oxidação para um aldeído intermediário, seguido de conversão para ácido dicarboxílico. Grande parte (50-80%) é excretada pela urina (a maior parte de forma inalterada e 8-15% como metabólitos) e 20% pelas fezes (ARBEX et al., 2010; ORGANIZATION, 2010).

Tabela 1 – Esquemas terapêutica utilizados ao longo dos anos.

Ano	Esquemas Terapêuticos	Duração (meses)
1944	Estreptomicina	24
1952	SH	18
1964*	SHP	18
1965	3SHP/3HP/6H	12
1971	3SHT/HT	12
1979	2RHZ/4RH	6
2009	2RHZE/4RH	6

(S) Estreptomicina

(H) Isoniazida

(P) Ácido para-amino salicílico

(T) Tiacetazona

(Z) Pirazinamida

(R) Rifampicina

(E) Etambutol

*. Em 1964, a CNCT padronizou os esquemas terapêuticos para o tratamento de tuberculose em todo o Brasil. Fonte: MACIEL et al, 2012, p. 229.

2.2 Reações Adversas a Drogas: hepatotoxicidade e o papel dos anti-TB nesse contexto

As reações adversas causadas pelos fármacos anti-TB contribuem significativamente para a não aderência ao tratamento, o que diminui sua efetividade e aumenta o surgimento de resistência às drogas (NICOLETTI, 2010). Estudo sobre perfil das reações adversas como causa de internação demonstrou que o grupo farmacológico mais frequente, possivelmente relacionados com a causa de admissão hospitalar foram os antituberculosos (SILVA et al., 2014).

Em relação aos medicamentos anti-tb, em ordem crescente de intensidade, as drogas Rifampicina, Isoniazida e Pirazinamida são potencialmente hepatotóxicas, e esta ação aumenta quando administradas em conjunto, pois, estes fármacos apresentam interação entre si e com outras drogas (SIQUEIRA et al., 2010; TIMBRELL;

PARK; HARLAND, 1985; NICOLETTI, 2010). O Etambutol no geral é bem tolerado e considerado não hepatotóxico (ORGANIZATION, 2010; RAMAPPA; AITHAL, 2013).

A hepatotoxicidade é definida por diversos autores como o aumento dos valores de aspartate aminotransferase (AST) e/ou alanine aminotransferase (ALT) em três vezes do limite superior normal (LSN) com ou sem sintomas de hepatite (COCA et al., 2010; LIMA; MELO, 2012; NADER et al., 2010; POSSUELO et al., 2008; SALLES et al., 2002; VIEIRA; GOMES, 2008). Alguns acrescentam em sua definição o aumento nos valores de bilirrubina total de no mínimo duas vezes do LSN (COCA et al., 2010; NADER et al., 2010; POSSUELO et al., 2008). A hepatotoxicidade pode ocorrer por várias vias no processo da biotransformação das drogas como mostra a Figura 1.

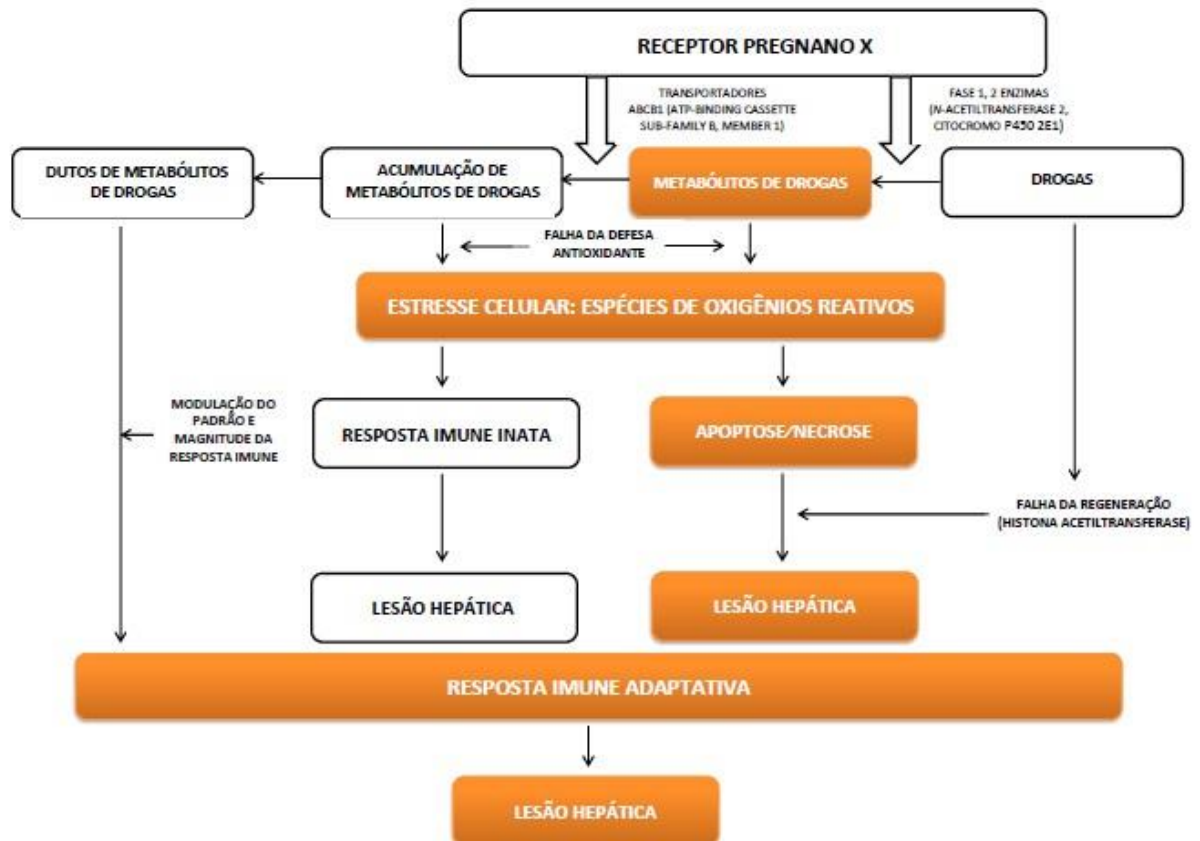


Figura 1 – Modelo hipotético envolvidos na patogênese da hepatotoxicidade dos anti- TB

Fonte: Adaptado de VIDYASAGAR RAMAPPA, 2012.

Aproximadamente 5% dos pacientes com TB e em uso do esquema básico apresentam elevação das enzimas hepáticas sem manifestação clínica, que diminui espontaneamente no decorrer do tratamento por adaptação do fígado aos medicamen-

tos, sem necessidade de suspensão da terapia. Em alguns casos, no entanto, aparecem sérios danos hepáticos, podendo levar a insuficiência hepática, com necessidade de transplante de fígado, até consequências fatais. Dessa forma, o tratamento deverá ser interrompido quando os valores das enzimas atingirem três vezes o valor normal, com início de sintomas, ou logo que a icterícia se manifeste, encaminhando o doente a uma unidade de referência secundária para acompanhamento clínico e laboratorial, além da adequação do tratamento, caso seja necessário (EPIDEMIOLOGICA, 2011; NICOLETTI, 2010; SIQUEIRA et al., 2010).

A maioria dos medicamentos anti-tuberculose de primeira linha são lipofílicos e sua biotransformação envolve a sua conversão em compostos solúveis em água e posterior eliminação. A hepatotoxicidade associada a esses medicamentos possivelmente envolve a formação e acumulação de metabólitos reativos e não do efeito direto do próprio fármaco (KNOWLES; UETRECHT; SHEAR, 2000).

A hepatotoxicidade induzida pela rifampicina é desconhecida e não há evidências quanto à existência de um metabólito tóxico. A rifampicina caracteriza-se como um potente indutor do sistema CYP450 no fígado, o que aumenta o metabolismo de vários outros compostos, incluindo a Isoniazida. O uso combinado de rifampicina e isoniazida foi associado com risco elevado de hepatotoxicidade. A rifampicina induz a hidrólise da isoniazida, o que aumenta a produção de hidrazina, quando os dois fármacos são combinados (especialmente em acetiladores lentos). Além disto, a rifampicina interage com fármacos anti-retrovirais e altera os níveis plasmáticos destes fármacos, bem como o risco de hepatotoxicidade (NICOLETTI, 2010).

A hepatotoxicidade da isoniazida quanto a sua patogênese na hepatite induzida por essa droga é proposto em vários estudos que o metabolismo da INH seria responsável pela formação de compostos hepatotóxicos e que a RMP, potente indutor de CYP2E1, aumenta a toxicidade da INH por aumento da produção desses metabólitos reativos (SHARMA, 2004; DOUGLAS; MCLEOD, 1999; SKAKUN; SHMAN'KO, 1985; REY et al., 2001). A INH é acetilada em acetil-isoniazida e, posteriormente, hidrolisada em acetil-hidrazina e ácido isonicotínico. A acetil-hidrazina é hidrolisada em hidrazina ou acetilada em diacetilhidrazina. Uma pequena parte da INH é diretamente hidrolisada em ácido isonicotínico e hidrazina, e esta via é de maior significância para os acetiladores lentos do que para os rápidos. Estudos sugerem que a hidrazina seria o principal metabólito relacionado à hepatotoxicidade induzida pela INH, esse processo é descrito na Figura 2 (ELLARD, 1976; KASHUBA et al., 1998; NICOLETTI, 2010).

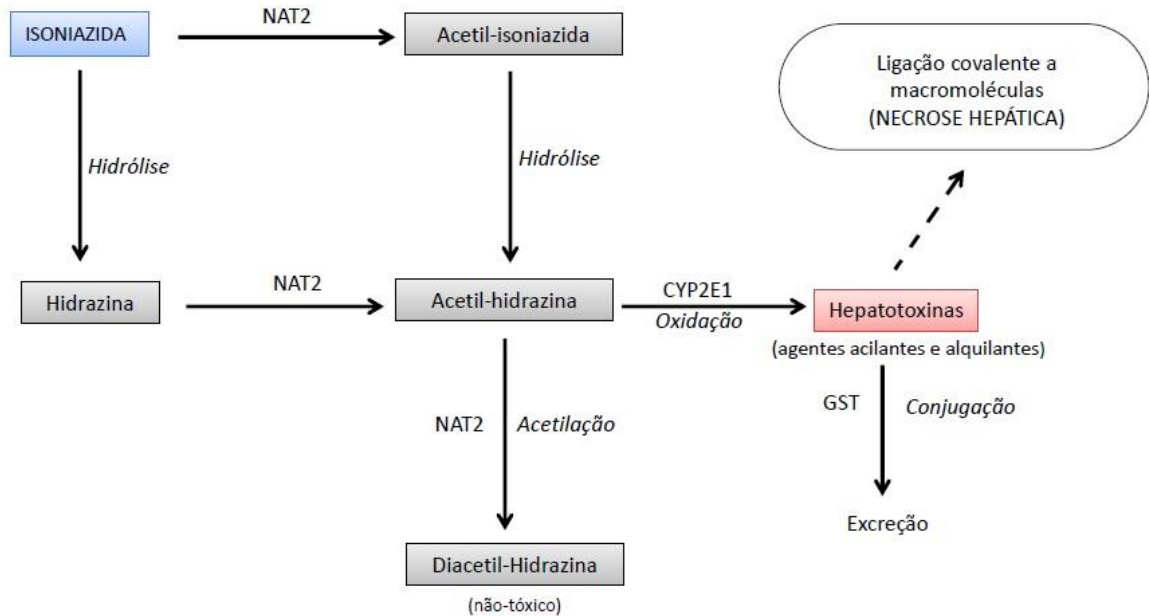


Figura 2. Metabolismo da isoniazida no fígado.

Fonte: Mitchell et al., 1976 apud Teixeira, 2009

A pirazinamida é um derivado do ácido nicotínico, com estrutura molecular similar à da isoniazida, é a mais hepatotóxica dentre os demais medicamentos citados. Por isso, é essencial a observação das doses da droga ajustada ao peso do paciente. O comprometimento hepático é raro se administrada nos limites de 35 mg/kg ao dia (ARBEX et al., 2010).

No Brasil, o Ministério da Saúde divide as reações adversas aos medicamentos anti-TB em dois grandes grupos, considerando a gravidade: efeitos adversos menores e efeitos adversos maiores. Os efeitos menores ocorrem em 5 a 20% dos casos, não implicam modificação imediata do esquema padronizado e, em sua maioria, requerem medidas que podem ser tomadas em unidades básicas de saúde. Os efeitos maiores são menos frequentes, ocorrem em 3 a 8% dos casos, e implicam interrupção ou alteração do tratamento, demandando atendimento especializado nas Unidades de Referência Secundária (EPIDEMIOLOGICA, 2011).

2.3 Estresse Oxidativo e Sistema antioxidante

O Estresse Oxidativo é definido como o evento que ocorre em organismos aeróbicos, caracterizado pelo desequilíbrio entre a proporção de espécies reativas geradas e sua degradação, de modo que estas moléculas não são eficientemente neutralizadas, levando ao acúmulo de danos oxidativos em uma grande variedade de macromoléculas, resultando em alteração de processos metabólicos normais e perda de função fisiológica (SIES, 1991; SOHAL; WEINDRUCH, 1996).

As espécies reativas derivadas do oxigênio (ERO) apresentam propriedades oxidantes, como o peróxido de hidrogênio ou redutoras como o ânion superóxido (THORPE et al., 2004; TEMPLE; PERRONE; DAWES, 2005). Essas espécies reativas podem se originar de fontes endógenas como a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, peroxissomal e microssomal, enzimas citoplasmáticas e fagocíticas, assim como de fontes exógenas como os xenobióticos (fármacos e substâncias químicas ambientais), luz ultravioleta, entre outros, as quais podem gerar radicais livres que não são espécies reativas do oxigênio, mas produzem efeitos semelhantes (MITCHELL et al., 2012). O sistema de defesa antioxidante do organismo, tem como principal função, inibir ou reduzir os danos causados às células pelas espécies reativas de oxigênio. Um agente antioxidante regenera um substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo, mantendo desta forma o equilíbrio dos processos de oxi-redução (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; HICKS; TORRES-RAMOS; SIERRA-VARGAS, 2006).

O desequilíbrio entre as ERO e os agentes antioxidantes geram metabólitos específicos que podem ser utilizados como biomarcadores de estresse oxidativo, através de sua identificação e quantificação (BARBOSA et al., 2010).

Os processos antioxidantes para impedir o acúmulo das espécies reativas são classificados em enzimáticos, como as enzimas a superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase (CAT). E os não enzimáticos destacam-se: o ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E), glutathione reduzida (GSH), carotenóides, flavonóides, ácido úrico, β -caroteno, além de proteínas de transporte de metais de transição, como a transferrina (transporte do ferro) e ceruloplasmina (transporte do cobre) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015; BARBOSA et al., 2010; ATTRI et al., 2000; HICKS; TORRES-RAMOS; SIERRA-VARGAS, 2006). A formação de espécies reativas e a defesa antioxidante na lesão celular é ilustrado na Figura 3.

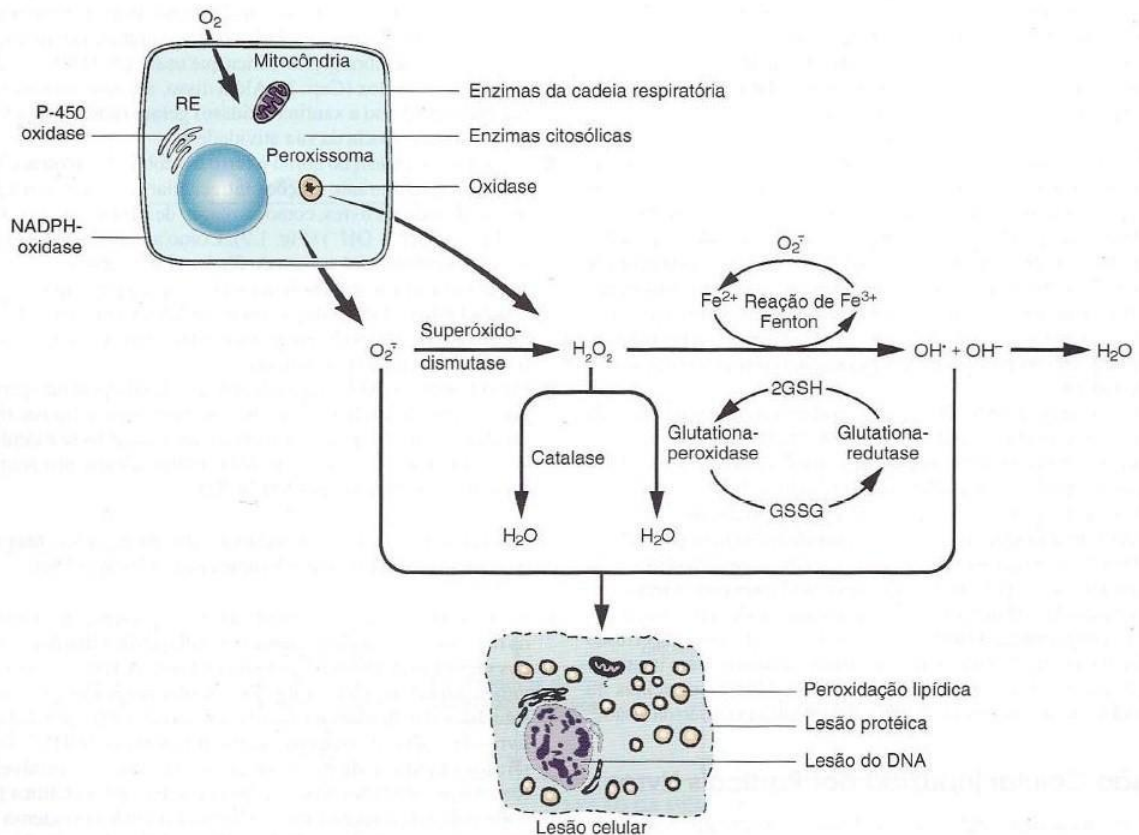


Figura 3 – Formação de Radicais Livres e Enzimas Antioxidantes

Fonte: Robbins & Cotran - Bases Patológicas das Doenças, 7a Ed.

Superóxido dismutase (SOD) tem papel fundamental na defesa do organismo contra as espécies reativas de oxigênio, pois, atua na remoção do radical superóxido. Esta enzima é uma metaloproteína, que está presente no organismo dos mamíferos em três isoformas: superóxido dismutase dependente de cobre e zinco (CuZnSOD), superóxido dismutase extracelular (EcSOD) e superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD)(HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Estas isoformas apresentam conformações diferentes, porém exercem a mesma função: são responsáveis pela dismutação do $O_2\cdot^-$ em H_2O_2 e H_2O (MCCORD; FRIDOVICH, 1969; MACKMAN, 2004).

A *glutathiona* é um tripeptídeo solúvel em água, composto de ácido glutâmico, cisteína e glicina. Atua na detoxificação de uma variedade de compostos eletrofílicos e peróxidos via catalisação por glutathiona S-transferase (GST) e glutathiona peroxidase (GSH-PX) anderson1998glutathione. É um marcador da saúde celular e sua redução é indicativo de lesão oxidante. É um tripeptídeo composto de aminoácidos não essenciais, descrita como um importante agente antioxidante. A glutathiona desempenha papel

central na biotransformação e eliminação de xenobióticos, assim como na defesa das células contra o estresse oxidativo (MITCHELL et al., 2012).

Existem dois tipos de glutathiona peroxidase, um é selênio dependente, enquanto que o outro não. O tipo selênio dependente é capaz de reduzir qualquer hidroperóxido orgânico, além do H_2O_2 (peróxido de hidrogênio). O segundo tipo que não é dependente de selênio, tem capacidade de reduzir qualquer hidroperóxido orgânico menos o H_2O_2 . (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

A enzima *catalase* está presente na maioria das células aeróbicas, sendo que em animais se encontra principalmente no fígado, rins e eritrócitos. Esta enzima é uma heme-proteína tetramérica, considerada a principal responsável pela degradação do H_2O_2 de organismos aeróbicos e anaeróbicos (SWITALA; LOEWEN, 2002). É expressa em todos os tecidos, sendo encontrada em elevadas quantidades, no fígado, eritrócitos e rins (SCHISLER; SINGH, 1987; DEISSEROTH; DOUNCE, 1970). A catalase evita o acúmulo de metahemoglobina e decompõe o peróxido de hidrogênio, um produto tóxico do metabolismo, em água e oxigênio molecular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a participação do estresse oxidativo em pacientes com hepatotoxicidade com medicamentos anti-tb.

3.2 Específicos

- Revisar publicações sobre hepatotoxicidade como reação adversa aos medicamentos anti-TB no cenário brasileiro.
- Medir a atividade das enzimas antioxidantes em pacientes com hepatotoxicidade pelo tratamento com medicamentos anti-tb:
 - Medir a atividade enzimática da Catalase (CAT) como marcadores de estresse oxidativo em pacientes com hepatotoxicidade pelo tratamento com medicamentos anti-TB e comparar com os que não desenvolveram hepatotoxicidade e indivíduos controles saudáveis.
 - Medir os níveis de Glutathiona como marcador de estresse oxidativo em pacientes com hepatotoxicidade pelo tratamento com medicamentos anti-TB e comparar com indivíduos que não desenvolveram hepatotoxicidade e indivíduos controles saudáveis.

4. MATERIAISE MÉTODOS

4.1 Área de abrangência do estudo

Este estudo é do tipo Caso Controle tendo como variável dependente o grupo de pessoas participantes, e variável independente as enzimas antioxidantes Glutathione e Catalase. A pesquisa foi desenvolvida no Hospital Universitário João de Barros Barreto-HUJBB. Este hospital é Referência para doenças infecciosas e parasitárias (adulto e pediátrico), doenças pulmonares (adulto e pediátrico), além, de realizar atendimento a pacientes clínicos (adultos) e cirúrgicos (adultos). Está localizado na cidade de Belém do Pará dispondo de 196 leitos distribuídos em 08 unidades de internação com as seguintes competências, quanto a tuberculose como Referência Secundaria de acordo com as recomendações do Manual de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde do Brasil.

1. Elucidação diagnóstica: Estabelece diagnóstico diferencial de tuberculose pulmonar negativa ao exame direto do escarro e de casos com apresentação radiológica atípica, bem como auxilia o diagnóstico das formas extrapulmonares.
2. Intolerância aos medicamentos: Orientar o correto manejo de efeitos adversos maiores, de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde, tratando e acompanhando os casos de mudança de esquema.

4.2 Revisão sobre hepatotoxicidade como reação adversa aos medicamentos anti-tb

Foi realizado uma ampla busca no Portal da Biblioteca Virtual da Saúde (BVS) visando a disponibilidade de literatura em língua portuguesa e inglesa para encontrar artigos relacionados com RAM por medicamentos anti-TB no Brasil, publicados até dezembro de 2014. Foi utilizado os descritores Tuberculosis and Brazil em inglês e Tuberculose e Brasil em Português. E selecionados todos os artigos com esses descritores dentro de título, palavras-chave e resumos. Todos os estudos sobre pacientes com TB ativa ou latente, independentemente do padrão de resistência e também em pacientes com outras comorbidades foram considerados e incluídos todos os estudos que abordavam temas relacionados à reação adversa, efeito colateral, efeito adverso e hepatotoxicidade relacionados aos medicamentos anti-TB; e que incluam pacientes brasileiros tendo como sujeito da pesquisa, adultos, crianças e idosos. Assim como,

estudos que incluíram pacientes além da população brasileira, mas relacionados à reação adversa, efeito colateral, efeito adverso e hepatotoxicidade.

Foram excluídos os estudos que não abordavam eventos associados a RAM ou de laboratórios específicos devido aos medicamentos anti-TB; artigos que não demonstravam informações com eventuais anomalias de RAM ou de laboratórios específicos devido aos medicamentos anti-TB; estudos com animais; e apenas com pacientes não-brasileiros. Também foram excluídas cartas, relatos de caso e resumos de seminários, relatórios organizacionais, opiniões ou papéis editoriais, capítulos de livros, bem como artigos em outros que não o idioma Inglês ou português. Além disso, foram excluídos estudos que só incluíram resultados gerais do tratamento da TB, e estudos que relataram RAM associados à vacinação com BCG.

4.3 Obtenção das amostras de sangue

Para a realização deste estudo, foram incluídos os pacientes atendidos no HUIBB no Ambulatório de Referência Secundária de Clínica de Pneumologia e internados na Clínica de Pneumologia, e os pacientes atendidos no Ambulatório da Unidade Básica de Saúde - UBS do Guamá em Belém do Pará, os quais assinaram por livre e espontânea vontade o termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A). Os voluntários foram esclarecidos quanto o objetivo do estudo e finalidade dos resultados, obedecendo aos Aspectos Éticos e Legais da Resolução 466/12. Os mesmos foram divididos em dois grupos: pacientes em tratamento com medicamentos anti-TB apresentando hepatotoxicidade (grupo PCH) e pacientes em tratamento com medicamentos anti-TB sem hepatotoxicidade (grupo PCT). Para a alocação em um destes grupos levou-se em consideração o exame laboratorial da Transaminase Glutâmico Oxalacética (TGO) e Transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP), independentemente do tipo de Tuberculose.

As amostras foram coletadas mediante os resultados dos exames TGO e TGP apresentados em consulta médica e no momento da administração da dose supervisionada realizada na UBS do Guamá em ambos os grupos foram coletados 4,0 mL de sangue venoso com anticoagulante (EDTA) e em seguida imediatamente transportados para o Instituto de Ciências Biológicas para o Laboratório de Neuroquímica Molecular e Celular – LNMC da Universidade Federal do Pará para análise da atividade de enzima Catalase (CAT), os níveis de glutathione. O grupo controle foi constituído de voluntários saudáveis e que se enquadravam nos critérios de exclusão também

estabelecidos aos pacientes em tratamento com medicamentos anti-tb. As amostras coletadas foram utilizadas somente para atender os objetivos desta pesquisa.

Considerando o padrão hepatocelular da lesão hepática observado na toxicidade por isoniazida, rifampicina e pirazinamida em que há uma elevação inicial predominante de alanina aminotransferase, o critério de hepatotoxicidade adotado foi que os valores das enzimas TGO e TGP atingissem um valor acima do valor Limite Superior Normal, com início de sintomas, ou logo que a icterícia se manifestasse e quanto da interrupção do tratamento e o encaminhamento do paciente para o HUIBB para acompanhamento clínico e laboratorial, além da adequação do tratamento, caso seja necessário. (EPIDEMIOLOGICA, 2011; NAVARRO; SENIOR, 2006).

Foram excluídos do estudo, Pacientes com tuberculose Multirresistentes – TBMR, HIV positivo e Pacientes oncológico (a fim de evitar que esses fatores possam interferir nos parâmetros estudados). Como critério de inclusão na pesquisa tanto os indivíduos do grupo controle quanto os em terapia com medicamentos anti-TB deveriam apresentar as seguintes características: indivíduos de ambos os sexos e idade a partir de 18 anos.

4.4 Preparação das amostras

Os eritrócitos foram separados do plasma por centrifugação no tempo de 5 minutos a 1.500 RPM a 40C. Em seguida os eritrócitos foram lisados utilizando água destilada em diluição de 4X e centrifugado em 10.000 RPM a 40C por 15 minutos, essas amostras foram reservadas para as análises da Catalase – CAT, e Glutaciona. Para a análise da glutaciona foi realizado a desproteinização dos eritrócitos com o ácido tricloro acético a 15% com agitação no Thermo-Shaker a 1.500 RPM em 1 minuto a 40C com descanso de 20 minutos. Após esse descanso as amostras eram levadas para centrifugação a 6.000 RPM em 20 minutos a 40C e reservadas para a análise.

4.5 Análise laboratorial de amostras

4.5.1 Medição da atividade enzimática da Catalase (CAT)

Foi utilizado a função de peroxidase da CAT para a determinação da sua atividade enzimática. A CAT também demonstra atividade de peroxidase. Essa análise foi adaptada do protocolo *Catalase Assay Kit* (Cayman Chemical Company, 2010), onde é avaliada a atividade da CAT pelo seu papel de peroxidase na presença de metanol, for-

mando formaldeído e água como produto final, conforme reação descrita na Figura 4. A produção de formaldeído foi medida colorimetricamente com 4-amino-3hidrazino- 5-mercapto-1,2,4-triazol (purpald) como cromógeno, em espectrofotômetro em comprimento de onda (540nm).

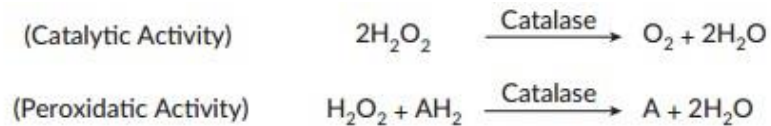


Figura 4 – Reação Catalase

Fonte: Cayman Chemical Company, 2010

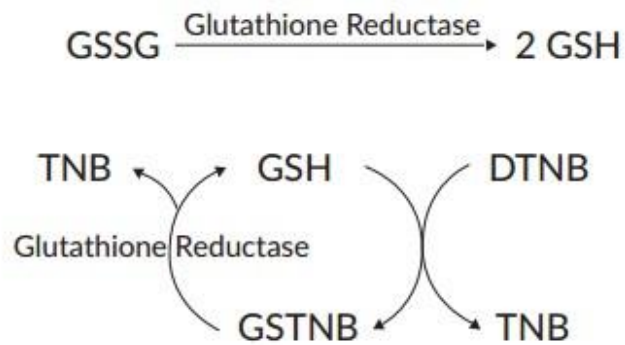


Figura 5 – Reação Glutaciona

Fonte: Cayman Chemical Company, 2010

4.5.2 Medição dos níveis de glutaciona

A determinação dos níveis intracelulares da forma reduzida de glutaciona (GSH) baseia-se na capacidade da GSH em reduzir o ácido-5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB) para ácido nitrobenzóico (TNB), conforme reação descrita na Figura 5. O TNB é um produto de cor amarelo o qual foi medido por espectrofotometria a 412 nm. Conforme protocolo adaptado do *Glutathione Assay kit* (Cayman Chemical Company, 2012).

4.6 Análise estatística

Uma vez calculados os níveis de glutathione e catalase para os grupos PCH, PCT e controle (sujeitos saudáveis), utilizou-se gráficos do tipo *boxplot* para apresentar as distribuições de níveis de glutathione e catalase por cada grupo. Para verificar a significância estatística das distribuições de níveis de catalase e glutathione, utilizou-se primeiramente o teste ANOVA (DUNN; CLARK et al., 1974). A escolha do teste ANOVA sucedeu-se após a execução do teste de Shapiro (SHAPIRO; WILK, 1965) para verificar se os dados provavelmente seguem uma distribuição normal (gaussiana). A Tabela 2 mostra os p-valores obtidos para os testes de Shapiro para cada distribuição de níveis de glutathione e catalase por grupos de análise. Observa-se que todos os p-valores obtidos foram maiores do que 0.05, o que indica que os dados coletados provavelmente seguem uma distribuição normal.

Tabela 2 – Valores do teste de Shapiro para verificar se os dados utilizados provavelmente seguem uma distribuição normal.

	Glutathione	Catalase
Controle	<i>p</i> -valor=0.4487	<i>p</i> -valor=0.6065
PCH	<i>p</i> -valor=0.4374	<i>p</i> -valor=0.1546
PCT	<i>p</i> -valor=0.3532	<i>p</i> -valor=0.4429

Após a execução dos testes ANOVA, em caso de se obter um p-valor significativo para as distribuições analisadas, executou-se um teste *post-hoc Tukey HSD* (ABDI; WILLIAMS, 2010), cujo objetivo é identificar em comparações par a par quais os grupos de análise que diferem com uma significância estatística em relação aos demais. Os testes Tukey HSD e ANOVA são robustos contra o erro estatístico *Tipo I* que se refere ao aumento das chances de erro quando se executam vários testes *t-student*, por exemplo (SIMES, 1986).

Todos os testes estatísticos foram executados utilizando a ferramenta R. A ferramenta R é uma biblioteca de métodos estatísticos robusta e de código aberto amplamente utilizada pela comunidade científica.

4.7 Aspectos éticos

O estudo foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa - CEP do Hospital Universitário João de Barros Barreto, conforme Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, aprovado sob o parecer nº 527.470 e Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) nº 19060113.1.0000.0017. (Anexo A) E com autorização emitida pela Comissão de Análise de Projeto de Pesquisa-CAPP do Município de Belém-Pará em 01 de dezembro de 2015 (Anexo B).

¹ [<https://www.r-project.org/>](https://www.r-project.org/)

5. RESULTADOS

A partir da revisão da literatura sobre Reações Adversas a medicamentos antituberculosos, realizada em 2015 foi possível constatar que o comprometimento hepático está entre as reações adversas de maior incidência associada aos medicamentos anti-TB no cenário brasileiro, e que as reações adversas durante o tratamento da tuberculose são um dos principais fatores associados ao abandono. E dentre as reações adversas hepáticas, destaca-se a hepatotoxicidade como a de maior gravidade. Esta revisão foi submetida para publicação como Artigo tendo seu aceite na *International Journal of Clinical Toxicology* (Apêndice B)

A coleta das amostras ocorreu no período de abril de 2015 a abril de 2016. Neste período foram obtidas 18 amostras. Sendo nove amostras de paciente atendidos no ambulatório do HUIBB com hepatotoxicidade pelos medicamentos anti-TB e nove amostras de pacientes atendidos na UBS do Guamá sem hepatotoxicidade, mas em terapia com medicamentos anti-TB e dez amostras de voluntários saudáveis sem uso de medicamentos anti-tb.

As amostras dos pacientes com hepatotoxicidade foram obtidas na sua maioria dos pacientes atendidos no Ambulatório de Referência secundária de Clínica de Pneumologia do HUIBB. Dos 652 pacientes atendidos no ambulatório, 11 evoluíram com quadro de hepatotoxicidade no período da coleta da amostra, somente sete pacientes participaram da pesquisa conforme os critérios de inclusão. Duas amostras foram obtidas de dois pacientes com hepatotoxicidade internados na Clínica de Pneumologia.

A Tabela 3 caracteriza os grupos da pesquisa considerando os tipos de tuberculose e o esquema de terapia anti-TB utilizada. Já a Tabela 4 caracteriza os grupos de participantes da pesquisa pelo Gênero e Idade. A Tabela 5 mostra os limites de TGO e TGP da população atendida no Ambulatório de Referência do HUIBB que foi selecionada para a pesquisa pela apresentação da hepatotoxicidade.

Tabela 3 – Caracterização dos pacientes em terapia com medicamento anti-TB.

Belém (PA) – 2016

Tipo da	Com hepatotoxicidade			Sem hepatotoxicidade		
	Homens	Mulheres	Esquema	Homens	Mulheres	Esquema
TB pulmonar	4	1	RHZE	6	3	RHZE
TB miliar	1	0	RHZE	0	0	-
TB latente	0	1	H	0	0	-
TB pleural	0	1	RHZE	0	0	-
TB laríngea	1	0	RHZE	0	0	-
Total	6	3		6	3	

Tabela 4 – Perfil dos participantes da pesquisa. Belém (PA) – 2016

Variáveis	Com hepatotoxicidade (%)	Sem hepatotoxicidade (%)	Saudáveis (%)
Gênero			
FEM	3 (33,3%)	3 (33,3%)	8 (80)
MAS	6 (67,7%)	6 (67,7%)	2 (20)
Total	9 (100%)	9 (100)	10 (100)
Idade			
18-30	5 (55,6%)	2 (22,2%)	8 (80%)
31-40	1 (11,1%)	3 (33,3%)	2 (20%)
41-50	1 (11,1%)	3 (33,3%)	-
> 50	2 (22,2%)	1 (11,1%)	-
Total	9 (100%)	9 (100%)	10 (100%)

Tabela 5 – Valores de TGO e TGP. Belém (PA) – 2016

Valores	Com hepatotoxicidade		Sem hepatotoxicidade	
	TGO (%)	TGP (%)	TGO (%)	TGP (%)
≤LSN	3 (33,3)	0 (0)	9 (100)	9 (100)
>LSN ≤ 2X LSN	2 (22,2)	3 (33,3)	0 (0)	0 (0)
≥ 2X LSN	3 (33,3)	3 (33,3)	0 (0)	0 (0)
≥ 3X LSN	1 (11,1)	2 (22,2)	0 (0)	0 (0)
≥ 5X LSN	0 (0)	1 (11,1)	0 (0)	0 (0)
	9 (100)	9 (100)	9 (100)	9 (100)

As amostras dos pacientes com hepatotoxicidade (PCH) foram pareadas com as amostras dos pacientes em tratamento com medicamentos anti-TB (PCT) coletadas na US do Guamá e com as das pessoas saudáveis (Controle). Os Boxplots das Figuras 6 e 7 mostram as distribuições dos níveis de Glutathione e atividade da enzima Catalase nos grupos analisados. Observa-se que as distribuições dos níveis de Glutathione não foram significativamente diferentes. Embora as medianas para o Grupo de PCH, PCT e controle tenham sido diferentes: 227 nmol/mL, 236 nmol/mL e 221, respectivamente, obteve-se um p-valor de 0.5657 (não significativo) ao executar-se o teste ANOVA. Em contrapartida, as distribuições dos níveis da Catalase foram significantes. A distribuição da atividade da catalase para o grupo PCT é visivelmente mais elevada que aos demais grupos. Por sua vez, o grupo PCH apresenta uma distribuição de níveis

de catalase maior que o grupo controle. De fato, ao se executar o teste ANOVA, obteve-se um p-valor estatisticamente significativo de $1.093e-09$. Por conta disto, executou-se o teste post-hoc Tukey HSD para verificar a significância estatística das diferenças entre os grupos de maneira par a par. O grupo PCT apresentou diferenças estatisticamente significativas quando comparado com os demais grupos (p-valores de $<0,0001$), enquanto que ao se comparar os grupos PCH e controle, obteve-se um p-valor não significativo de 0.81. Os grupos controle, PCH e PCT apresentam medianas de níveis de glutatona com valores de 221, 227 e 236, respectivamente.

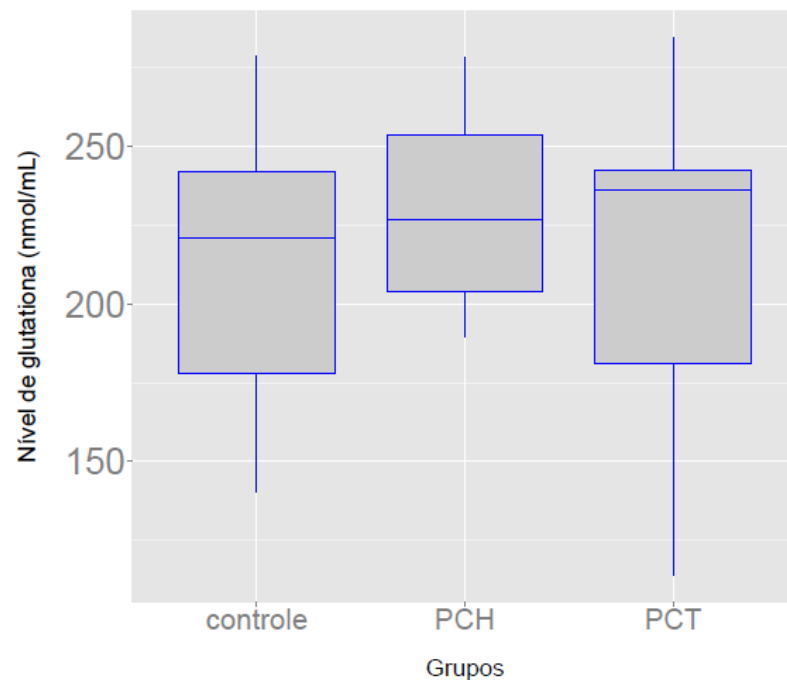


Figura 6 – Distribuições dos níveis de glutatona nos grupos analisados.

Tais resultados, em uma primeira análise, sugerem uma inexistente relação entre os níveis de antioxidantes com o desenvolvimento da hepatotoxicidade. Contudo, ao considerar-se que os medicamentos anti-TB devem ser suspensos quando se identifica que um paciente evoluiu para um quadro de intolerância e ou hepatotoxicidade (EPIDEMIOLOGICA, 2011), tal procedimento pode explicar o motivo pelo qual as distribuições de antioxidantes no grupo PCH não foram estatisticamente diferentes (embora maiores) em relação ao grupo controle tanto em termos de níveis de glutatona quanto da atividade da catalase. Por exemplo, a suspensão dos medicamentos anti-TB também pode causar a diminuição da produção de metabólitos reativos, o que pode causar a não produção de altos níveis de antioxidantes. Já a alta atividade da catalase

observados no grupo PCT podem ser explicados pela continuidade do uso dos medicamentos anti-TB, ou seja, pela produção de metabólitos reativos.

Outro fator que pode influenciar os resultados observados é o tamanho das amostras utilizadas na presente pesquisa. Por exemplo, é interessante perceber que as medianas de níveis de antioxidantes tanto em termos de glutathiona quanto em termos de catalase são maiores que as do grupo controle, embora sem uma significância estatística.

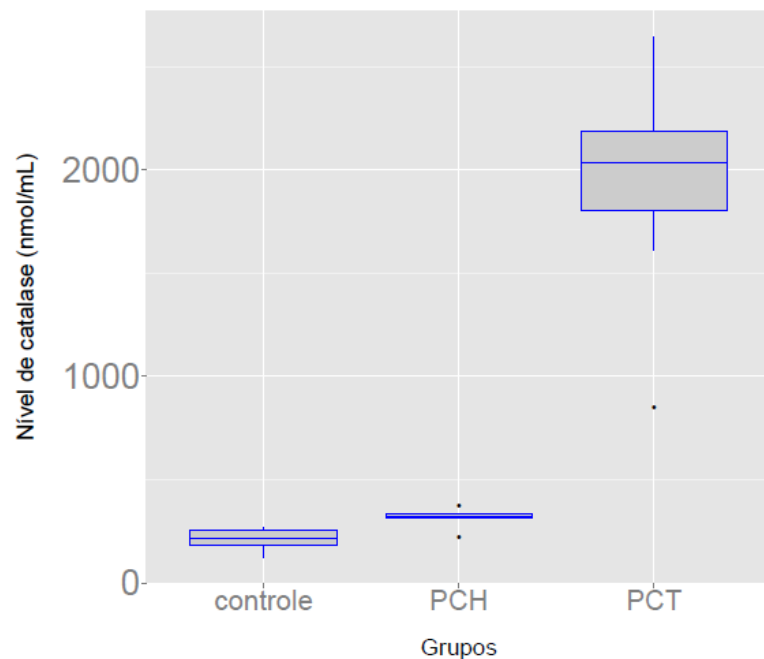


Figura 7 – Distribuições da atividade da catalase nos grupos analisados.

Os grupos, controle, PCH e PCT apresentam medianas de níveis de catalase com valores de 213, 319 e 2.035, respectivamente. É possível que o aumento destas amostras em pesquisas futuras podem resultar em, de fato, diferenças significativas entre os grupos e esclarecer mais aspectos da possível relação entre a agressão dos medicamentos anti-TB e o papel do estresse oxidativo na indução para o quadro de hepatotoxicidade. No mais, é interessante observar que os níveis de Catalase são consideravelmente superiores nos pacientes que estão sob o efeito dos medicamentos anti-TB e essas diferenças podem resultar também pelas características individuais de cada sujeito participantes desta pesquisa.

6. DISCUSSÃO

Primeiramente será discutido a questão da hepatotoxicidade dos medicamentos produzidos pela terapia anti-tb, uma vez que a presente pesquisa utiliza as drogas do esquema de primeira linha de tratamento para TB (Seção 6.1). Posteriormente, serão relacionados trabalhos em que a hepatotoxicidade produzida como resultado das espécies reativas pelos metabólitos dos medicamentos anti-TB terão envolvimento com o estresse oxidativo (Seção 6.2). Finalmente, serão relacionados os trabalhos que investigaram o estresse oxidativo pelos medicamentos anti-tb através das enzimas antioxidantes (Seção 6.3). Nesta última seção, a contribuição realizada pela presente pesquisa é destacada.

6.1 Hepatotoxicidade

O tratamento medicamentoso de primeira linha (rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol – RHZE) é o esquema atualmente utilizado na terapia da Tuberculose e se apresenta na forma de um único comprimido com quatro drogas com doses fixas combinadas. Este tratamento tem eficácia superior a 95% principal estratégia terapêutica para o controle da Tuberculose, em doentes suscetíveis aos medicamentos. Esse esquema introduzido em 2009 tem como o objetivo reduzir a resistência primária à associação de isoniazida e rifampicina e de melhorar a adesão ao tratamento, no entanto, as reações adversas durante o tratamento (RAM) da TB são um dos principais fatores associados ao abandono dessa terapia (EPIDEMIOLOGICA, 2011; ARBEX et al., 2010; RESENDE; SANTOS-NETO, 2015).

A Revisão Sistemática realizada por (RESENDE; SANTOS-NETO, 2015) demonstram como resultados associações significativas de RAM, como fatores de risco, a idade, sexo, esquema de tratamento, alcoolismo, coinfeção pelo HIV, fatores genéticos e deficiências nutricionais. E que os fatores individuais tais como a presença do fenótipo acetilador rápido/intermediário de NAT2, idade maior ou igual a 35 anos e sexo masculino são fatores de proteção contra RAM hepáticas nos pacientes em tratamento com anti-TB. As RAM hepáticas foram temas do presente estudo considerando a hepatotoxicidade e a participação do Estresse Oxidativo, e dentre os 9 pacientes incluídos no estudo, seis eram do gênero masculino, e três do gênero feminino, dentre essa população oito pacientes utilizavam o esquema RHZE para tratamento da Tuberculose ativa e apenas um utilizava isoladamente a Isoniazida para a Profilaxia da Tuberculose Latente.

6.2 Medicamentos anti-TB e Radicais Livres

Os esquemas terapêuticos dos anti-TB, apresentam grande eficácia, porém, estudos mostram que os fármacos utilizados podem produzir interações medicamentosas indesejáveis entre si ou com outros medicamentos em uso pelo paciente, assim como reações adversas que podem apresentar diferentes graus de severidade. A incidência de hepatotoxicidade induzida durante o tratamento padronizado da TB tem variado entre 2% a 28%. É sabido que a isoniazida, rifampicina e pirazinamida são conhecidas por causa da hepatotoxicidade, enquanto o etambutol é considerado não hepatotóxico (EPIDEMIOLOGICA, 2011; ARBEX et al., 2010; RESENDE; SANTOS-NETO, 2015; RAMAPPA; AITHAL, 2013; COCA et al., 2010; NADER et al., 2010). RAMAPPA e AITHAL (RAMAPPA; AITHAL, 2013) e TOSTMANN, Alma et al. (TOSTMANN et al., 2008).

Nas revisões sobre a hepatotoxicidade induzida pelos medicamentos anti-TB (HITB), mostram que a INH é a droga mais associada com a toxicidade, e quando utilizada como monoterapia no tratamento da infecção latente (Tuberculose latente), a incidência da hepatotoxicidade varia entre 0,1% -0,56%. E que a hepatotoxicidade pela isoniazida não é o resultado de uma reação de hipersensibilidade ou alérgica, mas provavelmente por metabólitos tóxicos. Sendo que a TB ativa como usualmente é tratada com uma associação de drogas, os dados sobre as taxas de toxicidade individualmente são limitados. A maioria dos anti-TB são lipossolúveis e para serem excretados necessitam durante a biotransformação se metabolizados em componentes hidrossolúveis, no geral por reações de fase I e fase II. Na reação de fase I, oxidação ou desmetilação ocorrem, usualmente realizados pelo citocromo P450 (CYP450) este componente ainda não é muito solúvel em água e necessita de um metabolismo posterior. Reações de fase I frequentemente produzem intermediários tóxicos.

Estudos genéticos humanos tem demonstrado que o citocromo P450 (CYP2E1) está envolvido na HITB (ZHAI et al., 2008; POSSUELO et al., 2008; ATTRI et al., 2000). Estudos sobre HITB envolvendo estresse oxidativo estão ainda em debate. É sabido que o Estresse oxidativo resulta do desbalanço entre os oxidantes e os antioxidantes a favor dos oxidantes. No presente estudo realizou-se as análises dos antioxidantes Glutathione e Catalase para avaliar a participação do Estresse Oxidativo na hepatotoxicidade em pacientes que utilizavam a terapia RHZE e Isoniazida para Tuberculose ativa e Tuberculose latente respectivamente.

6.3 Medicamentos anti-TB e Estresse Oxidativo

TOSTMANN, Alma et al. (TOSTMANN et al., 2008) relata em sua revisão vários estudos realizados em ratos indicando a existência de estresse oxidativo pelos níveis reduzidos de glutathione e atividade reduzida de catalase envolvidos na hepatotoxicidade após administração de isoniazida ou hidrazina. Ao contrário do presente estudo os resultados sugerem uma inexistente relação entre os níveis de antioxidantes com o desenvolvimento da hepatotoxicidade, considerando as distribuições dos níveis de Glutathione que não foram significativamente diferentes, com um p-valor de 0.5657 (não significativo). Nosso estudo, porém, apenas um esquema utilizava a isoniazida isoladamente dentre a população de nove pacientes que utilizava na sua maioria o esquema RHZE.

O valor encontrado para glutathione no presente estudo difere também do estudo realizado em pacientes com hepatotoxicidade por CHOWDHUFW, ABHIJIT et al. (CHOWDHUFW et al., 2001) em que o resultado nos menores níveis plasmáticos de glutathione e maiores níveis de malonaldeído possivelmente tenham sido associado ao estresse oxidativo causado pela terapia anti-TB. Diferente do nosso estudo, CHOWDHUFW, ABHIJIT et al realizou as análises tendo como espécime biológica o plasma. Além disso, diferentemente do trabalho anterior (CHOWDHUFW, ABHIJIT et al), neste trabalho foram empregados testes estatísticos que consideram a diferença das médias de três grupos de forma conjunta.

7. CONCLUSÃO

No presente estudo, sobre o papel do Estresse Oxidativo na hepatotoxicidade pelos medicamentos anti-TB a partir das atividades das enzimas antioxidantes Glutathiona e Catalase. Conclui-se que:

- A mediana dos níveis de antioxidantes da glutathiona para o grupo PCT foi maior, e não se observou uma significância diferença estatística ao aplicar o teste ANOVA.
- As distribuições da atividade da Catalase na população de pacientes com TB nos grupos que evoluíram com hepatotoxicidade (PCH) e os que evoluíram sem hepatotoxicidade (PCT) foram aumentadas quando comparados com os voluntários saudáveis. Particularmente, observou-se uma diferença estatisticamente significativa da atividade da catalase no grupo (PCT) em relação aos demais grupos.

Os resultados sugerem que o estresse oxidativo é influenciado pelos metabólitos gerados pela terapia de medicamentos anti-tb. E pesquisas com mais amostras e investigações de mais variáveis explanatórias (tais como tempo de terapia, uso de álcool e tempo que o medicamento foi suspenso), são encorajadas.

REFERÊNCIAS

- ABDI, H.; WILLIAMS, L. J. Tukey's honestly significant difference (hsd) test. *Encyclopedia of Research Design*. Thousand Oaks, CA: Sage, p. 1–5, 2010. Cited on page 29.
- ARBEX, M. A. et al. Drogas antituberculose: Interações medicamentosas, efeitos adversos e utilização em situações especiais. parte 1: Fármacos de primeira linha. *J Bras Pneumol*, v.36, n. 5, p. 626–640, 2010. Cited 6 times on pages 16, 17, 18, 21, 34 e 35.
- ATTRI, S. et al. Isoniazid–and rifampicin–induced oxidative hepatic injury–protection by n–acetylcysteine. *Human & experimental toxicology*, Sage Publications, v. 19, n. 9, p. 517–522, 2000. Cited 2 times on pages 22 e 35.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. nutr.*, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010. Cited 2 times on pages 21 e 22.
- BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMANN, B. C. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman-12*. [S.l.]: AMGH Editora, 2012. Cited on page 14.
- CHOWDHUFW, A. et al. Induction of oxidative stress in antitubercular drug-induced hepatotoxicity. 2001. Cited on page 36.
- CHOWDHURY, A. et al. Mitochondrial oxidative stress and permeability transition in isoniazid and rifampicin induced liver injury in mice. *Journal of hepatology*, Elsevier, v. 45, n. 1, p. 117–126, 2006. Cited on page 14.
- COCA, N. S. M. et al. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: a comparison between patients with and without human immunodeficiency virus seropositivity. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, SciELO Brasil, v.43, n. 6, p. 624–628, 2010. Cited 2 times on pages 18 e 35.
- COSTA, M. et al. Tuberculose: Uma revisão de literatura. *REFACER-Revista Eletrônica da Faculdade de Ceres*, v. 2, n. 1, 2013. Cited on page 13.
- CREVEL, R. V.; OTTENHOFF, T. H.; MEER, J. W. van der. Innate immunity to mycobacterium tuberculosis. *Clinical microbiology reviews*, Am Soc Microbiol, v. 15, n. 2, p. 294–309, 2002. Cited on page 13.
- DEISSEROTH, A.; DOUNCE, A. L. Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiological reviews*, Am Physiological Soc, v.50, n. 3, p. 319–375, 1970. Cited on page 23.
- DOUGLAS, J. G.; MCLEOD, M.-J. Pharmacokinetic factors in the modern drug treatment of tuberculosis. *Clinical pharmacokinetics*, Springer, v. 37, n. 2, p. 127–146, 1999. Cited on page 20.
- DUNN, O. J.; CLARK, V. A. et al. Applied statistics: analysis of variance and regression. JSTOR, 1974. Cited on page 28.

ELLARD, G. Variations between individuals and populations in the acetylation of isoniazid and its significance for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Clinical pharmacology and therapeutics*, v. 19, n. 5 Pt 2, p. 610–625, 1976. Cited on page 20.

EPIDEMIOLOGICA, M. da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de V. *Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil*. [S.l.]: Ministério da Saúde Brasília, 2011. Cited 6 times on pages 19, 21, 27, 32, 34 e 35.

FERNANDEZ-VILLAR, A. et al. The influence of risk factors on the severity of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, v. 8, n. 12, p. 1499–1505, 2004. Cited on page 14.

FLYNN, J. L.; CHAN, J. Immunology of tuberculosis. *Annual review of immunology*, Annual Reviews 4139 El Camino Way, PO Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA, v. 19, n. 1, p. 93–129, 2001. Cited on page 13.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. *Free radicals in biology and medicine*. [S.l.]: Oxford University Press, USA, 2015. Cited 3 times on pages 21, 22 e 23.

HICKS, J. J.; TORRES-RAMOS, Y. D.; SIERRA-VARGAS, M. P. Estrés oxidante. concepto y clasificación. 2006. Cited 2 times on pages 21 e 22.

KASHUBA, A. D. et al. Quantitation of three-month intraindividual variability and influence of sex and menstrual cycle phase on cyp1a2, n-acetyltransferase-2, and xanthine oxidase activity determined with caffeine phenotyping. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, Wiley Online Library, v. 63, n. 5, p. 540–551, 1998. Cited on page 20.

KNOWLES, S. R.; UETRECHT, J.; SHEAR, N. H. Idiosyncratic drug reactions: the reactive metabolite syndromes. *The Lancet*, Elsevier, v. 356, n. 9241, p. 1587–1591, 2000. Cited on page 19.

KUMAR, R. et al. Antituberculosis therapy-induced acute liver failure: Magnitude, profile, prognosis, and predictors of outcome. *Hepatology*, Wiley Online Library, v. 51, n. 5, p. 1665–1674, 2010. Cited on page 14.

LIMA, M. d. F. S. d.; MELO, H. R. L. d. Hepatotoxicity induced by antituberculosis drugs among patients coinfecting with hiv and tuberculosis. *Cadernos de Saúde Pública*, SciELO Public Health, v. 28, n. 4, p. 698–708, 2012. Cited on page 18.

MACIEL, M. de S. et al. A história da tuberculose no brasil: os muitos tons (de cinza) da miséria. *Rev Bras Clin Med. São Paulo*, v. 10, n. 3, p. 226–30, 2012. Cited on page 16.

MACKMAN, N. Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, Am Heart Assoc, v. 24, n. 6, p. 1015–1022, 2004. Cited on page 22.

MADDREY, W. C. Drug-induced hepatotoxicity: 2005. *Journal of clinical gastroenterology*, LWW, v. 39, n. 4, p. S83–S89, 2005. Cited on page 14.

MCCORD, J. M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *Journal of Biological chemistry*, ASBMB, v. 244, n. 22, p. 6049–6055, 1969. Cited on page 22.

MITCHELL, C. et al. *Robins & Cotran Patologia–Bases Patológicas das doenças*. [S.l.]: São Paulo: Elsevier, 2012. Cited 3 times on pages 14, 21 e 23.

NADER, L. A. et al. Hepatotoxicity due to rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in patients with tuberculosis: is anti-hcv a risk factor. *Ann Hepatol*, v. 9, n. 1, p. 70–74, 2010. Cited 2 times on pages 18 e 35.

NAVARRO, V. J.; SENIOR, J. R. Drug-related hepatotoxicity. *New England Journal of Medicine*, Mass Medical Soc, v. 354, n. 7, p. 731–739, 2006. Cited on page 27.

NICOLETTI, N. F. Efeito protetor do resveratrol na hepatotoxicidade induzida por fármacos anti-tuberculose isoniazida e rifampicina em camundongos. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2010. Cited 4 times on pages 14, 18, 19 e 20.

ORGANIZATION, W. H. *Treatment of tuberculosis: guidelines*. [S.l.]: World Health Organization, 2010. Cited 3 times on pages 16, 17 e 18.

ORGANIZATION, W. H. Global tuberculosis control 2011: Who report 2011. *Geneva: World Health Organization*, 2011. Cited on page 13.

POSSUELO, L. et al. Association of slow n-acetyltransferase 2 profile and anti-tb drug-induced hepatotoxicity in patients from southern brazil. *European journal of clinical pharmacology*, Springer, v. 64, n. 7, p. 673–681, 2008. Cited 2 times on pages 18 e 35.

RAMAPPA, V.; AITHAL, G. P. Hepatotoxicity related to anti-tuberculosis drugs: mechanisms and management. *Journal of clinical and experimental hepatology*, Elsevier, v. 3, n. 1, p. 37–49, 2013. Cited 3 times on pages 14, 18 e 35.

RESENDE, L. S. O.; SANTOS-NETO, E. T. dos. Fatores de risco associados às reações adversas a medicamentos antituberculose. *J Bras Pneumol*, v. 41, n. 1, p. 77–89, 2015. Cited 3 times on pages 15, 34 e 35.

REY, E. et al. Isoniazid pharmacokinetics in children according to acetylator phenotype. *Fundamental & clinical pharmacology*, Wiley Online Library, v. 15, n. 5, p. 355–359, 2001. Cited on page 20.

SALLES, C. G. et al. Efeitos adversos hepáticos durante o tratamento para tuberculose em hospital geral referência para aids, rj, brasil. *Pulmão RJ*, v. 11, n. 3, p. 138–144, 2002. Cited on page 18.

SCHISLER, N.; SINGH, S. Inheritance and expression of tissue-specific catalase activity during development and aging in mice. *Genome*, NRC Research Press, v. 29, n. 5, p. 748–760, 1987. Cited on page 23.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, JSTOR, v. 52, n. 3/4, p. 591–611, 1965. Cited on page 28.

SHARMA, S. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity. *Infection, genetics and evolution*, Elsevier, v. 4, n. 2, p. 167–170, 2004. Cited on page 20.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American journal of medicine*, Elsevier, v. 91, n. 3, p. S31–S38, 1991. Cited on page 21.

SILVA, A. M. Q. da et al. Reações adversas a medicamentos como causa de admissão em um hospital universitário de belém–pará. *Rev. Bras. Farm. Hosp. Serv. Saúde São Paulo* v, v. 5, n. 2, p. 30–33, 2014. Cited on page 18.

SIMES, R. J. An improved bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika*, Biometrika Trust, v. 73, n. 3, p. 751–754, 1986. Cited on page 29.

SIQUEIRA, H. de et al. O tratamento atual da tuberculose (para adolescentes e adultos) comentado. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto*, v. 9, n. 2, 2010. Cited 2 times on pages 18 e 19.

SKAKUN, N.; SHMAN'KO, V. [synergistic effect of rifampicin on hepatotoxicity of isoniazid]. *Antibiotiki i meditsinskaia biotekhnologiia= Antibiotics and medical biotechnology/Ministerstvo meditsinskoi promyshlennosti SSSR*, v. 30, n. 3, p. 185–189, 1985. Cited on page 20.

SOHAL, R. S.; WEINDRUCH, R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*, American Association for the Advancement of Science, v. 273, n. 5271, p. 59–63, 1996. Cited on page 21.

SOUZA, M. V. N. de; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. *Química Nova*, POLIMERO ISOLUVEL, v. 28, n. 4, p. 678, 2005. Cited on page 16.

SWITALA, J.; LOEWEN, P. C. Diversity of properties among catalases. *Archives of biochemistry and biophysics*, Elsevier, v. 401, n. 2, p. 145–154, 2002. Cited on page 23.

TEMPLE, M. D.; PERRONE, G. G.; DAWES, I. W. Complex cellular responses to reactive oxygen species. *Trends in cell biology*, Elsevier, v. 15, n. 6, p. 319–326, 2005. Cited on page 21.

THORPE, G. W. et al. Cells have distinct mechanisms to maintain protection against different reactive oxygen species: oxidative-stress-response genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Acad Sciences, v. 101, n. 17, p. 6564–6569, 2004. Cited on page 21.

TIMBRELL, J.; PARK, B.; HARLAND, S. A study of the effects of rifampicin on isoniazid metabolism in human volunteer subjects. *Human toxicology*, v. 4, n. 3, p. 279–285, 1985. Cited on page 18.

SOHAL, R. S.; WEINDRUCH, R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science*, American Association for the Advancement of Science, v. 273, n. 5271, p. 59–63, 1996. Cited on page 21.

SOUZA, M. V. N. de; VASCONCELOS, T. R. A. Fármacos no combate à tuberculose: passado, presente e futuro. *Química Nova*, POLIMERO ISOLUVEL, v. 28, n. 4, p. 678, 2005. Cited on page 16.

SWITALA, J.; LOEWEN, P. C. Diversity of properties among catalases. *Archives of biochemistry and biophysics*, Elsevier, v. 401, n. 2, p. 145–154, 2002. Cited on page 23.

TEMPLE, M. D.; PERRONE, G. G.; DAWES, I. W. Complex cellular responses to reactive oxygen species. *Trends in cell biology*, Elsevier, v. 15, n. 6, p. 319–326, 2005. Cited on page 21.

THORPE, G. W. et al. Cells have distinct mechanisms to maintain protection against different reactive oxygen species: oxidative-stress-response genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Acad Sciences, v. 101, n. 17, p. 6564–6569, 2004. Cited on page 21.

TIMBRELL, J.; PARK, B.; HARLAND, S. A study of the effects of rifampicin on isoniazid metabolism in human volunteer subjects. *Human toxicology*, v. 4, n. 3, p. 279–285, 1985. Cited on page 18.

TOSTMANN, A. et al. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. *Journal of gastroenterology and hepatology*, Wiley Online Library, v. 23, n. 2, p. 192–202, 2008. Cited on page 35.

VIEIRA, D. E. O.; GOMES, M. Efeitos adversos no tratamento da tuberculose: experiência em serviço ambulatorial de um hospital-escola na cidade de são paulo. *J Bras Pneumol*, v. 34, n. 12, p. 1049–55, 2008. Cited on page 18.

ZHAI, Q. et al. Oxidative stress potentiated by diallylsulfide, a selective cyp2e1 inhibitor, in isoniazid toxic effect on rat primary hepatocytes. *Toxicology letters*, Elsevier, v. 183, n. 1, p. 95–98, 2008. Cited 2 times on pages 14 e 35

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título do projeto: “ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM HEPATOTOXICIDADE AOS MEDICAMENTOS ANTI-TB”.

- 1- Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo que visa avaliar a hepatotoxicidade com o desenvolvimento do estresse oxidativo e comparar com indivíduos que utilizaram medicamentos anti-tuberculose e não desenvolveram hepatotoxicidade e indivíduos controles;
- 2- Será colhida amostra de 05 ml de sangue total de cada participante, usando 01 tubo de ensaio, de 05ml, o qual será utilizado para a análise da atividade das enzimas envolvidas no processo de oxidação celular no laboratório do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará;
- 3- Não há benefício direto para o participante, pois se trata de um estudo prospectivo que testa a hipótese de que o estresse oxidativo está associado a hepatite medicamentosa nos pacientes em tratamento com tuberculostáticos;
- 4- RISCOS: Os pacientes **esto** inseridos na rotina do atendimento ambulatorial e as condições de coleta do material serão realizadas de acordo com os padrões do laboratório de análise clínica do hospital. Assim, quanto a exposição da identificação dos participantes da pesquisa será mantida em sigilo, e a coleta poderá causar desconforto, visto a necessidade da coleta ser por via intravenosa;
- 5- Todos os indivíduos participantes terão acesso em qualquer etapa do estudo aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal pesquisador é a **Farmacêutica Maria Heliana Alencar da Costa**, a qual pode ser encontrada no endereço Rua dos Mundurucus, 4487. FONE: 32016685; Caso você tenha alguma dúvida ou considerações sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua dos Mundurucus, 4487. FONE 3201 6754. E-mail: cepujbb@ufpa.br;
- 6- As informações obtidas serão analisadas, não sendo divulgadas a identificação de nenhum paciente;
- 7- O paciente terá o direito de querer ser mantido atualizado sobre os resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;
- 8- Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há recompensa financeira relacionada à sua participação;

9- A **Dra. Maria Heliana Alencar da Costa**, se compromete de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Hepatotoxicidade e Estresse oxidativo em pacientes em terapia com medicamentos anti-tuberculose”

Assinatura do paciente/controlador

Belém, ___ / ___ / ____

Assinatura de quem coletou o material ou TCLE

Belém, ___ / ___ / ____

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente para a sua participação neste estudo.

Maria Heliana Alencar da Costa

APÊNDICE B – Artigo de Revisão sobre Hepatotxicidade aos Medicamentos Anti-TB

International Journal of Clinical Toxicology, 2016, 4, 00-00

1

Adverse Reactions Associated with Anti-Tuberculosis Drug Treatments in Brazilian Setting

M.H.A. da Costa, B.R.P. dos Santos, N.S. Malcher, N.P.S. De Riz, L.I.V. Quaresma, M.E. Crespo-Lopez, C.B.C. de Sena and B.M. Macchi and J.L.M. do Nascimento

Avenida Augusto Corrêa Nº 1, Guamá, Belém, Pará, CEP 66075-110, Brasil

Abstract: In this study, we reviewed current evidence to identify the events associated with adverse drugs reactions (ADRs) to tuberculosis used in Brazil. Therefore, we performed a review of different types of ADRs as well as risk factors and study types. A search (in Portuguese and English) was performed of the Virtual Health Library (VHL) and provides access to literature published from October 1996 to December 2014. A review of Brazilian studies has shown that patients using anti-TB drugs are vulnerable to a variety and number of adverse effects. We identified 22 studies from VHL. Among the rates of ADRs, hepatic adverse events were the most frequently reported (at a rate of 0.77 to 72.8%). Hepatotoxicity was noted in 19 studies, with an incidence of 12.1% among patients who underwent anti-TB therapy. Other risk factors such as gastrointestinal and skin reactions were reported in 77.2% of the studies, demonstrating that the adverse effects of anti-TB drugs could cause significant adverse effects both in quantity and severity as well as hospitalization and prolonged hospital stays.

Keywords: Tuberculosis, Anti-tuberculosis drugs, Adverse drugs reactions, Brazilian setting.

1. INTRODUCTION

Tuberculosis (TB) is prevalent in many parts of the world and it affects millions of people each year. In 2014, approximately 6.1 million cases of TB were reported by the World Health Organization (WHO). According to this data, 5.7 million people were newly diagnosed, and 0.4 million were previously treated. The TB is an important infectious disease due to its high mortality rate and associated opportunistic infections. Therefore, TB is the second major cause of death worldwide, following human immunodeficiency virus (HIV). Brazil, Russia, India, China and South Africa (BRICS), collectively account for approximately 50% of global tuberculosis cases [1].

Brazil is a country with high endemic levels of disease and it is included in the list of 22 countries with the highest disease burdens worldwide. In addition, Brazil has cure rates below those recommended by the WHO. In 2014, approximately 67,966 new cases of tuberculosis were diagnosed. However, the disease prevalence has decreased from 41.5/100,000 inhabitants in 2005 to 33.5/100,000 inhabitants in 2014, which corresponds to an average reduction of 2.3% per year during this period. Nevertheless, in Brazil, there are approximately 73,000 new TB cases each year, and unfortunately, other obstacles, such as a high rate of treatment default and the existence of drug-resistant strains, are important dilemmas that must be addressed to improve the control of TB [2-4].

The preliminary results of the Second National Survey on Resistance to Anti-tuberculosis Treatment (anti-TB) in Brazil showed an increase in primary resistance to isoniazid (from 4.4% to 6.0%). In 2009, the Brazilian National Tuberculosis Control Program (Programa Nacional de Controle a Tuberculose, PNCT), including the scientific technical advisory committee of the National, created an action plan to combat tuberculosis and reviewed the TB treatment program. Then, ethambutol was introduced as a fourth drug in the intensive treatment phase (first two months) of the basic scheme. The pharmaceutical presentation of this scheme is a tablet (i.e., a fixed-dose combination of four drugs: rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol [RHZE]). The directly observed treatment (DOT), which is globally recognized and recommended by the PNCT, is a strategy for treatment adherence; it consists of daily observation of drug ingestion by a health care professional, and, in certain cases, by a family member, who directly follows up the patients to ensure the continuity of treatment. In such cases, the health professional should follow the weekly support treatment [1, 5].

Medications are effective against TB, and usually the benefits are more important than the side effects, but it is important to notice any adverse reactions from TB medication. In Brazil, the Ministry of Health divided the adverse reactions associated with anti-tuberculosis drugs into two major groups: a) minor adverse reactions in which it is not necessary to suspend the anti-TB medicine, and b) major adverse reactions that

*Address correspondence to this author at the Avenida Augusto Corrêa Nº 1, Guamá, Belém, Pará, CEP 66075-110, Brasil; Tel: +55 91 32017545; Fax: +55 91 32017602; E-mail: jmn@ufpa.br

commonly cause problems, such as rashes or moderate hypersensitivity to severe psychosis, seizures, toxic encephalopathy and coma, optic neuritis, hepatotoxicity, hearing loss, dizziness, nystagmus, thrombocytopenia, leukopenia, eosinophilia, hemolytic anemia, agranulocytosis, vasculitis, interstitial nephritis, rhabdomyolysis with myoglobinuria and kidney failure; in such cases, patients should not continue taking the medicine [5].

The drugs used to treat tuberculosis have interactions with one another and with other agents, thereby increasing the risk of hepatotoxicity. Treatment should be stopped when the enzyme values are three times their normal levels, at the appearance of symptoms, or as soon as jaundice manifests; in these cases, the patient should be referred to a secondary reference unit for clinical and laboratory monitoring, and the adequacy of treatment should be evaluated. Hepatotoxicity (toxic hepatitis) can occur in approximately 4.3% of patients, primarily when previously undetected liver *pathology* already exists. Abnormal liver is the major reason to stop TB treatment [6]. It can occur up to five months after the initiation of drug treatment, and it is important to know whether it is caused by direct toxicity or hypersensitivity. Hepatic failure usually regresses with discontinuation of the treatment [5, 7, 8].

Thus, the aim of this study was to review the available published scientific data concerning the adverse reactions, risk factors, study types and different types of ADRs associated with anti-TB drug treatment in a Brazilian setting

2. METHODS

This review was conducted to identify publications from the Virtual Health Library (VHL) which includes LILACS, IBECs, MEDLINE, COCHRANE Library, SCIELO, clinical trials, abstracts of systematic review and health technology assessment and provides access to all articles related to ADRs caused by anti-TB drugs in Brazil published until December 2014.

A number of sources provide cited references to published articles that were indexed in the Web of Science and were related to different aspects of TB in Brazil. We used a combination of the terms "TB and Brazil" as descriptors in English and Portuguese, as well as their corresponding terms in Portuguese

"Tuberculose e Brasil", and we provided specific instructions regarding the input of the title, keywords and abstracts from articles, cross-sectional studies, case-control clinical trials and cohort studies, additional author names and some author indices to facilitate the search.

2.1. Selection Criteria

In this review, we included all studies of patients with active or latent TB who showed adverse reactions and other side effects, regardless of the resistance pattern or other comorbidities. The research subjects were Brazilian patients (adults, children and seniors) who were identified as being eligible to participate in the various studies. In addition, this study included foreign patients who lived in Brazil and who had related adverse reactions, side effects, adverse effects and hepatotoxicity. This review excluded studies of patients with TB but with no events associated with ADRs due to the anti-TB drugs as well as animal studies; studies with only non-Brazilian patients, letters, case reports, seminars, summaries, organizational reports, opinions or editorial papers, book chapters were also excluded, as well as articles not written in English or Portuguese. In addition, we excluded duplicate articles, articles that were not related to the topic and studies reporting that ADR associated with BCG vaccinations.

2.2. Research Strategy: Data Extraction

Data extraction was performed independently by two investigators according to the inclusion criteria listed above. The third participant was consulted for discussion to reach agreement concerning discrepancies. Initially, in each database, the articles were selected according to their relevance by reading the titles and abstracts and, when necessary, the full texts. Thus, the relevant topics reported in most articles included an effective combination of search terms that described the results and were summarized in two topics or groups, with five tables. Topic 1 included general ADRs (Table 1 and Table 2) and topic 2 included hepatotoxicity (Table 3, Table 4 and Table 5). In Table 1, the study design refers to the overall strategy to integrate the different components of the study in a coherent and logical manner, the total number of patients and their demographics data (age, gender), and the patients who developed ADRs events, as well as the severity, causality, and preventability of ADRs events.

Table 1: Characteristics of ADR Studies

Author	Type of Study	Patients		Treatment Scheme	ADR			
		n (%F-%M)	Age Min-Max (Media)		Patients (n)	Events (n)	Symptoms*	
							Mild	Severe
Agoglia <i>et al.</i> 2011 [9]	Retrospective, Cross-section	376 (48-52)	- (38.4)	INH	5	5	-	hepatotoxicity
Cantalice-Filho <i>et al.</i> 2007 [10]	Retrospective, Case control	581 (32.7-67.3)	15-87 (38.5)	RMP, INH, PZA	204	216	nausea/vomiting, epigastric pain, abdominal pain, itch, exanthema, urticaria	drug-induced hepatitis, paresthesia, coma, convulsion
Coca <i>et al.</i> 2010 [11]	Retrospective, Case control	162 (27.8-72.2)	18-80 -	RMP, INH, PZA	118	125	nausea/vomiting, abdominal pain and hyporexia	hepatotoxicity
Conde <i>et al.</i> 2009 [12]	Clinical Trial	170 (38-62)	- (32)	RHZE, MOXIFLOXACIN	12	16	itch, rash, peripheral neuropathy	toxicity, paresthesia
Costa <i>et al.</i> 2012 [13]	Prospective, Cross-section	129 (37.2-62.8)	18-84 -	RHZE	54	63	gastrointestinal, skin and neuromuscular reactions	hepatotoxicity
Damasceno <i>et al.</i> 2013 [15]	Retrospective, Cross-section	176 (35.8-64.2)	1-85 (32.4)	RMP, INH, PZA	73	126	nausea/vomiting, epigastric pain, abdominal pain, itch, arthralgia, arthritis, sweat and urine orange, headache, euphoria, insomnia, anxiety, somnolence, peripheral neuropathy, fever	exanthema mild or severe, hepatotoxicity, thrombocytopenia, leukopenia, eosinophilia, hemolytic anemia, agranulocytosis, vasculitis
Souza <i>et al.</i> 1996 [16]	Cross-section	1096 (29.5-70.5)	- -	RMP, INH, PZA	66	66	-	liver injury
Lima e Melo 2012 [17]	Retrospective, Case control	156 (30.8-69.2)	25-49 -	ART, RMP, INH, PZA or ART, RHZE or ART, INH, STM, ETM	57	57	-	hepatotoxicity
Maciel <i>et al.</i> 2010 [18]	Prospective, Cross-section	79 (40.5-59.5)	18-45 -	RHZE, Piridoxin	79	226	joint pain, rash, acne, itch, epigastric pain, nausea/vomiting, headache, somnolence	less visual acuity, ocular irritation, hepatomegaly, insomnia, confusion, dizziness
Melo <i>et al.</i> 2003 [19]	Prospective, Cohort	182 (39.5-61.5)	16-64 -	RMP, INH, STM, ETM	11	-	-	-
Nader <i>et al.</i> 2010 [20]	Historical cohort	534 (24.9-75.1)	- (39.08)	RMP, INH, PZA	47	47	-	hepatotoxicity
Sampaio <i>et al.</i> 1997 [21]	Prospective, Cross-section	198 -	- (32)	ART, RMP, INH, PZA, Ketoconazole, Sulfamethoxazole +Trimethoprim	15	15	-	hepatotoxicity

(Table 1) Contd.....

Author	Type of Study	Patients		Treatment scheme	ADR			
		n (% F-% M)	Age Min-Max (Media)		Patients (n)	Events (n)	Symptoms*	
							Mild	Severe
Picon <i>et al.</i> 2011 [22]	Historical cohort	229 (27-73)	17-72 (38.3)	RMP, INH, PZA and STM, ETM, PZA, ETH	95	109	nausea/vomiting, epigastric pain, rash, joint pain, arthritis	deafness, buzz, dizziness, abnormal liver function, visual impairment
Possuelo <i>et al.</i> 2008 [23]	Prospective, Cohort	254 (33.1-66.9)	18-83 (36.5)	RMP, INH, PZA	47	-	gastrointestinal reactions	hepatotoxicity
Ribeiro e Matsui 2002 [24]	Prospective, Cross-section	141 (36.9-63.1)	- (38.1)	Uninformed	31	-	gastric intolerance	drug-induced hepatitis
Salles <i>et al.</i> 2002 [25]	Retrospective, Case control	588 -	- (14.75)	RMP, INH, PZA and/or ETM	40	40	-	hepatic adverse effects
Schechter <i>et al.</i> 2006 [26]	Clinical Trial	399 (60-40)	- (34)	RMP, INH and RMP, PZA	49	49	-	hepatotoxicity
Sterling <i>et al.</i> 2011 [27]	Prospective, Case control	7731 (55.5-54.5)	25-47 (35.5)	RMP, INH and INH	330	538	rash	hepatotoxicity, hypersensitivity
Teixeira <i>et al.</i> 2011 [28]	Prospective, Case control	167 -	- -	INH	26	26	-	drug-induced hepatitis
Onodera e Gomes 2008 [30]	Retrospective, Cross-section	297 (48-52)	16-79 (40.4)	RMP, INH, PZA	146	226	epigastric pain, arthralgia, nausea/vomiting, itch, peripheral neuropathy, acne, myalgia, arthritis, headache, insomnia	drug-induced hepatitis, exanthema, dizziness, less visual acuity

*As described by Classification of Health Ministry of Brazil (2011). Other reactions, which are not included in the manual, were not included in the table: dyscrasia, sanguine, anasarca, hyperglycemia, adrenal insufficiency, sparkling scotoma, hyperesthesia, hyporexia, diarrhea [10]; ataxia [12, 18]; memory loss, muscle pain, dyspnea, cough/ sore throat/ secretion, dysuria, petechia/bleeding, anemia, alopecia, myalgia, depression [18]; myalgia, loss of libido, tachycardia, alopecia, loss of memory [30]. Abbreviations: RHZE (rifampicin, isoniazid, pyrazinamide, ethambutol); RMP (rifampicin); INH (isoniazid); PZA (pyrazinamide); ETM (ethambutol); ETH (ethionamide); STM (streptomycin); ART (Antiretroviral Therapy).

Table 2: Incidence of Specific Adverse Effects

Adverse Effect	Incidence %
Liver (hepatotoxicity, liver lesions; drug-induced hepatitis, hepatomegaly)	72.84 [11]; 36.05 [17]; 14.37 [28]; 14.18 [24]; 11.53 [10]*; 8.80 [20]; 8.00 [30]; 7.60 [18]; 7.57 [21]; 6.80 [25]; 6.17 [9]**; 6.02 [16]; 5.51 [26]; 5.51 [23]; 3.10 [22]; 2.94 [12]; 1.70 [15]; 1.56 [27]; 0.77 [13]
Gastrointestinal (hyporexia, vomiting, epigastric pain, diarrhea, abdominal pain, loss of appetite)	62.00 [18]; 31.4 [22]; 22.35 [30]; 21.02 [15]; 18.60 [13]; 18.24 [10]; 13.00 [23]; 6.00 [11]; 5.67 [24]; 1.76 [12]
Cutaneous (rash, itch, exanthema, skin edema, irritation, acne, hypersensitivity, skin hyperpigmentation, alopecia)	124.05 [18]; 16.8 [30]; 13.06 [15]; 8.53 [13]; 2.94[12]; 2.80 [27]; 1.70 [22]
Articular/bone (arthralgia, arthritis, articular and/or bone edema)	84.81[18]; 14.14 [30]; 10.07 [13]; 7.38 [15]; 1.70 [22]
Neurologic (paresthesia, hyperesthesia, convulsion, sparking scotoma, ataxia, loss of memory, dizziness, tremors, confusion)	52.00 [18]; 4.82 [10]; 2.70 [30]; 1.17 [12]
Neuromuscular (peripheral neuropathy, motor deficit)	11.63 [13]; 5.00 [30]; 1.70 [15]; 0.58 [12]

(Table 2) Contd....

Adverse Effect	Incidence %
Ocular (eye irritation, loss visual acuity, light intolerance)	27.8 [18]; 1.30 [22]; 1.01 [30]
General symptoms (headache, fever, sweating)	22.80 [18]; 4.00 [15]; 1.01 [30]
Psychiatry / Behavioral (euphoria, insomnia, anxiety and sleepiness, depression, loss of libido)	22.78 [18]; 2.27 [15]; 1.01 [30]
Metabolic / Renal (edema, hyperglycemia, adrenal insufficiency, sweat and urine orange)	8.86 [18]; 3.40 [15]; 2.58 [10]
Muscular (muscle pain, limb pain, myalgia, weakness and/or asthenia)	49.37 [18]; 3.37[30]
Blood (thrombocytopenia, leukopenia, eosinophilia, hemolytic anemia, agranulocytosis, vasculitis, anemia, petechia and/or bleeding)	10.12 [18]; 1.13 [15]
Thoracic/Respiratory (thoracic pain, cough/sore throat/secretion, snoring and/or lung noise, dyspnea)	53.16 [18]
Hearing/vestibular	9.20 [22]
Immunologic (lymphadenomegaly, adenopathy)	7.60 [18]
Heart (tachycardia and/or palpitation)	0.33 [30]
Other reactions (unspecified in the study)	15.6 [15]; 6 [19]; 2.53 [27]; 2.2 [22]; 2.12 [24]

*Cantalice-Filho *et al.* [10] reported drug-induced hepatitis associated with other adverse reactions (itch, exanthema, urticaria, blood dyscrasia and anasarca (immunologic reactions).

**Agolia *et al.* [9] reported that 20% of patients who used anti-TB as prophylactic treatment had stopped the treatment due to the suspicion of hepatotoxicity without confirmation.

Table 3: Definitions of Hepatotoxicity inducible Drugs (HID)

Definition of HID	Study
AST and/or ALT > 3 times ULN	Coca <i>et al.</i> [11] (grade 2); Lima e Melo [17]; Nader <i>et al.</i> [20]; Vieira e Gomes [30]
AST and/or ALT > 3 times ULN + symptoms of hepatitis	Sampaio <i>et al.</i> [21]; Possuelo <i>et al.</i> [23]; Salles <i>et al.</i> [25]; Teixeira <i>et al.</i> [28]; Vieira e Gomes [30]
AST and/or ALT > 5-10 times ULN	Schechter <i>et al.</i> [26] (grade 3)
AST or ALT >10 times ULN	Schechter <i>et al.</i> [26] (grade 4)
ALT > 3 times LLN	Coca <i>et al.</i> [11] (grade 1)
Total Bilirubin > 2 times ULN	Coca <i>et al.</i> [11] (grade 3); Nader <i>et al.</i> [20]
Total Bilirubin > 2 mg/dL + symptoms of hepatitis	Possuelo <i>et al.</i> [23]
Total Bilirubin > 2,5 times ULN	Salles <i>et al.</i> [25]

AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; LLN: Lower Limit of Normal; ULN: Upper Limit of Normal.

Table 4: Characteristics of Studies about Drugs-Induced Hepatotoxicity

Author	Type of Study	n (total)	City and period	n of hepatotoxicity (%F: %M)	Associated factors	Severity	Therapeutic interventions
Coca <i>et al.</i> 2010 [11]	Retrospective, Case-control	162 (30 HIV-positive and 132 HIV-negative)	Belo Horizonte (MG) 2005-2007	118	Hepatotoxicity was more frequent in men. Alcohol abuse was associated with hepatotoxicity in both groups.	Hepatotoxicity I (77% of 30 HIV-positive and 45,5% of 60 HIV-negative) Hepatotoxicity II (20% of HIV-positive and 9% of HIV-negative) Hepatotoxicity III (20% of HIV-positive and 8,3% of HIV-negative)	Anti-tuberculosis treatment was stopped in 22 patients
Souza <i>et al.</i> 1996 [16]	Cross-section	1096	-	66	-	-	-

(Table 4) Contd.....

Author	Type of Study	n (total)	City and period	n of hepatotoxicity (% F: % M)	Associated factors	Severity	Therapeutic interventions
Lima e Melo, 2012 [17]	Retrospective, Case-control	156	Recife (PE) 2004-2007	57 (44:56)	Previous history of hepatic diseases and opportunist infection	-	26 maintained the treatment; 12 stopped temporary; 11 changed the treatment; and 7 stopped the tuberculosis treatment.
Nader et al. 2010 [20]	Historic cohort	534	Porto Alegre (RS) 1998-2006	47	Positive anti-HIV and positive anti HCV	-	-
Sampaio et al. 1997 [21]	Prospective, Cross-section	198	Salvador (BA) 1995-1996	15	The incidence of the hepatotoxicity in HIV-positive patients was higher than HIV-negative/unknown	-	-
Possuelo et al. 2008 [23]	Prospective, Cohort	254	Porto Alegre (RS) 2005-2007	14 (50:50)	Slow acetylation of NAT2	-	-
Salles et al. 2002 [25]	Retrospective, Case Control	588	Rio de Janeiro (RJ) 1994-1995	40	The presence of AIDS, radiography image of atypical pulmonary TB and disseminate TB	-	35 stopped the anti-TB treatment because of hepatotoxicity. However, 23 restarted alternative treatment; 9 restarted the same treatment; and 3 died. The mean time of stopping treatment was 5 days.
Schechter et al. 2006 [26]	Clinic assay	399	Rio de Janeiro (RJ)	49 (55:45)	-	Hepatotoxicity III: 16 patients Hepatotoxicity IV: 11 patients Hepatotoxicity III or IV: 22 patients	-
Teixeira et al. 2011 [28]	Prospective, Case Control	167	Rio de Janeiro (RJ) 1998-2008	26	Slow acetylators	-	-

Table 2 provides the types of ADRs and their frequencies. The ADRs occurrences are described in decreasing order based on the number of items in the ADRs types that were identified. In this table, the percentages were calculated by dividing the number of ADRs occurrences by the total number of patients enrolled in each study.

Given the importance of ADRs attributed to anti-tuberculosis drugs, the second topic, hepatotoxicity, is presented in Table 3, and it includes the definitions used by drug-induced hepatotoxicity (DIH) articles. Table 4 presents the general characteristics of the study, such as year of publication, study type, location and characteristics of the participants, comorbidities, associated factors, and treatment protocol. In some

articles, the authors reported only increased liver enzymes, which were used as the criteria for hepatotoxicity. The definition of hepatotoxicity, as described in the Recommendations Guide for Tuberculosis Control in the Health Ministry of Brazil, may be defined as the resulting damage, the values of the enzymes when they reach three times the normal values, the beginning of symptoms or the point at which jaundice manifests.

3. RESULTS

This search strategy retrieved a total of 5,855 articles (3,208 and 2,397 articles in English and Portuguese, respectively, Figure 1). To remove duplicate items, we used EndNote®, which resulted in a



Figure 1: Flow of information through of the different phases in a detailed manner after systematic review.

total of 2,735 articles. The searches retrieved a large number of records that did not match the inclusion and exclusion criteria; therefore, it was possible to increase the precision and so to reduce the number of irrelevant papers retrieved. Consequently, we found 22 studies published from October 1996 to September 2014 which were eligible include in this review.

3.1. ADRs in General

3.1.1. Types and Characteristics of Studies

In this topic, of the 22 eligible studies, 6 were published in Portuguese and 2 studies were not included due to trial design. Cross-sectional studies comprised the majority (40%), followed by case-control (30%), cohort (20%) and clinical trial studies (10%). The main features of the studies are presented in Table 1, but only one specified a definition of ADRs that was similar to that of the WHO.

3.1.2. Patients and Anti-TB Regimen

Fourteen studies shared several similarities and reported patients in outpatient care, and 6 studies reported inpatients. Two studies included HIV⁺ patients [11, 22], and only one study specified the treatment of TB in a geriatric population, with frequent adverse reactions [10]. Most of the studies included patients with drug-sensitive TB (75%) [10-18, 20, 21, 23-25, 28, 30]. Three studies evaluated latent TB [9, 26, 27], and two studies were conducted with multi-drug therapy TB [19, 22]. Details of the schemes are summarized in Table 1.

3.1.3. Report and Analysis of ADRs

Most studies have reported that the incidence of ADRs were related to the anti-TB drug combination of rifampin, isoniazid and pyrazinamide. Two studies have attributed the ADRs to isoniazid, which was used as a prophylaxis for latent tuberculosis infection [9, 28].

Despite the development of this powerful regimen, the treatment of tuberculosis continues to be a problem in patients who do not tolerate these drugs. In Brazil, ethambutol was introduced as a fourth drug in the intensive phase of treatment. However, eight studies have reported the occurrence of ADRs associated with this drug [12].

These studies were evaluated by symptoms or treatment planning, focusing on WHO organ systems, likely because of the considerable multifaceted nature of these issues. Two studies reported ADRs that were classified as high or low gravity. Note that among these symptom and planning studies, 71.4% [15] and 81.10% [30], respectively, were classified as low gravity, while high gravity studies were responsible for 6.4% [15] and 19% [30]. Together, 452 of these works reported the occurrence of ADRs in a total of 473 patients.

3.1.4. Onset and Complications of ADRs

In general, the patients demonstrated adverse reactions in 40% of the studies. Only three studies reported onset in the second week, with one month [15, 17, 20] and two months of therapy [18, 23, 30]. Only one study reported the onset of ADRs with three months of therapy [9].

Sampaio *et al.* reported adverse reactions associated with HIV (TB/HIV) after anti-TB treatment. In this case, the patients were coinfecting (TB/HIV) and treated with anti-TB drugs; the occurrence of the side effects appeared with one week of therapy and longer hospital stays [21]. Some studies demonstrated that patients who experienced the complications required substantially longer inpatient hospital stays than those who those did not. Richard *et al.* have reported a case of hospitalization due to skin reaction [12]. Intolerance by anti-TB drugs is also cited as a cause of hospitalization [24]. Longer hospital stays (by an average of 19 days) were reported with the hospitalization of 11 patients, although two patients died from drug-induced hepatitis, as described later [21].

3.1.5. Proportions of ADRs

In a case of ADR, injury hepatic is a more common adverse reaction, and it was present in almost all studies, except in some studies of multi resistant tuberculosis [19], and the proportion of events ranged from 0.77 to 72.8% of the studies. The second most frequent event was related to gastrointestinal issues (i.e., cutaneous rash), which were reported in 10 study

follow-ups in 77.2% of studies, as shown in the Table 2.

3.2. Hepatotoxicity

3.2.1. Study Characteristics

A total of 19 articles reported adverse hepatic effects. Nine of these studies reported hepatotoxicity and other ADRs. However, in 6 studies that were associated with higher risks of hepatotoxicity, 50% of the patients were coinfecting with HIV [11, 17, 21]. Other risk factors have been identified, and 1 cohort study follow-up between 1998 and 2006 was associated with hepatotoxicity in hepatitis C patients (8.8%) [20]. Other studies have associated hepatotoxicity with abnormal liver function [16], and in 1 case-control study, liver enzyme polymorphism was considered as a risk factor for hepatotoxicity [28].

3.2.2. Definitions of HID

Hepatic induced by drugs (HID) may be defined as hepatic injury caused by drugs that produce alterations of hepatic function. These alterations are shown in 9 studies shown in Table 3. This definition may range from an 3X increase of the upper normal limit of aspartate aminotransferase (AST) and/or alanine aminotransferase (ALT) activity in patients with symptoms of hepatitis [21, 23, 25, 28, 30] or without hepatitis symptoms [11, 17, 20, 30]. Salles *et al.* [25] also considered an increase in bilirubin level of at least 2.5 times the reference values. Other useful data included an increase in total bilirubin values > 2 times ULN [11, 20] or > 2mg/dL + symptoms of hepatitis [23].

Coca *et al.* [11] have defined hepatotoxicity as grade 1 (ALT > 3 times lower limit of normal), grade 2 (ALT > 3 times ULN) and grade 3 (ALT > 3 times ULN more total bilirubin > 2 times ULN). Schechter *et al.* [26] defined only grade 3 (AST and/or ALT > 5-10 times ULN) and grade 4 (ALT > 10 times ULN) hepatotoxicity. Interesting, cholestatic hepatitis was not considered nor defined in all studies.

3.2.3. Patients

Nine studies showed prospectively or retrospectively data from 3,554 patients, among whom there were 432 cases of hepatotoxicity; the study characteristics are summarized in Table 4. The patient eligibility criteria varied among the studies. Three studies included patients with TB compared with patients coinfecting with HIV [11, 17, 21], who were excluded in the Santos *et al.* [28]. The anti-TB drugs in

most articles included the RHZ or RHZE scheme, and the Santos *et al.* evaluation ONLY evaluated isoniazid in their studies [28].

3.2.4. Factors Associated with Hepatotoxicity

Most studies have associated hepatotoxicity with anti-HIV, anti-HCV seropositivity and alcohol abuse with liver disease and opportunistic infections [17, 20, 21, 23, 25], as described in Table 4. Two studies have described the genetic variation *N*-acetyltransferase as a risk factor for the induction of hepatotoxicity [23, 28]. One study also reported the role of glutathione transferase in reducing the toxic effects of INH; this drug and its toxicity has been the focus of this study [28].

4. DISCUSSION

Despite of the existence of effective chemotherapy against TB, these drugs or their metabolites can cause adverse effects [18]. In this review, data demonstrating ADR-associated anti-TB treatment were gathered from articles published in a Brazilian setting.

Frequently, adverse reactions, including hepatic injury, gastrointestinal, cutaneous and articular reactions, were similar to those reported by other studies from different countries, such as Iran, China and Canada [31-33]. Similar to other reviews, hepatic reactions (e.g., included jaundice, hepatitis and hepatotoxicity) were more common [31, 34]. The second most common ADRs are gastrointestinal reactions, including nausea, vomiting, epigastric pain and diarrhea [31-36]. Other reactions added to the list are cutaneous reactions, such as itching and rash, as indicated in other studies [31, 32, 36, 37].

This review included 14,209 patients and 1,950 ADRs. The proportion of ADRs was 0.14 per patient for 96% of the total number of patients. These data are comparable and align with other reports. For example, Xiaozhen *et al.* detected 766 ADRs in 4304 patients (0.18 per patient ADRs) [32]. The same proportion was found in other studies: 0.67 [36] and 0.97 [38]. However, these values are much lower than those reported by Kargar *et al.* in a review in Iran; the authors found a ratio of 1.9 per patient [31], and in a study conducted in Canada, Marra *et al.* found 2.03 ADRs per patient [6].

Three studies with larger populations [16, 25, 27] reported a minor incidence of ADRs (0.060, 0.068, and 0.069), which is consistent with previous studies [31,

39]. The study with the lowest ratio (0.013) [9] had a smaller population than the other studies; however, this study included only isoniazid for prophylactic use in latent TB, while the other studies evaluated combination therapy (anti-TB drugs). The overall proportion of patients who developed at least one ADR was 10.6%, based on twenty studies. This prevalence in this report is lower than that of a systematic review of Chinese patients, which reported an overall ADR incidence of 12.6% [40].

Most patients in the reviewed studies were in outpatient care, but they were considered to be patients admitted to the hospital because of an ADR [12, 21, 24]. Maciel *et al.* have reported that the adverse effects, particularly the most serious, are related to the high rates of treatment defaults and failures because such patients require longer therapy, with an increased number of hospitalizations and outpatient and home visits [18].

In Brazil, due an increase in primary resistance to isoniazid (4.4% to 6.0%), in 2009, the National Program for Tuberculosis Control, together with its technical advisory committee, reviewed current TB treatments and introduced ethambutol as a fourth drug in the intensive phase of treatment the basic scheme. Therefore, the pharmaceutical presentation of this scheme became a single tablet fixed-dose combination of four drugs: rifampin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol (RHZE). This treatment is recommended for all new cases of pulmonary and extra pulmonary tuberculosis as well as for all cases of relapse and return after default. The RHZE is used for two months, and then isoniazid and rifampicin are used for four months (2RHZE/4R). This treatment is recommended by the WHO, and it is used in most countries for adults and adolescents [4, 5]. Despite the great efficacy of anti-TB treatment, studies have shown that the interactions between drugs may produce reactions that can vary in severity and progression rate and that special attention should be given to the groups considered to be at high risk for toxicity, including people over 60, those in poor health, alcoholics, HIV-infected patients with concomitant use of anticonvulsant drugs and people who show liver disorders [5, 41]. To date, of the 22 studies included in this review, 11 studies were published in the 2009-2013 period, and only one evaluated adverse effects, including the treatment of fixed doses of RHZE in a population of 79 patients. Interestingly, 83% had one or

more adverse effects, with males the most affected (59.49%) [18]. Xiaozhen *et al.* reported their results in a population of 4,304, in which 649 (15.08%) patients had at least one adverse effect [32]. Gholami *et al.* evaluated 83 outpatients and reported on the occurrence of at least one adverse effect in 44 (53%) patients [38]. Guo *et al.* demonstrated in a population of 89 patients from the first 3 months of treatment, and 21 patients (24%) developed an adverse reaction more severe, while another 29 (33%) showed only minor side effects [42]. It is possible that there was considerable variability among the studies that justify this group of risk factors.

Despite the same basic treatment of anti-TB drugs, reported adverse reactions are difficult to compare due to multifactorial factors that are major determinants of these events, such as dose, time-dependence, age, nutritional status, alcohol consumption (daily alcohol intake > 100mL), liver and kidney function and HIV/TB coinfection. Note that the incidence of adverse reactions may be study dependent (e.g., different ethnicities, inpatients or outpatients, adults and children) and related to the methodology applied in each study.

4.1. ADR Associated Factors

Eleven studies evaluated the factors that could potentially increase the susceptibility to ADRs, primarily demographic factors. Two of these studies mentioned old age as a risk factor, one considered adults younger than 50 years [15], and another considered elderly patients older than 60 years of age [10]. Older age increases the risk of developing adverse reactions, including slower metabolism, which is caused by reduced enzyme activity, decreased hepatic clearance and reduced availability of essential endogenous cofactors [34].

Female patients were also significantly at risk for ADRs [6, 13, 15, 22, 31, 34, 40, 43, 44]. However, one study showed that hepatotoxicity occurs more frequently in men [11], in contrast to studies that indicate being male was a protective factor for hepatotoxicity [34, 42]. The authors suggest that this protection factor possibly occurs due to the increased capacity of men to metabolize the drug because of the increased (induction) microsomal liver enzyme activity caused by the action of androgen hormones. However, more studies are needed to clarify these sex variations in drug metabolism [34].

Regarding comorbidities, Damasceno *et al.* have reported that the rates of adverse reactions were higher in patients with 4 or more comorbidities and patients taking five or more drugs. Hypertension, diabetes, being HIV positive, and alcohol and tobacco use are among the most frequently cited comorbidities [15]. One study showed that only alcohol was considered to be a risk factor without being associated with other comorbidities [11]. One study also mentioned smoking as a risk factor [13].

The abuse of alcohol has been identified as a risk factor in several studies [5, 34, 45-48]. However, one of the studies cited alcohol as a protective factor [22]. The authors did not explore this finding; however, they reported that a possible explanation for this protection would be the fact that alcoholics use a smaller quantity of prescription pills.

Several studies related with genetic variations studies [34, 43, 45, 46]. Phenotype of slow acetylation of NAT2 (the primary enzyme responsible for metabolism of isoniazid) adverse reactions [13], particularly hepatotoxicity [23, 28]. Modifications of this slow phenotype can provide more metabolic hepatotoxicity [34].

Some studies are associated with HIV, hepatitis B and C coinfection. These patients developed liver toxicity [17, 20, 21, 23, 25]. These findings are consistent with results from other studies [43, 45, 46, 48].

4.2 Factors Associated with Hepatotoxicity

The anti-TB drugs associated with hepatotoxicity are primarily isoniazid, rifampicin and pyrazinamide; these drugs interact with one other and with other drugs. This adverse reaction occurs at high frequency and incidence in the treatment of TB.

Currently, the PNTB strongly recommends the discontinuation of treatment when drug toxicity occurs, and they recommend reporting patients promptly when their enzyme levels reach three times their normal values, with the onset of symptoms, or as soon as jaundice manifests [5, 41, 44]. These ADRs were the main cause of treatment suspension in three studies [11, 17, 25] and were mentioned in 19 of 20 articles, despite wide variation in the proportion of patients (0.77 to 72.84%) [11, 13]. In different settings for hepatotoxicity, 12.1% of patients developed this type of ADRs using anti-TB drug therapy; this proportion is

above that reported by the Iranian Review, which was 9.28% [31]. The incidence of hepatotoxicity induced by anti-TB drugs range from 2% to 28% [44, 47, 49]. Such variation is reported in several countries, including 4% in the United Kingdom, 11% in Germany, 9.9% in Argentina, 13% in Hong Kong, 36% in Japan, Taiwan 26%, and 8% to 36% in India [49]. These differences are possibly attributed the definitions used in these studies of hepatotoxicity, as well as inclusion and exclusion criteria, treatment regimens and methods of monitoring.

In this review, 5 articles showed a higher incidence of hepatotoxicity considering the risk factors, such as coinfection with HIV, HCV, alcohol abuse, opportunistic infections and previous history of liver disease [11, 17, 20, 21, 25]. These results were similar to those reported in other studies and reviews [31, 34, 43-47]. Pyrazinamide, isoniazid and rifampicin are the most likely drugs responsible for hepatotoxicity in TB therapy, and they require urgent attention. When this occurs, discontinuation of treatment is recommend until the symptoms improve and the liver enzyme level is reduced. Depending on the clinical situation, it is possible to reintroducing drugs at a one-to-one ratio after evaluating liver function and considering the continuity of the basic scheme or replacement by the special scheme [5].

INH one of the most important drugs used in anti-TB therapy, and it is the drug most associated with hepatotoxicity. Isoniazid is a prodrug that needs to be activated by the enzyme catalase/peroxidase of *M. tuberculosis*, which produces reactive oxygen radicals causing DNA damage and subsequent bacillus death of [41]. Metabolism of INH in the liver generates toxic metabolic reactions and can destroy hepatocytes. The process of acetylation and oxidation must be reversed into non-toxic components. In 2 studies, acetylator phenotype of *N*-acetyltransferase2-NAT2, and glutathione S-transferase (GST) were assessed as genetic variables associated with liver toxicity [23, 28], and the results showed that slow acetylators have a higher incidence of hepatitis. These findings were similar in studies from a systematic review performed by Resende and Santos; the authors reported the acetylator phenotype fast/intermediate *N*-acetyltransferase2-NAT2 were protective factors against liver ADR [29, 34]. The findings of these studies show that the genetic variability that might interfere with the toxicity of INH genotypic assays for acetylation class might improve in future studies.

5. CONCLUSION

This review shows that in a Brazilian setting, patients using anti-TB drugs are vulnerable to a variety and number of adverse effects (ADRs). Hepatic reactions were more common followed by gastrointestinal reactions and skin reactions. There is a paucity of ADR studies in Brazil, a fact that can be attributed to discrepancies in diagnoses, which may interfere with treatment. Studies have also shown that anti-TB drugs could cause significant adverse effects both in quantity and severity, as well as in hospitalization and increased hospital stays. Therefore, these studies may not be reflective of the true incidence and prevalence of ADRs in a Brazil setting during the study period. Finally, the ability to adapt new strategies care will be crucial to continued safe and effective treatment for TB and to avoid ADRs.

REFERENCES

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2014. Geneva: World Health Organization.
- [2] Brasil. Panorama da tuberculose no Brasil: indicadores epidemiológicos e operacionais / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde 2014; 92 p.
- [3] Brasil. Avaliação da Gestão do Programa Nacional de Controle da Tuberculose (versão eletrônica) / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde 2015; 36p.
- [4] Brasil. Boletim Epidemiológico: Detectar, tratar e curar: Desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose. Brasília: Ministério da Saúde 2015; 46(9): 1-19.
- [5] Brasil. Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde 2011; 284p.
- [6] Guo N, Marra F, Fitzgerald J, Fitzgerald JM, Elwood RK, Marra CA. Impact of adverse drug reaction and predictivity of quality of life status in tuberculosis. *Eur Respir J* 2010; 36(1): 206-208. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00159409>
- [7] World Health Organization. Guidelines for the Programmatic Management of Drug-Resistant Tuberculosis: Emergency Update 2008. Geneva: World Health Organization, Stop TB Department; 2008.
- [8] Blumberg HM, Burman WJ, Chaisson RE, Daley CL, Etkind SC, Friedman LN, et al. American Thoracic Society/Centers for Disease Control and Prevention/Infectious Diseases Society of America: treatment of tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167(4): 603-662. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.167.4.603>
- [9] Agoglia L, Balbi E, Halpern M, Roma J, Carius L, Martinho JM, et al. Tuberculosis in Liver Transplant Recipients: Prophylaxis in an Endemic Area. *Transpl P* 2011; 43: 199-202. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2010.12.033>
- [10] Cantalice-Filho JP, Bóia MN, Sant'Anna CC. Análise do tratamento da tuberculose pulmonar em idosos de um hospital universitário do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *J Bras*

- Pneumol 2007; 33(6): 691-698.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132007000600013>
- [11] Coca NSM, Oliveira MS, Voieta I, Antunesa CMF, Lambertucci JR, *et al.* Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: a comparison between patients with and without human immunodeficiency virus seropositivity. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; 43(6): 624-628.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822010000600004>
- [12] Conde MB, Efron A, Loredi C, De Souza GRM, Graça NP, Cezar MC, *et al.* Moxifloxacin in the Initial Therapy of Tuberculosis: A Randomized, Phase 2 Trial. *Lancet* 2009; 373(9670): 1183-1189.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60333-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60333-0)
- [13] Costa GNO, Magno LAV, Santana CVN, Konstantinova C, Saito ST, Machado M, *et al.* Genetic Interaction between NAT2, GSTM1, GSTT1, CYP2E1, and Environmental Factors Is Associated with Adverse Reactions to Anti-Tuberculosis Drugs. *Mol Diagn Ther* 2012; 16(4): 242-250.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF03262213>
- [14] Couto DS, Carvalho RN, Azevedo EB, Moraes MN, Pinheiro PGOD, Faustino EB. Fatores determinantes para o abandono do tratamento da tuberculose: representações dos usuários de um hospital público. *Saúde debate* 2014; 38(102): 572-581.
<http://dx.doi.org/10.5935/0103-1104.20140053>
- [15] Damasceno GS, Guaraldo L, Engstrom EM, Theme Filha MM, Souza-Santos R, Vasconcelos AG, *et al.* Adverse reactions to antituberculosis drugs in Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil. *Clinics (São Paulo)* 2013; 68(3): 329-337.
[http://dx.doi.org/10.6061/clinics/2013\(03\)OA08](http://dx.doi.org/10.6061/clinics/2013(03)OA08)
- [16] Souza AF, Silva AO, Baldi J, Souza TN, Rizzo PM. Hepatic functional changes induced by the combined use of isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Arq Gastroenterol* 1996; 33(4): 194-200.
- [17] Lima MFS, Melo HRL. Hepatotoxicity and antituberculous drugs in HIV/TB infected patients. *Cad Saúde Pública* 2012; 28(4): 698-708.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2012000400009>
- [18] Maciel ELN, Guidoni LM, Favero JL, Hadad DJ, Molino LP, Jonhson JL, *et al.* Efeitos adversos causados pelo novo esquema de tratamento da tuberculose preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil. *J Bras Pneumol* 2010; 36(2): 232-238.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132010000200012>
- [19] Melo FAF, Afíune JB, Ide J, Almeida EA, Spada DTA, Antelmo ALN, *et al.* Aspectos epidemiológicos da tuberculose multirresistente em serviço de referência na cidade de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Tro* 2003; 36(1): 27-34.
<http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822003000100005>
- [20] Nader LA, de Mattos AA, Picon PD, Bassanesi SL, De Mattos AZ, Pineiro Rodriguez M. Hepatotoxicity due to rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in patients with tuberculosis: Is anti-HCV a risk factor? *Ann hepatol* 2010; 9(1): 70-74.
- [21] Pedral-Sampaio DB, Martins-Netto E, Alcântara AP, Souza J, Moura L, Brittes C, *et al.* Use of standard therapy for tuberculosis in associated with increased adverse reactions in patients with HIV. *Braz J Infect Dis* 1997; 1(3): 123-130.
- [22] Picon PD, Rizzon CFC, Bassanesi SL, Silva LCC, Giustina MLD. Desfechos do retratamento de pacientes com tuberculose com o uso do esquema 3 em Porto Alegre, Brasil. *J Bras Pneumol* 2011; 37(4): 504-511.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132011000400013>
- [23] Possuelo LG, Castelan JA, de Brito TC, Ribeiro AW, Cafrune PI, Picon PD, *et al.* Association of slow N-acetyltransferase 2 profile and anti-TB drug-induced hepatotoxicity in patients from Southern Brazil. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64: 673-681.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00228-008-0484-8>
- [24] Ribeiro SA, Matsui TN. Admission for tuberculosis to a university hospital. *J Pneumol* 2003; 29(1): 9-14.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-35862003000100004>
- [25] Salles CG, Rezende VMC, Conde MB, Souza GMR, Boechat NL, Kristski AL. Hepatic adverse effects anti-tuberculosis treatment in a geral hospital, Rio de Janeiro, Brasil. *Pulmão RJ* 2002; 11(3): 138-144.
- [26] Schechter M, Zajdenverg R, Falco G, Barnes GL, Faulhaber JC, Coberly JS, *et al.* Weekly Rifapentine/Isoniazid or Daily Rifampin/Pyrazinamide for Latent Tuberculosis in Household Contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 922-926.
<http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200512-1953OC>
- [27] Sterling TR, Villarino ME, Borisov AS, Shang N, Gordin F, Sizemore EB. Three Months of Rifapentine and Isoniazid for Latent Tuberculosis Infection. *N Engl J Med* 2011; 365: 2155-2166.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1104875>
- [28] Teixeira RL, Morato RG, Cabello PH, Muniz LM, Moreira AS, Kritski AL, *et al.* Genetic polymorphisms of NAT2, CYP2E1 and GST enzymes and the occurrence of antituberculosis drug-induced hepatitis in Brazilian TB patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106(6): 716-724.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762011000600011>
- [29] Teixeira RLF. Influência da variabilidade genética humana dos genes NAT2, CYP2E1, GSTM1 e GSTT1 na ocorrência de reações adversas hepáticas induzidas pela isoniazida em pacientes com tuberculose ativa [tese]. Fundação Oswaldo Cruz 2009.
- [30] Vieira DEO, Gomes M. Efeitos adversos no tratamento da tuberculose: experiência em serviço ambulatorial de um hospital-escola na cidade de São Paulo. *J Bras Pneumol* 2008; 34(12): 1049-1055.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132008001200010>
- [31] Kargar M, Mansouri A, Hadjibabaie M, Javadi M, Radfar M, Gholami K. Anti-tuberculosis drugs adverse reactions: A review of the Iranian literature. *Expert Opin Drug Saf* 2014; 13(7): 875-891.
<http://dx.doi.org/10.1517/14740338.2014.925443>
- [32] Lv X, Tang S, Xia Y, Wang X, Yuan Y, Hu D, *et al.* Adverse reactions due to directly observed treatment strategy therapy in Chinese tuberculosis patients: A prospective study. *PLOS One* 2013; 8(6): e65037.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0065037>
- [33] Yee D, Valiquette C, Pelletier M, Parisien I, Rocher I, Menzies D. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167(11): 1472-1477.
<http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200206-626OC>
- [34] Resende LSO, Santos ET. Fatores de risco associados às reações adversas a medicamentos antituberculose. *J Bras Pneumol* 2015; 41(1): 77-89.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132015000100010>
- [35] Sagwa EL, Mantel-Teeuwisse AK, Ruswa NC. Occurrence and clinical management of moderate-to-severe adverse events during drug-resistant tuberculosis treatment: a retrospective cohort study. *J Pharm Policy Pract* 2014; 7(14): 2-8.
<http://dx.doi.org/10.1186/2052-3211-7-14>
- [36] Javadi MR, Shalviri G, Gholami K, Salamzadeh J, Maghooli G, Mirsaedi SM. Adverse reactions of anti-tuberculosis drugs in hospitalized patients: Incidence, severity and risk factors. *Pharmacoevidem Dr S* 2007; 16(10): 1104-1110.
<http://dx.doi.org/10.1002/pds.1468>
- [37] Chhetri AK, Saha A, Verma SC, Palaian S, Mishra P, Shankar PR. A study of adverse drug reactions caused by

- first line anti-tubercular drugs used in Directly Observed Treatment, Short course (DOTS) therapy in western Nepal, Pokhara. *JPMA* 2008; 58(10): 531-6.
- [38] Gholami K, Kamali E, Hajiabdolbaghi M, Shalviri G. Evaluación de las reacciones adversas de los antituberculosos en pacientes hospitalizados. *Pharmacy Practice* 2006; 4(3): 134-138. <http://dx.doi.org/10.4321/S1885-642X2006000300006>
- [39] Xia YY, Hu DY, Liu FY, Wang XM, Yuan YL, Tu de H, *et al.* Design of the anti-tuberculosis drugs induced adverse reactions in China National Tuberculosis Prevention and Control Scheme Study (ADACS). *BMC Public Health* 2010; 10: 267. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-10-267>
- [40] Xia YY, Zhan SY. Systematic review of anti-tuberculosis drug induced adverse reactions in China. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2007; 30(6): 419-423.
- [41] Arbex MA, Varella MCL, Siqueira HR, Mello FAF. Drogas antituberculose: Interações medicamentosas, efeitos adversos e utilização em situações especiais. Parte 1: Fármacos de primeira linha. *J Bras Pneumol* 2010; 36(5): 626-640. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132010000500016>
- [42] Lee AM, Mennone JZ, Jones RC, Paul WS. Risk factors for hepatotoxicity associated with rifampin and pyrazinamide for the treatment of latent tuberculosis infection: Experience from three public health tuberculosis clinics. *Int J Tuberc Lung D* 2002; 6(11): 995-1000.
- [43] Bouchentouf R, El jastimi S, Benjelloun A, Aitbenasser MA. Hépatotoxicité des antituberculeux: épidémiologie, mécanisme et conduite à tenir. *J Afr Hépatol Gastroentérol* 2011; 5: 168-173. <http://dx.doi.org/10.1007/s12157-011-0270-6>
- [44] Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WC, van der Ven AJ, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review. *J Gastroen Hepatol* 2008; 23: 192-202. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.05207.x>
- [45] Calzada UEG, Berruecos YA, Mejía MCB, Toledo IEE. Toxicidad hepática por medicamentos antituberculosos. *Iatreia* 2008; 2(1): 41-48.
- [46] Yew WW, Leung CC. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity. *Respirology* 2006; 11: 699-707. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1843.2006.00941.x>
- [47] Pande JN, Singh SP, Khilnani GC, Khilnani S, Tandon RK. Risk factors for hepatotoxicity from antituberculosis drugs: A case-control study. *Thorax* 1996; 51(2): 132-136. <http://dx.doi.org/10.1136/thx.51.2.132>
- [48] Ungo JR, Jones D, Ashkin D, Hollender ES, Bernstein D, Albanese AP, *et al.* Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: The role of hepatitis C virus and the human immunodeficiency virus. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 15(7): 1871. <http://dx.doi.org/10.1164/ajrccm.157.6.9711039>
- [49] Singla R, Sharma SK, Mohan A, Makharia G, Sreenivas V, Jha B, *et al.* Evaluation of risk factors for antituberculosis treatment induced hepatotoxicity. *Indian J Med Res* 2010; 132: 81-86.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estresse oxidativo em pacientes com hepatite medicamentosa associada a tuberculostáticos

Pesquisador: MARIA HELIANA ALENCAR DA COSTA

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 19060113.1.0000.0017

Instituição Proponente: Hospital Universitário João de Barros Barreto - UFPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 527.470

Data da Relatoria: 28/01/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo Transversal e analítico. Com finalidade de tese de doutorado.

A pesquisa será desenvolvida no Hospital Universitário João de Barros Barreto, referência para doenças infecciosas e parasitárias e doenças pulmonares.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a relação da hepatite medicamentosa associadas a tuberculostáticos com o desenvolvimento do estresse oxidativo e comparar com indivíduos que não desenvolveram hepatites e indivíduos controles.

Objetivo Secundário:

1. Medir a atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (CAT) como marcadores de estresse oxidativo no sangue de pacientes portadores de tuberculose com hepatites e comparar com indivíduos que não desenvolveram hepatites e indivíduos controles.

2. Medir os níveis de Glutathione e os níveis de nitrito (óxido nítrico) como marcador de estresse oxidativo no sangue de pacientes portadores de tuberculose com hepatites e comparar com indivíduos que não desenvolveram hepatites e indivíduos controles.

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA **CEP:** 66.073-000
UF: PA **Município:** BELEM
Telefone: (91)3201-6754 **Fax:** (91)3201-6663 **E-mail:**

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Continuação do Parecer: 527.470

3. Medir a atividade da biotinidase, TGO e TGP como marcador de hepatotoxicidade no sangue de pacientes portadores de tuberculose com hepatites e comparar com indivíduos que não desenvolveram hepatites e indivíduos controles.

4. Avaliar a Peroxidação lipídica como marcador de estresse oxidativo no sangue de pacientes portadores de tuberculose com hepatites e comparar com indivíduos que não desenvolveram hepatites e indivíduos controles.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Autores atenderam as pendências, incluíram os riscos de desconforto e contaminação. Citaram que serão coletados 10 ml de sangue para fins de pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa com relevância regional, pois apesar da disponibilidade de tratamento altamente eficaz, a tuberculose continua sendo um importante problema de saúde global sendo a segunda causa principal de morte dentre as doenças infecciosas no mundo. A quimioterapia da tuberculose, preconizada pelo Consenso Brasileiro envolve a associação de fármacos que apresentam interações entre si e com outros medicamentos, o que aumenta bastante o risco de hepatotoxicidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram atendidas as recomendações solicitadas no parecer inicial.

Recomendações:

Incluir na segunda folha do TCLE o nome do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Este Colegiado manifesta-se pela aprovação projeto, após ter atendido as pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, este Colegiado manifesta-se pela APROVAÇÃO do protocolo de pesquisa por estar de acordo com a Resolução nº466/2012 e suas complementares do Conselho Nacional de Saúde/MS para ser desenvolvida no Hospital Universitário João de Barros Barreto- UFPA.

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA **CEP:** 66.073-000
UF: PA **Município:** BELEM
Telefone: (91)3201-6754 **Fax:** (91)3201-6663 **E-mail:**

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
JOÃO DE BARROS BARRETO -
UFPA



Ainda em atendimento a Res. 466/2012 esclarecemos que a responsabilidade do pesquisador é indelegável, indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais. Além de apresentar o protocolo devidamente instruído ao CEP ou à CONEP, aguardando a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa; de elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ainda ao pesquisador:


1. desenvolver o projeto conforme delineado;
2. elaborar e apresentar os relatórios parciais, e em prazo máximo de 60 (sessenta) dias, após a finalização da pesquisa, apresentar o relatório final, incluindo os resultados finais da pesquisa, impresso e na Plataforma Brasil;
3. apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP, a qualquer momento;
4. manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 05 anos após o término da pesquisa;
5. encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto;
6. justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

BELEM, 11 de fevereiro de 2014

Assinador por:
João Soares Felício
(Coordenador)

Endereço: RUA DOS MUNDURUCUS 4487
Bairro: GUAMA **CEP:** 66.073-000
UF: PA **Município:** BELEM
Telefone: (91)3201-6754 **Fax:** (91)3201-6663 **E-mail:**

ANEXO B – Autorização emitida pela Comissão de Análise de Projeto de Pesquisa – CAPP



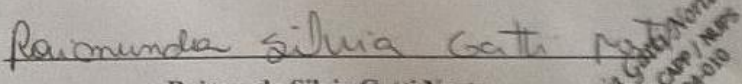
 SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE – SESMA

 NÚCLEO DE PROMOÇÃO À SAÚDE


AUTORIZAÇÃO

Informamos que a SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE – SESMA está ciente da pesquisa de Tese de Doutorado, do Curso de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical, da Universidade Federal do Pará - UFPA, intitulada: “ESTRESSE OXIDATIVO EM PACIENTES COM HEPATITE MEDICAMENTOSA ASSOCIADA A TUBERCULOSTÁTICOS”, de autoria da doutoranda: **Maria Heliana Alencar da Costa**, e que o mesmo já encontra-se autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres Humanos do Hospital Universitário João de Barros Barreto da UFPA. Portanto, comunicamos que o Trabalho está **AUTORIZADO** pela Comissão de Análise de Projeto de Pesquisa – CAPP, do Município de Belém-Pa para ser realizada na Unidade Municipal de Saúde do Guamá.

Belém, 01 de Dezembro de 2015


 Raimunda Silvia Gatti Norte
 Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa – CAPP

R. Silvia Gatti Norte
 Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa – CAPP / M. U. PA
 Tel. 401224-0110



 Tv: Chaco, 2086, (Almirante Barroso e 25 de setembro)
 Marco, CEP. 66093-543
 E-mail: sesmagab@gmail.com
 Tel: (91) 3184-6136