

Monitoração terapêutica de pacientes com transtornos de humor tratados com carbamazepina atendidos no Ambulatório de Psiquiatria de Goiânia-Goiás e Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha (UFG). Dados preliminares

Ramias Vieira Calixto FREIRE¹; Luiz Carlos da CUNHA²; Renzo Freire de ALMEIDA²; Iram Moreira MUNDIM³

1- Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/UFG

2-Professor Doutor da Faculdade de Farmácia/UFG

3- Mestre em Ciências da Saúde/UFG

ramiasfreire@yahoo.com.br, lucacunha@gmail.com, renzoasr@gmail.com, iram.mundim@gmail.com

Palavras chaves: transtorno bipolar, carbamazepina, oxycarbamazepina, monitoração terapêutica.

INTRODUÇÃO

O Transtorno Bipolar do Humor, antigamente, denominado de psicose maníaco-depressiva, é uma doença crônica que afeta cerca de 1,6% da população e representa uma das principais causas de incapacitação no mundo, estando associada a altas taxas de morbidade e prejuízos socioeconômicos (KAPCZINSKI, FREY, ZANNATTO, 2004; SANTIN, CERESÉR, ROSA, 2005). Caracteriza-se por oscilações ou mudanças cíclicas de humor que envolvem episódios de “mania” comumente alternados com períodos de depressão e de normalidade (PORTO, 2001/2002).

Os objetivos do presente estudo, que está em andamento, são: 1) Desenvolver e validar a técnica analítica em HPLC-PDA capaz de quantificar os níveis de carbamazepina e seu metabólito (oxycarbamazepina) presentes no plasma de pacientes atendidos no Ambulatório Municipal de Psiquiatria de Goiânia-GO e no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha da Universidade Federal de Goiás (UFG); 2) Quantificar os níveis de carbamazepina e de oxycarbamazepina presentes no plasma dos pacientes; 3) Associar os níveis de carbamazepina e de oxycarbamazepina com valores de referência da literatura (terapêuticos, sub-terapêuticos e tóxicos); 4) Associar os níveis dos fármacos com o diagnóstico clínico acerca do grau de controle do transtorno; 5) Avaliar os parâmetros sanguíneos dos pacientes em uso do medicamento.

MATERIAIS E METODOS

Todos os pacientes atendidos no Ambulatório Municipal de Psiquiatria de Goiânia-GO e no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha da Universidade Federal de Goiás (UFG) em tratamento com carbamazepina serão convidados a participar do estudo. Após o esclarecimento, o paciente (ou responsável) que consentir em participar do estudo assinará o TCLE em duas vias. **Critérios de Inclusão:** Pacientes (homens e mulheres), maiores de 18 anos, sob tratamento com carbamazepina a mais de 1 ano. **Critérios de Exclusão:** Pacientes menores de 18 anos, ou em tratamento com carbamazepina inferior a 1 ano, ou que se recusem a participar do estudo.

Para desenvolver a estratégia para monitorar a carbamazepina, assumimos que: 1) existe correlação entre a concentração sanguínea do fármaco e o efeito farmacológico, sendo este diretamente proporcional à concentração deste fármaco e 2) a monitoração terapêutica reduz a variabilidade na concentração plasmática e 3) existe correlação de alterações bioquímicas e hematológicas com efeitos da toxicidade do fármaco.

Serão coletados 5 mL de sangue com anticoagulante EDTA sódico e 5 mL sem anticoagulante. O tubo sem anticoagulante será centrifugado e encaminhado para análise bioquímica e o com anticoagulante para análise hematológica. Após análise hematológica o tubo será centrifugado a 3000 rpm/10 min e o plasma armazenado imediatamente a -20 °C para posterior análise da carbamazepina e oxycarbamazepina. A técnica analítica envolve procedimentos de extração dos princípios ativos presentes em plasma, limpeza das impurezas com solventes orgânicos, concentração dos princípios ativos e colocação dos extratos no amostrador automático do HPLC. O sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (HPLC-PDA) e a coluna C18 possuem excelentes sensibilidade, reprodutibilidade e especificidade na determinação de carbamazepina e oxycarbamazepina em plasma humano (OH, BAN, WOO, 2006).

A técnica analítica está sendo validada de acordo com a Resolução 899 da ANVISA, que tem como objetivo demonstrar que o método é apropriado para a finalidade de determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos (BRASIL, 2010).

Condições cromatográficas: Utilizamos um HPLC da Shimadzu Série Prominence Modelo 20AT com uma coluna ACE 5C18 100 x 4.6mm id ACE® HPLC

Columns, operada a temperatura ambiente. A fase móvel é constituída da mistura do tampão fosfato de potássio monobásico pH 2,3 e acetonitrila na proporção de 63:37 v/v e o fluxo foi fixado a 1,0 mL/minuto. O detector foi ajustado para faixa de varredura de 210 a 350 nm.

Solução padrão: Uma solução padrão é injetada antes do início da análise das amostras com o objetivo de verificar as condições cromatográficas, as substâncias utilizadas são: Solução de Carbamazepina 2500 µg/mL e solução de Oxycarbamazepina 2500 µg/mL para determinar as concentrações de trabalho e 0,1 mg/mL de 5-(4-metilfenil)-5-fenilhidantoina (MPPH) usado como o padrão para cálculo do tempo de retenção relativo (RRT).

As condições de desenvolvimento foram a escolha da coluna em fase reversa, a definição da fase móvel, a concentração do padrão interno, a definição do comprimento de onda para detecção, o tempo de retenção, a definição volume de amostra injetada no equipamento e o fluxo de fase móvel.

Preparação das amostras: em um tubo eppendorf é colocado 125 µL de plasma e adicionado 25µL de 5-(4-metilfenil)-5-fenilhidantoina (MPPH) 50µg/mL, em seguida é adicionado 1000µL de metanol 100%, a amostra é agitada por 1 minuto em vórtex, em seguida é centrifugada a 10000 rpm por 10 minutos, 250 µL do sobrenadante é transferido para um vial e injetados.

Parâmetros sanguíneos: Os exames hematológicos e bioquímicos serão realizados no Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha - UFG. Os parâmetros hematológicos serão avaliados por meio do hemograma e contagem de reticulócitos. Serão utilizados contador eletrônico, modelo ABX micro 60 (ABX Laboratories) 18 parâmetros e distensões de sangue feitas sem anticoagulante em lâminas de vidro e coradas com o corante de Rosenfeld (RIBEIRO, 1971). Para a contagem de reticulócitos a coloração de azul de cresil brilhante (CARVALHO, 1999).

Os parâmetros bioquímicos serão avaliados por meio das dosagens de bilirrubinas total, direta e indireta, AST, ALT, uréia, creatinina, ácido fólico, gama-glutamil transpeptidase (gama-GT ou GGT) e albumina, utilizando o equipamento Labmax Pleno (LABTEST). A temperatura da reação será de 20 °C - 25°C e comprimento de onda de 623nm.

RESULTADOS E DISCUSÃO

A técnica analítica em HPLC-PDA está sendo desenvolvida e validada com a carbamazepina diluída em metanol 50%, nas concentrações 250ng/mL (limite inferior de quantificação - LIQ) e 60000ng/mL (limite superior de quantificação - LSQ) e com o MPPH (padrão interno) diluído na concentração 50µg/mL para determinação dos picos cromatográficos e tempo de corrida.

No desenvolvimento da técnica analítica a coluna em fase reversa escolhida foi ACE 5C18 100 x 4.6mm id ACE[®] HPLC Columns, a fase móvel foi constituída da mistura do tampão fosfato de potássio monobásico pH 2,3 e acetonitrila na proporção de 63:37 v/v, a concentração do padrão interno foi 50µg/mL, o comprimento de onda para detecção foi definido na faixa de 210 a 350 nm, o tempo de retenção da carbamazepina foi 7'30", injetando 20µL de amostra no equipamento e fluxo de 1,0 mL/minuto de fase móvel.

De acordo com os resultados preliminares obtidos o método desenvolvido tem mostrado ser apropriado, até o momento, para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação quantitativa de carbamazepina e seu metabólito (oxicarbamazepina) presentes no plasma.

A confiabilidade do método na quantificação dos níveis de carbamazepina e de oxicarbamazepina presentes no plasma dos pacientes será assegurada após o término da validação.

Quantificados os níveis de carbamazepina e de oxicarbamazepina estes serão associados com valores de referência da literatura (terapêuticos, sub-terapêuticos e tóxicos) e com o diagnóstico clínico laboratorial acerca do grau de controle do transtorno. Os parâmetros sanguíneos dos pacientes em uso do medicamento também serão avaliados com o intuito de observar os efeitos tóxicos dos medicamentos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. **ANVISA**. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 02 jun. 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 05 abr. 2010.

CARVALHO, W. F. **Técnicas médicas de hematologia e imuno-hematologia.** 7ª ed. Belo Horizonte: COOPMED, 1999.

KAPCZINSKI, F.; FREY, B. N.; ZANNATTO, V. **Fisiopatologia do transtorno afetivo bipolar: o que mudou nos últimos 10 anos?** Revista Brasileira de Psiquiatria, vol.26 (3). São Paulo, 2004.

OH, E.K., BAN, E., WOO, J.S. **Analyses of carbamazepine and its active metabolite, carbamazepine-10,11-epoxide, in human plasma using high-performance liquid chromatography.** Analytical Bioanal. Chemistry, v. 386, p. 1931-1936, 2006.

PORTO, J. A. D. **Transtorno bipolar do humor.** Psiquiatria na prática médica, v.34 n.4, 2001/2002

SANTIN, A., CERESÉR, K., ROSA, A. **Adesão ao tratamento no transtorno bipolar - Compliance to Treatment in Bipolar Disorder.** Revista de Psiquiatria Clínica, v. 32(1); p. 105-109, 2005.

RIBEIRO, W. R. Apontamento de Hematologia Prática. 1ªed. Goiânia: Gráfica UFG, 1971.