

RENATA FILOMENA BONATTI RAMOS

***DEPURAÇÃO DA METACETINA EM PORTADORES
DE HEPATOPATIA PELO VÍRUS DA HEPATITE C***

CAMPINAS

2003

RENATA FILOMENA BONATTI RAMOS

***DEPURAÇÃO DA METACETINA EM PORTADORES
DE HEPATOPATIA PELO VÍRUS DA HEPATITE C***

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-
Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção
do título de Mestre em Farmacologia*

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Pedrazzoli Júnior

CAMPINAS

2003

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	UNICAMP
	R147d
V	EX
TOMBO BC/	59188
PROC.	16-117-04
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	22/07/04
Nº CPD	

CM00198260-3

BIBID. 318241

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

R147d

Ramos, Renata Filomena Bonatti

Depuração da metacetina em portadores de hepatopatia pelo vírus
hepatite C / Renata Filomena Bonatti Ramos. Campinas, SP : [s.n.],
2003.

Orientador : José Pedrazzoli Júnior

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1.*Função hepática. 2. Hepatite crônica ativa. 3. Cirrose hepática
I. José Pedrazzoli Júnior. II. Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. José Pedrazzoli Jr.

Membros:

Prof. Dr. José Pedrazzoli Jr.

Prof. Dr. Antônio Frederico Magalhães

Dr. Décio Chinzon

**Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de Campinas.**

Data: 25/08/2003

DEDICATÓRIA

*Aos meus queridos pais, José Ricardo e Iraci,
e a minha irmã Paula, por todo o carinho
recebido e pela atenção e tranquilidade que
me propuseram, em especial, nesse período
de minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Pedrazzoli Júnior, que participou intensamente da minha formação acadêmica e científica durante esses anos de convivência. Sou muito grata pelos momentos de amizade e profissionalismo.

Ao Prof. Dr. Luiz Gonzaga Vaz Coelho pela orientação e participação deste trabalho, e a toda a sua equipe da FCM da UFMG.

Ao amigo Fernando, que vivenciou dias de cansaço e falta de paciência, mas sempre esteve presente me incentivando e me confortando com suas palavras.

À amiga Perola, que esteve ao meu lado em todos os momentos de angústia e nervosismo, tendo paciência em me ouvir.

Ao amigo Gilson, que sempre esteve presente com suas lições de vida, trazendo-me experiência e me tranquilizando nas horas certas.

Aos amigos da USF e da UNIFAG, obrigada pela compreensão nas minhas alterações de humor. Agradeço os momentos alegres que passamos juntos e os tristes também.

À toda equipe da UNIFAG, pela participação direta ou indiretamente no trabalho, pois todos foram peças fundamentais para a conclusão deste estudo.

Às minhas amigas que estão distantes, por manterem nossa amizade, apesar da minha ausência e falta de atenção nos últimos anos. Obrigada pela força e compreensão.

Meu agradecimento especial aos professores Dr. Antônio Frederico Magalhães, Dr. Décio Chinzon, Dr. Alfio José Tincani e Dr. Jaime Eisig, pela atenção e disponibilidade em participar da avaliação deste trabalho, acrescentando importantes sugestões.

À FAPESP e à Fundação Clara de Assis (FUNCLAR) pelo apoio financeiro.

“As verdadeiras ciências são aquelas que penetram pelos sentidos como resultado da experiência e assim silenciando as línguas dos que discutem, não alimentando investigadores em sonhos, mas sempre caminhando sucessivamente de verdades básicas e princípios estabelecidos, numa ordem apropriada para a conclusão.”

Leonardo da Vinci

SUMÁRIO

	<i>Pág</i>
RESUMO.....	<i>xiii</i>
ABSTRACT.....	<i>xv</i>
1 - INTRODUÇÃO.....	17
1.1 - Etiologia viral.....	18
1.2 - Distribuição genotípica do HCV.....	18
1.3 - Métodos de Diagnóstico.....	19
1.4 - Hepatopatia por HCV.....	21
1.5 - Hepatite aguda.....	21
1.6 - Hepatite crônica e cirrose.....	22
1.7 - Vias de transmissão.....	24
1.8 - Patogenicidade do vírus.....	25
1.9 - Citocromo P450.....	26
1.10 - Testes quantitativos da avaliação da função hepática.....	29
1.11 - Testes respiratórios na avaliação da função hepática.....	33
1.12 - Classificação de Child-Pugh.....	35
2 - OBJETIVO.....	36

3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	38
3.1 - Seleção de pacientes e voluntários.....	39
3.2 - Protocolo Clínico.....	41
3.3 - Análise Estatística.....	42
4	- 44
RESULTADOS.....	
5	- 54
DISCUSSÃO.....	
6 - CONCLUSÃO.....	58
7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
8	- 70
APÊNDICE.....	
Anexo 1: Termo de consentimento.....	71
Anexo 2: Artigo submetido à publicação.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	Alanino aminotransferase
APC	Células apresentadoras de antígenos
AST	Aspartato aminotransferase
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CHA	Cirrose hepática Child A
CHB	Cirrose hepática Child B
CHC	Cirrose hepática Child C
CYP	Citocromo P450
DOB	Delta over baseline
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
γGT	Gama glutamil transpeptidase
HBV	Vírus da hepatite B
HCC	Carcinoma hepatocelular
HCL	Hepatite crônica grau leve
HCMS	Hepatite crônica grau moderado a severo
HCV	Vírus da hepatite C
HIV	Vírus da imunodeficiência humana

HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corpórea
INF	Interferon
IRIS	Espectrometria infravermelha não dispersiva para isótopos
MEGX	Mono-etil-glicina-xilidida
PCR	Reação em cadeia de polimerase
SBH	Sociedade Brasileira de Hepatologia
TH	Células T helper
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UNIFAG	Unidade de Farmacologia e Gastroenterologia
USF	Universidade São Francisco
VOL	Voluntários

LISTA DE TABELAS

	<i>Pág</i>
Tabela Classificação histopatológica e estadiamento das hepatites crônicas	
1 - - SBH - 1999.....	23
Tabela Classificação dos grupos por alteração histológica, considerando	
2 sexo, idade média, peso médio e altura média.....	41
Tabela Tabela de frequência da variável sexo para os diferentes	
3 - grupos.....	45
Tabela Tabela de frequência da variável tabagismo para os diferentes	
4 - grupos	45
Tabela Tabela de estatísticas descritivas da variável Idade para os	
5 - diferentes grupos.....	46
Tabela Tabela de estatísticas descritivas da variável Peso para os diferentes	
6 - grupos.....	47
Tabela Tabela de estatísticas descritivas da variável Altura para os	
7 - diferentes grupos.....	47
Tabela Tabela de estatísticas descritivas da variável IMC para os diferentes	
8 - grupos.....	48
Tabela Tabela estatística descritiva da média da variável DOB para os	
9 - diferentes grupos em todos os	50

9 - tempos.....

Tabela Tabela da análise estatística da variável DOB entre os diferentes

10 - grupos em todos os 51
tempos.....

LISTA DE FIGURAS

	<i>Pág</i>
Figura 1 - Curva das médias dos valores de DOB em cada tempo pelos grupos representados.....	52
Figura 2 - Diagrama de pontos da medida DOB (20 minutos), sendo a média representada pelo traço em cada grupo apresentado.....	53



RESUMO

A hepatite C é a principal causa de doença hepática crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular na atualidade. Estima-se que 170 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas. Testes quantitativos utilizando-se do clearance hepático vêm sendo propostos para um diagnóstico precoce da função hepática. A metacetina é uma droga de metabolização hepática, resultando em CO₂ e acetaminofeno. O objetivo do estudo foi avaliar a utilidade da determinação da metabolização da ¹³C-metacetina administrada por via oral, como teste função hepática em pacientes portadores de hepatopatia por vírus da hepatite C.

Foram avaliados 71 indivíduos encaminhados do Hospital Universitário São Francisco e região, classificados em 6 grupos (VOL=20; HCL=9; HCMS=18; CHA=18; CHB=1; CHC=5), de acordo com avaliação clínica e laboratorial. Administrou-se uma dose de 75 mg de metacetina, com posterior coleta de ar expirado durante 120 minutos. A determinação do C₁₃ expirado nas amostras foi realizada por meio de espectrometria infravermelha não dispersiva, seletiva para isótopo – IRIS na FCM da UFMG. Para análise estatística foram utilizados os métodos de análise de variância (ANOVA), Teste Qui-quadrado e o Teste de Fischer. O Teste de Tukey foi usado para comparações múltiplas.

Obteve-se curva padrão composta por grupo controle. A média da variável DOB (delta over baseline) aos 20 minutos foi 22.44 para VOL; 18.71 para HCL; 20.83 para HCMS; 15.53 para CHA; 4.80 para CHB e 1.88 para CHC. Foi obtido um $\alpha \leq 0,05$, entre os grupos VOL/CHA; VOL/CHC; HCL/CHC; HCMS/CHA; HCMS/CHC E CHA/CHC no tempo de 30 minutos (teste de Tukey).

Foi encontrada diferença estatística entre VOL/CHA; VOL/CHC; CHA/CHC; HCL/CHC; HCMS/CHC em todos os tempos e de HCMS/CHA somente no tempo de 30 minutos. O teste não diferenciou grupo controle de hepatite crônica, nem portadores de hepatite crônica leve de moderada a severa. Houve uma sobreposição de valores individualmente. Deve-se avaliar um número maior de pacientes para definição de sua aplicabilidade clínica!



ABSTRACT

Hepatitis C is now the main cause of chronic hepatic disease, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. It is estimated that 170 million persons in the world are infected with hepatitis C. Quantitative tests evaluating hepatic functioning, using hepatic clearance, have been suggested for early diagnosis. Methacetin is a drug used for hepatic metabolism, resulting in CO₂ and acetaminophen. The objective of this study was to appraise the usefulness of determining the metabolism of ¹³C methacetin, administered orally, as a test of hepatic functioning in patients with hepatopathy from the hepatitis C virus.

Seventy-one individuals referred by the São Francisco University Hospital and from the neighboring region were evaluated and then classified into 6 groups (VOL = 20, HCL = 9, HCMS = 18, CHA = 18, CHB = 1, and CHC = 5), according to clinical and laboratory evaluations. One 75-mg dose of methacetin was administered, with later collection of air expired for 120 minutes. The C₁₃ expired in the samples was determined by means of non-dispersive infrared spectrometry, selective for the IRIS isotope, at the Medical School of the Minas Gerais Federal University in Brazil. Variance analysis (ANOVA), the Chi square test and Fischer's Test methods were used for statistical analysis. Tukey's Test was used for multiple comparisons.

A standard curve was obtained from a control group. The average of the DOB (delta over baseline) variable after 20 minutes was 22.44 for VOL, 18.71 for HCL, 20.83 for HCMS, 15.53 for CHA, 4.80 for CHB, and 1.88 for CHC. An $\alpha \leq 0.05$ was obtained between groups VOL/CHA, VOL/CHC, HCL/CHC, HCMS/CHA, HCMS/CHC, and CHA/CHC at 30 minutes (Tukey's Test).

A statistical difference was found between VOL/CHA, VOL/CHC, CHA/CHC, HCL/CHC, and HCMS/CHC for all measurements and between HCMS/CHA only at 30 minutes. The test failed to differentiate the control group from chronic hepatitis, nor patients with light chronic hepatitis from cases of moderate to severe chronic hepatitis. There was individual overlapping of values. A larger number of patients should be evaluated in order to define clinical applicability.



1 - INTRODUÇÃO

1.1 - ETIOLOGIA VIRAL

O Vírus da Hepatite C (HCV) foi descoberto por Choo et al. em 1989 ao empregar técnicas de biologia molecular, clonagem e caracterização da seqüência nucleotídica do genoma. É o agente responsável pela maioria dos casos de hepatite transmitida por via parenteral (BOYER et al., 2000; SILVA, 2001).

O HCV é um vírus de pequeno tamanho (30-38nm de diâmetro), membro da família *Flaviviridae*, pertencente ao gênero *Hepavirus*. Possui um filamento único de RNA de 9500 nucleotídeos de sentido positivo e um envelope lipídico. Seu genoma consiste de duas regiões terminais 5' e 3', que possuem uma pequena variação na seqüência entre todos os genótipos e são importantes para a tradução das proteínas virais e replicação do vírus. O genoma viral codifica uma única e ampla proteína com cerca de 3000 aminoácidos. O produto de clivagem das poliproteínas estruturais constitui o core e dois envelopes de glicoproteínas E1 e E2, enquanto que o produto das poliproteínas não estruturais inclui as enzimas proteases, helicase e RNAase (RNA polimerase), as quais realizam várias funções essenciais para o ciclo de vida viral. A clivagem das regiões das proteínas estruturais é catalisada por um sinal da peptidase do hospedeiro, enquanto a clivagem de poliproteínas nas regiões não estruturais requer proteases codificadas pelo vírus (LIANG et al., 2000).

1.2 - DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA DO HCV

Com base nas variações das seqüências de nucleotídeos vários genótipos e subtipos do HCV têm sido identificados (MIHM et al., 1997), há no mínimo 6 genótipos (designados por números arábicos: 1,2,3,...) e mais de 50 subtipos (designados por letras: a,b,c,...) (LIANG et al., 2000). Alguns são distribuídos no mundo, como o 1a, 1b, 2a e 2b, enquanto outros são restritos a áreas geográficas, 5 e 6 (TREPÓ et al., 1999). Os genótipos 1, 2 e 3 são mais freqüentemente encontrados. O genótipo 1a é o mais encontrado na América do Norte e norte da Europa. Entretanto, o 1b é o mais comum no Japão, no sul e leste da Europa. O

genótipo 2 é menos encontrado quando comparado ao genótipo 1. Recentes estudos na Itália mostram a importância do genótipo 2 (principalmente o subtipo c) na infecção assintomática (MONDELLI *et al.*, 1999). A difusão do genótipo 3, que é endêmico da Ásia, mostra significativa variabilidade em diversos países. Na Europa ele é muito encontrado nos pacientes jovens usuários de drogas endovenosas. O tipo 4 é o principal genótipo encontrado no Egito e na África Central, o tipo 5 é quase exclusivo da África do Sul e o tipo 6 está presente em Hong Kong, Macau e Vietnã (NAOUMOV, 1999).

A importância de se notar as diferenças na prevalência dos genótipos entre os países está relacionada à associação entre o genótipo 1b e a progressão para cirrose e carcinomahepatocelular (HCC) (BELLENTANI *et al.*, 1999) e ao valor prognóstico quanto à resposta ao tratamento com a terapia antiretroviral, com melhor resposta nos genótipos não 1 (OLIVEIRA *et al.*, 1999; LAUER *et al.*, 2001).

No Brasil, foi encontrada a presença dos genótipos 1, 2 e 3 nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e no Rio Grande do Sul, com um predomínio do genótipo 1 (mais de 70%). Atualmente há um decréscimo na prevalência do genótipo 1 e aumento do número de casos positivos com genótipo 3 (KRUG *et al.*, 1996). Na região nordeste do Brasil também houve predomínio do genótipo 1, seguido pelo genótipo 3 e alguns casos isolados de genótipo 2, sendo os subtipos predominantes o 1b, 1a e 3a (SILVA *et al.*, 2000).

1.3 - MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Testes diagnósticos para HCV são divididos em métodos sorológicos para anticorpos e testes moleculares para partículas virais. Os métodos sorológicos incluem: testes de triagem baseados nos ensaios imunoenzimáticos – ELISA, ensaios analíticos suplementais baseados no teste *Immunoblot* e detecção de anticorpos específicos do genótipo por determinação sorológica - *Serotyping*. Os métodos moleculares incluem: testes qualitativos e quantitativos detectando HCV-RNA em fluidos sanguíneos (PAWLOTSKY, 1999).

Dentre os métodos sorológicos, há 3 gerações de ELISA. A segunda geração detecta anticorpos diretamente para o core e proteínas não estruturais (NS3 e NS4), a terceira geração detecta os mesmos anticorpos, porém é mais sensível (Ac contra a proteína NS5) (PAWLOTSKY, 1999), esses métodos podem detectar anticorpos dentro de 4 a 10 semanas após a infecção (LAUER *et al.*, 2001).

Os testes ELISA são de baixo custo e simples, sendo os melhores testes para uma avaliação inicial. Recomenda-se o método immunoblot para validar os resultados, pois 25% dos resultados podem ser falso-positivos, principalmente em bancos de sangue. Para pacientes com ELISA negativo e hepatite crônica de causa desconhecida deve-se realizar um teste de RNA qualitativo (EASL, 1999). Na fase aguda da infecção, os anticorpos não são detectados em todos os pacientes durante o pico dos níveis de ALT sérico e podem ser detectados semanas depois. Entretanto, pacientes imunodeprimidos podem nunca ter os anticorpos detectados ou mantê-los sempre em níveis baixos (BOYER *et al.*, 2000).

Técnicas genotípicas baseadas na reação em cadeia de polimerase (PCR) têm sido descritas por serem de eficiente identificação das mutações nas várias regiões do genoma. Como métodos incluem: a análise por Nested-PCR dos genes do core do HCV usando primers específicos dos genótipos (amplificação tipo-específica do core ou da região NS5B); a genotipagem por RFLP(polimorfismo de fragmentos de restrição), onde um único fragmento por PCR de uma determinada região do genoma é amplificado através de iniciadores universais. A separação eletroforética dos fragmentos permite inferir o tamanho aproximado dos fragmentos de restrição e, conseqüentemente, a identidade do genótipo; e a análise da região 5' NCR, core ou NS5B por hibridação com sondas específicas (PAWLOTSKY, 1999).

Um teste laboratorial importante e não específico é a medida dos níveis de ALT. É o melhor teste para monitorar a infecção pelo HCV e a eficácia da terapia nos intervalos entre os testes moleculares. Como há pessoas infectadas que possuem valores normais ou flutuantes, os valores isolados não significam a

atividade real da infecção. Ao mesmo tempo, valores normais após terapia antiviral não significam sucesso (LAUER *et al.*, 2001).

A avaliação histológica através da biópsia hepática é padrão-ouro para caracterizar hepatopatia relacionada à atividade do vírus. Determinando, através do estadiamento, a progressão da doença (LAUER *et al.*, 2001).

1.4 - HEPATOPATIA POR HCV

A infecção pelo vírus C resulta em uma doença heterogênea onde a história natural ainda é controversa e complexa. O curso natural da doença é difícil de ser determinado por várias razões. Primeiro, a infecção aguda raramente é reconhecida, pois os sintomas são inexistentes ou inespecíficos. Segundo, as pessoas com infecção crônica raramente são sintomáticas. Terceiro, o estágio-final da doença, quando ocorre, pode levar até três décadas para se desenvolver (SEEFF *et al.*, 2000). Apesar de ter uma progressão lenta e a maioria dos infectados ser assintomáticos, a qualidade de vida mostra-se marcadamente reduzida em pacientes com infecção crônica com ou sem cirrose (AMARAPURKAR, 2000).

Estima-se que 170 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas com o HCV (THOMAS *et al.*, 2000). A hepatite C é uma doença relativamente comum, a relação entre a ausência de quadro clínico exuberante e a alta taxa de cronicidade explicam o grande número de pacientes infectados (MARCELLIN, 1999). Essa infecção pode ser auto-limitada ou persistente. Cerca de 15% dos infectados curam-se espontaneamente, o que é confirmado pela ausência do RNA viral em múltiplas amostras de sangue em pacientes com presença de anticorpos para o HCV e/ou em pacientes com diagnóstico inicial de infecção aguda pelo HCV (THOMAS *et al.*, 2000).

1.5 - HEPATITE AGUDA

A hepatite C é responsável por 20% dos casos de hepatite aguda. A maioria é infectada por uso de drogas endovenosas. A hepatite aguda pós-

transfusional atualmente é extremamente rara. Seu período de incubação é de 7 a 8 semanas. O diagnóstico é infreqüente, pois a maioria das pessoas possui sintomas inespecíficos ou ausência destes. Quando há manifestações clínicas elas consistem de náusea, fadiga, dor no hipocôndrio direito, mal-estar, seguido de colúria e icterícia, semelhantes às outras hepatites virais (MARCELLIN, 1999; LAUER *et al.*, 2001).

1.6 - HEPATITE CRÔNICA E CIRROSE

A hepatite C é responsável por 70% dos casos de hepatite crônica. Essa fase é rotineiramente assintomática, sendo que em muitos pacientes o diagnóstico é fortuito, ocorrendo em estágio já avançado da enfermidade. O número de anormalidades hepáticas associadas com HCV é muito variado, mas este induz, em muitos casos, fibrose hepática com evolução para cirrose e eventualmente HCC (MARCELLIN, 1999). Nos EUA é responsável por HCC em pacientes mais jovens (MOHSEN *et al.*, 2001). Dessa forma, o estágio-final da doença por esse vírus é a primeira causa de transplante hepático. Estima-se que 85% dos infectados tornam-se portadores crônicos (MARCELLIN, 1999).

A porcentagem exata de indivíduos infectados que desenvolvem complicações ainda é controversa e não foi precisamente definida. Muitas variáveis, em parte independentes, mas interrelacionadas e sinérgicas, têm sido associadas com a tendência da hepatite C de seguir um curso clínico progressivo ou não. A heterogeneidade desses fatores complica o desenvolvimento de modelos da história natural da doença (ALBERTI *et al.*, 1999). Os fatores que afetam o curso da hepatite C crônica e sua tendência para evoluir para cirrose e estágio-final da doença hepática são: maior idade na infecção ou no diagnóstico, associada com aumento da severidade histológica; a ingestão alcoólica excessiva, mais de 50g de ingestão alcoólica diária (POYNARD *et al.*, 1997); a coinfeção com HIV e HBV; e sexo masculino, porém esta última ainda não está bem definida (LAUER *et al.*, 2001).

Estudos têm avaliado o prognóstico de pacientes que progridem para cronicidade após uma hepatite C aguda. Nesses pacientes, a infecção crônica pelo HCV pode-se desenvolver com ou sem alteração da ALT ou com viremia persistente ou intermitente. Estudos prospectivos indicam que 60-90% dos pacientes possuem ALT alterada, enquanto que 10-40% dos pacientes tornam-se portadores assintomáticos com ALT normal. A diferença entre esses dois grupos é clinicamente relevante, devido ao curso muito mais benigno deste último, requerendo um acompanhamento com avaliação seqüencial de ALT nos portadores crônicos (ALBERTI *et al.*, 1999).

Muitos casos de hepatite C são identificados durante a fase crônica da infecção. A evolução em sua fase compensada é melhor descrita por um estágio de progressão lenta da fibrose hepática. A análise de várias séries de pacientes nos quais a data da contaminação pôde ser definida, juntamente com a utilização de uma taxa anual de progressão de fibrose hepática calculada a partir de biópsia hepática, levou ao desenvolvimento de um modelo sugestivo de velocidade de progressão da fibrose, incluindo um terço de pacientes com evolução rápida (tempo de infecção para cirrose: < 20 anos), um terço de pacientes com evolução intermediária (tempo para cirrose: 20-50 anos) e um terço sem evolução ou com evolução lenta (tempo para cirrose > 50 anos) (PLAGLIARO *et al.*, 1999).

A hepatite crônica é dividida em dois grupos: leve e moderado a severo, que são definidos pela presença de lesões histológicas na biópsia hepática. A classificação histopatológica e o estadiamento das hepatites crônicas são definidos pela Sociedade Brasileira de Hepatologia – 1999 (tabela 1). A hepatite crônica leve é a forma mais comum em pacientes jovens, sua progressão é lenta e o risco de evolução para cirrose é baixo. Entretanto, a hepatite crônica moderada a severa tem progressão rápida, principalmente, quando associada ao álcool e à imunodeficiência, sendo mais comum em pacientes mais idosos (MARCELLIN, 1999).

Tabela 1 - Classificação histopatológica e estadiamento das hepatites crônicas - SBH - 1999

Alterações estruturais	Densidade do infiltrado inflamatório portal/septal	Atividade peri-portal/ peri-septal	Atividade parenquimatosa
0 - Nenhum dano	0 - Raros linfócitos	0 - Ausência de lesões	0 - Hepatócitos normais
1 - Fibrose espaço porta	1 - ↑ muito leve de linfócitos	1 - Extravazamento de linfócitos	1 - Alterações discretas
2 - Fibrose com septos	2 - ↑ leve de linfócitos	2 - Necrose discreta em saca-bocados	2 - Necrose focal
3 - Esboço de nódulos	3 - ↑ moderado de linfócitos	3 - Necrose moderada em saca-bocados	3 - Necrose focal + necrose confluyente
4 - Cirrose	4 - ↑ acentuado de linfócitos	4 - Necrose extensa em saca-bocados	4 - Necrose focal + necrose confluyente extensa

A cirrose é observada entre 20 a 30% dos pacientes infectados cronicamente. Caracteriza-se histologicamente pela presença de fibrose, regeneração nodular, sinais necroinflamatórios lobulares, necrose periférica, septos ativos, esteatose, agressão aos ductos biliares e/ou agregados linfóides. Esse quadro relaciona-se à instalação de fibrose progressiva, dependente do estímulo exercido sobre células hepáticas estelares (células de Ito), principais produtoras da matriz extracelular (SILVA, 2001). Destes pacientes, 3 a 5% evoluem para HCC (MARCELLIN, 1999).

1.7 - VIAS DE TRANSMISSÃO

O principal modo de transmissão é a via parenteral (transusão de sangue e hemoderivados, uso de drogas injetáveis, hemodiálise, acidentes perfurocortantes). A transmissão sexual é controversa: a taxa de prevalência de infecção em indivíduos homossexuais ou heterossexuais com parceiros fixos é baixa, porém eleva-se quando múltiplos parceiros. A gravidez não é contra-indicada em mulheres infectadas, a transmissão vertical é incomum, menos de 6%, mas o risco se torna elevado em mulheres com altos níveis de viremia e na coinfeção com HIV (EASL, 1999).

O HCV penetra no hospedeiro susceptível através da inoculação com agulhas ou transfusão de sangue e hemoderivados contaminados. O vírus entra no hepatócito ou outra célula susceptível, provavelmente através de receptor viral. Após, ele libera o genoma para a replicação, que ocorre na dependência da enzima polimerase RNA dependente, de polaridade negativa, com a translocação do RNA viral sendo controlada por um segmento RNA altamente estruturado, com o ponto de entrada interno ocupando a maior parte da região 5'-NCR, que se estende dos nucleotídeos 44 ao 354 do seu genoma (*HONDA et al., 2000*). A replicação viral é intensa, estima-se uma produção de mais de 10 trilhões de partículas virais por dia na fase crônica da infecção (*LAUER et al., 2001*).

1.8 - PATOGENICIDADE DO VÍRUS

Mecanismos diretos relacionados à citopatogenicidade do HCV e indiretos relacionados à resposta imune celular a suas proteínas nas membranas das células-alvo (hepatócitos) são aceitos como as causas principais de lesão seguida de morte hepatocelular aguda, precipitando outra seqüência de eventos inflamatórios capazes de aumentar o tempo de doença, caracterizando sua cronificação (*BOYER et al., 2000*).

A resposta humoral é importante antes da invasão das células do hospedeiro pelo vírus, pois ela neutraliza partículas virais livres. Entretanto sua função é limitada contra vírus intracelulares. A resposta celular inicia-se com o recrutamento para o local de infecção das células T por ativação das Células Apresentadoras de Antígenos (APCs).

Quando os receptores específicos de células T são ativados, as células TCD4⁺, conhecidas como T Helper, específicas do HCV participam na ativação e diferenciação das células B e na indução e estimulação das células T citotóxicas (CD8⁺) específicas do vírus (*LIANG et al., 2000*). Há dois tipos de células TCD4⁺: as células T Helper tipo 1 e tipo 2 (TH1 e TH2). As TH1 secretam interferon- γ , interleucina 2 (IL-2) e linfotoxina, importantes na estimulação da resposta imune

do hospedeiro, promovendo a atividade dos linfócitos T citotóxicos, tornando-os linfócitos T citolíticos e a ativação de células Natural Killer (NK), promovendo morte celular. O interferon- γ inibe atividade dos TH2. Essas células produzem IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, que promovem a resposta de anticorpos. A IL-10 diminui a resposta de TH1. O desequilíbrio entre as respostas de TH1 e TH2 implica na progressão ou não da doença. Pacientes com infecção aguda que apresentam desenvolvimento auto-limitado possuem uma resposta expressiva de TH1 e uma resposta fraca ou ausente de TH2, ao contrário, pacientes que desenvolvem uma infecção crônica mostram uma predominância na resposta de TH2. Se essa resposta não for inicial, poderá se apresentar no decorrer do processo infeccioso à medida que a doença se estenda para a cronicidade (BOYER *et al.*, 2000).

A resposta imune celular, um dos componentes da lesão, em nível molecular implica na interação entre peptídeos antigênicos e moléculas HLA classe I com os linfócitos TCD8⁺, estes exercem seu efeito citotóxico contra as células-alvo ou hepatócitos através de morte celular (BOYER *et al.*, 2000).

O HCV não é diretamente citopático. A lesão hepática ocorre como resultado de um reconhecimento imune e destruição de hepatócitos infectados (BOYER *et al.*, 2000).

A persistência da infecção mantém ativa a resposta das células T, sendo o principal mecanismo responsável por essas lesões. Células T helper e T citotóxica são capazes de reconhecer proteínas estruturais e não estruturais (especialmente core e NS4) detectadas dentro dos infiltrados hepáticos. A produção constante de citocinas pelos TH1 tem importante papel no aumento das lesões necro-inflamatórias. Esse contínuo processo, ineficiente para finalizar a infecção viral, é a principal causa dos mecanismos fibrogênicos responsáveis pela progressão da doença hepática. Entretanto, as lesões necro-inflamatórias e a progressão da fibrose não estão bem correlacionadas, sugerindo o papel de cofatores (BOYER *et al.*, 2000).

A presença da infecção pelo HCV tem sido mostrada em células mononucleares sangüíneas periféricas, monócitos e linfócitos. Entretanto, a

detecção de RNA viral em células hematopoiéticas sugere que há possibilidade de replicação viral em sítios extrahepáticos, possibilitando uma alteração na resposta imune ou favorecendo a infecção nas células hepáticas (*BOYER et al., 2000*). Uma proteína celular denominada CD81, a qual se liga ao E2, está expressa nas superfícies de vários tipos celulares, incluindo macrófagos e linfócitos, acredita-se ser um receptor ou co-receptor para o HCV. Foram encontrados anticorpos bloqueando essa ligação (*FERRARI et al., 1999; LAUER et al., 2001*).

1.9 - CITOCROMO P450

O citocromo P450 (CYP) constitui uma superfamília de hemoproteínas, localizado na membrana do retículo endoplasmático dos hepatócitos, que catalisa o metabolismo de muitas substâncias endógenas lipofílicas e substratos exógenos (*WILDT et al., 1999*). No mínimo são conhecidos 50 tipos de CYP e há outros não identificados. Cada proteína é codificada por um único gene (*SHERLOCK et al., 2002*). São classificados, com base na sequência homóloga de aminoácidos, em famílias (designadas por números arábicos ex.: CYP 1, CYP 2) e subfamílias (designadas por letras maiúsculas ex.: CYP 2A, CYP 2B). Membros de diferentes famílias do citocromo têm menos de 35% de semelhança entre as sequências de aminoácidos, porém aqueles de diferentes subfamílias possuem entre 35% a 65% de semelhança. Componentes individuais de uma subfamília têm mais de 65% de semelhança e são designadas por números arábicos (ex: CYP 2A1, CYP 2A2) (*NERBERT et al., 1991*).

Em humanos são descritas 17 famílias de CYP, as três primeiras estão amplamente envolvidas com a biotransformação de fármacos e xenobióticos, enquanto que as outras famílias são responsáveis pela biotransformação de compostos endógenos. As isoformas da subfamília CYP3A são as mais envolvidas com o metabolismo das drogas (*WILDT et al., 1999*).

O CYP é formado por enzimas envolvidas no metabolismo oxidativo de esteróides, ácidos graxos, prostaglandinas, leucotrienos, aminas biogênicas

(compostos endógenos), drogas e carcinógenos químicos (compostos exógenos). Representam a clássica “fase I” do metabolismo, onde o substrato é oxigenado (*NERBERT et al., 1987*).

As reações de oxidação requerem a hemoproteína do CYP, a NADPH citocromo P450 redutase, o NADPH e o oxigênio molecular. O substrato xenobiótico reage com a forma oxidada (Fe^{3+}) do CYP para formar um complexo enzima-substrato. A citocromo P450 redutase aceita um elétron do NADPH que, por sua vez, reduz o complexo oxidado citocromo P450-xenobiótico; este reage com o oxigênio molecular e com um outro elétron do NADPH, doado através da mesma flavoproteína redutase para formar um oxigênio ativado. Nas etapas finais desta reação, um átomo de oxigênio é liberado como H_2O e outro é transferido para o substrato. As biotransformações oxidantes, catalisadas pelas monooxigenases do CYP, incluem a hidroxilação da cadeia aromática bilateral, a N-oxidação, a sulfoxidação, a N-hidroxilação, a desaminação, a desalogenização e a dessulfuração. Inúmeras reações redutoras também são catalisadas por enzimas do CYP, geralmente, em condições de baixa tensão de oxigênio (*NERBERT et al., 1987*).

Cada enzima possui um único sítio de ligação com o substrato e um mesmo CYP pode metabolizar várias drogas. Isto pode gerar competição entre duas ou mais drogas para a oxidação pela mesma enzima, podendo diminuir o metabolismo de um dos agentes (*MURRAY, 1992*). Os membros das famílias CYP 1, 2 e 3 são os predominantemente envolvidos com o metabolismo de drogas em humano, e sua expressão é modulada por hormônios, citocinas, fatores genéticos, bem como pode ser afetada por diferentes doenças (*GEORGE et al., 1995*).

A citólise que ocorre no curso do processo inflamatório expõe a face citoplasmática da membrana do retículo endoplasmático que contém o CYP. As proteínas desse sistema estão seletivamente alteradas na doença crônica do fígado, algumas profundamente diminuídas, outras menos (*GEORGE et al., 1995*), ou até mesmo induzidas, como as do CYP 2E1. Em adição, a doença hepática prejudica

preferencialmente a metabolização de drogas por oxidação enquanto que a glucuronidação parece estar preservada (*CALLAGHAN et al., 1993*).

O polimorfismo genético mais comum associado ao metabolismo oxidante de drogas é o da debrisoquina (droga anti-arrítmica). A deficiência da atividade da debrisoquina oxidase reflete uma ou mais mutações no gene do CYP 2D6. Atualmente, sabe-se que números crescentes de agentes cardiovasculares, psicoativos e derivados da morfina são substratos do CYP 2D6 (*MURRAY, 1992; SHERLOCK et al, 2002*).

As enzimas do sistema citocromo P450 podem sofrer indução, determinando maior velocidade de biotransformação ou inibição, o que pode resultar em níveis elevados do fármaco original e maior incidência de toxicidade da droga. O etanol e a isoniazida induzem o CYP 2E1 e aumentam a toxicidade ao acetaminofen (*RYAN et al., 1986*). A ciclosporina, a eritromicina e o cetoconazol competem pela ligação e metabolização pelo CYP 3A, sendo o mesmo induzido pela rifampicina e por esteróides (*WATKINS, 1990*). O omeprazol é também um agente que induz o CYP 1A (*DIAZ et al., 1990*). Estas interações entre drogas e o CYP podem ser relevantes para a biotransformação de procarcinogênicos, de carcinogênicos e de muitas drogas (*HUMPHRIES, 1991*).

Mecanismos imunológicos envolvendo o sistema citocromo P450 também podem estar relacionados com reações idiossincrásicas a drogas (*BEAUNE et al., 1987*) e com dano ao hepatócito (*LOEPER et al., 1990*).

1.10 - TESTES QUANTITATIVOS DA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA

Exame clínico, exame físico, parâmetros bioquímicos, diagnósticos por imagem como ultrassonografia, tomografia computadorizada e biópsia hepática são usados para determinar os graus de lesão hepática e o prognóstico associado com a doença. Entretanto, a capacidade funcional do fígado detectada por esses métodos é controversa. Parâmetros como a albumina e fatores de coagulação também podem ser usados, mas não são tão sensíveis e ocorrem tardiamente na doença

hepática crônica

(*ELIN et al., 1997; HEROLD et al., 2001*).

Para melhorar essa falha, muitos testes têm sido propostos recentemente. Apesar deles explorarem funções específicas, são capazes de promover informações sobre a massa hepática funcionante (*ARMUZZI et al., 2002*).

As determinações de clearance hepático de uma variedade de xenobióticos têm sido utilizadas para avaliar o metabolismo de drogas, medir a perfusão hepática, determinar o prognóstico e verificar a resposta ao tratamento das doenças do fígado (*REICHEN, 1995*).

Os princípios gerais do teste de função hepática são obtidos através da administração de uma substância exógena, que é metabolizada ou eliminada pelo fígado, com a subsequente medida da concentração da substância no plasma ou do metabólito formado. O princípio básico para a maioria destes testes é o clearance hepático (*ARMUZZI et al., 2002*).

A bromossulfaleína é um corante rapidamente removido da circulação através da conjugação com glutathione e excretado na bile por um mecanismo ainda desconhecido (*REICHEN, 1995*). Foi introduzido em 1924 e utilizado até por volta de 1970 para detectar disfunção hepática na ausência de icterícia, bem como para a determinação do fluxo sanguíneo hepático. Contudo, seu alto custo, necessidade de repetidas amostras de sangue e seus efeitos colaterais, como riscos de hipersensibilidade fatal, limitaram a sua aplicabilidade (*ELIN et al., 1997*).

O verde de indocianina, como a bromossulfaleína, é um corante excretado inalterado na bile (*CHERRICK et al., 1960*). A determinação de seu clearance sistêmico foi muito utilizada há anos como um teste de função hepática (*BRODY et al., 1979*). Devido a sua média de extração elevada, pode ser utilizado como um marcador de fluxo hepático (*CAESAR et al., 1961*). Para estimar a perfusão hepática, é necessária a avaliação de sua concentração em sangue venoso periférico e hepático. A perfusão periférica e o clearance de verde de indocianina diminuem com a idade. O seu uso é muito seguro, porém após administrações em bolus percebeu-se reações pseudo-alérgicas (*REICHEN, 1995*). Sua extração média

encontra-se diminuída em pacientes com cirrose hepática (SKAK *et al.*, 1987). Finalmente, o clearance de verde de indocianina tem sido usado com sucesso na função dos pacientes transplantados. (REICHEN, 1995).

Um dos primeiros testes quantitativos introduzidos nas pesquisas clínicas foi a capacidade de eliminação da galactose para avaliar a função hepática, estando relacionada à função citosólica (TYGSTRUP, 1963) e sendo utilizada na medida do fluxo sanguíneo hepático (HENDERSON *et al.*, 1982). Este composto não se liga a proteínas plasmáticas, ele é metabolizado pelo fígado por fosforilação e tem seu acesso livre ao espaço de Disse (GORESKY *et al.*, 1973). A ocorrência de eliminação extra-hepática depende da via de administração. Sua eliminação encontra-se prejudicada em indivíduos heterozigotos para galactosemia, o que pode associar-se a resultados falso-positivos (REICHEN, 1995).

Em 1950, BRODIE e colaboradores introduziram a determinação do clearance da antipirina (fenazona) como teste farmacológico. Este foi um dos primeiros testes utilizados por hepatologistas para quantificar a reserva funcional hepática na doença crônica do fígado. Desde então, muitos compostos têm sido avaliados para determinar o metabolismo das drogas em pacientes hepatopatas crônicos (REICHEN, 1995). O metabolismo desta droga é complexo e sabe-se que diferentes enzimas do sistema CYP estão envolvidas, dentre elas CYP 1A2, CYP2C e CYP3A (DANHOF *et al.*, 1982; REICHEN, 1995). Foi demonstrado o valor prognóstico do teste na avaliação da capacidade de novas drogas em inibir ou induzir o sistema de monoxigenases (DANHOF *et al.*, 1982). Porém, esta característica constitui uma desvantagem para seu uso como prova de função hepática, visto que muitos compostos endógenos e xenobióticos alteram seu clearance (REICHEN, 1995).

A aminopirina (aminofenazona), também utilizada para estudo do metabolismo oxidativo hepático, inicialmente era administrada por via oral, mais tarde iniciou-se a administração endovenosa e, ultimamente, o teste respiratório tornou-se o mais freqüentemente utilizado. No teste respiratório da aminopirina, ocorre N-demetilação da dimetilamino-antipirina (aminofenazona) com ^{13}C ou ^{14}C marcados. A detecção é feita no ar exalado por espectrômetro de massa (REICHEN,

1995). Porém, assim como a fenazona, seu *clearance* reduz-se somente na doença hepática grave (MONROE *et al.*, 1980). Nem sempre a redução na capacidade de metabolizar drogas indica doença hepática intrínseca, a insuficiência renal parece alterar o seu *clearance*. Apesar de não haver diferenças entre os sexos, os hormônios femininos exógenos diminuem a N-demetilação da aminopirina como avaliado no teste respiratório (REICHEN, 1995).

A medida dos níveis em jejum de cafeína foi proposta para avaliar a capacidade de metabolização hepática. A determinação do *clearance* da cafeína possui vantagens, pois inclui o fato de constituir um teste de baixo custo, não exibir efeitos colaterais nas doses utilizadas e de ser a cafeína completamente absorvida pelo fígado após a sua administração oral (WANG *et al.*, 1985).

Porém seu uso é limitado pelo fato de seu *clearance* encontrar-se induzido em tabagistas, depender da dieta e exibir cinética dose dependente (REICHEN, 1995). DESMOND *et al.* e RENNER *et al.* mostraram que o *clearance* plasmático de cafeína estava reduzido em pacientes com doença hepática (DESMOND *et al.*, 1980; WANG *et al.*, 1985), isto não diferenciou pacientes com doença hepática não cirrótica de indivíduos sadios (RENNER *et al.*, 1984). O metabolismo da cafeína envolve o CYP 1A2 (REICHEN, 1995).

O *clearance* de lidocaína foi proposto pela primeira vez por OELLERICH e colaboradores em 1987 (ELIN *et al.*, 1997). Avaliações parecem favorecer testes dependentes do fluxo (*clearance* de verde de indocianina) mais do que os testes com substâncias capacidade-dependentes (cafeína, aminopirina, antipirina, galactose) como indicador de prognóstico em pacientes cirróticos (FABRIS *et al.*, 1999). FORREST e seu grupo relataram ser o *clearance* da lidocaína um indicador altamente sensível para a disfunção hepática (HUANG *et al.*, 1993), e também mais recentemente, a formação do seu principal metabólito, a mono-etil-glicina-xilidida (MEGX), que é um componente fluxo dependente (TESTA *et al.*, 1998).

A medida das concentrações séricas de MEGX após 15 a 30 minutos da administração de lidocaína endovenosa em bolus é um teste de função hepática dinâmico para avaliar o prognóstico e diagnóstico das doenças crônicas do fígado (TESTA *et al.*, 1998). A formação do MEGX parece refletir mais adequadamente essa disfunção hepática. A redução em sua velocidade de formação resulta do desenvolvimento de um shunt vascular intra e extra-hepático, da capilarização de sinusóides e a redução do potencial dos hepatócitos, importantíssimo para a detoxificação hepática (FABRIS *et al.*, 1999). As enzimas responsáveis por seu metabolismo pertencem ao sistema CYP3A4 (OELLERICH *et al.*, 1990), que catalizam a N-deetilação da lidocaína (HUANG *et al.*, 1993; REICHEL *et al.*, 1997). A função renal parece não ter efeito nas concentrações séricas de MEGX e o tabagismo parece não alterar a meia-vida da lidocaína (OELLERICH *et al.*, 1990). O clearance desta substância relaciona-se com a idade em pacientes com doença hepática (PRITCHARD, 1994) e parece haver diferenças entre os sexos abaixo dos 50 anos devido à inibição competitiva sobre o CYP3A4 pelos hormônios esteróides endógenos (OELLERICH *et al.*, 1994; TESTA *et al.*, 1997).

Porém, neste teste há algumas limitações, o metabolismo da lidocaína depende da oxigenase hepática do CYP (REICHEN, 1995).e há drogas que interferem na atividade do CYP, como fenobarbital, rifampicina, cimetidina. Há riscos de alergia e toxicidade severa da lidocaína em pacientes com disfunção hepática (HUANG *et al.*, 1993) e casos relatados de disritmia grave (REICHEN, 1995).

HUANG *et al.* realizaram o teste MEGX em pacientes portadores crônicos do vírus C e pacientes com cirrose, nesta utilizando a classificação de Child-Pugh e não encontraram diferença estatística entre o grupo de hepatite crônica e os subgrupos Child A e B. Havendo somente diferenças entre hepatite crônica e o subgrupo C (HUANG *et al.*, 1993). A formação de MEGX parece ser um marcador da progressão da doença hepática crônica. Sugere-se que a formação desse metabólito em hepatites crônicas reflita a integridade do sistema enzimático microssomal e da perfusão celular, ao contrário do que ocorre na

cirrose, onde estão alterados. Esses achados são apontados pela correlação entre formação de MEGX e o grau histológico nas hepatites crônicas e nas cirroses (TESTA *et al.*, 1997).

O clearance do metronidazol foi recentemente proposto como um método de alta sensibilidade para avaliação da função hepática, através de sua metabolização pelo CYP. Porém, os citocromos que são responsáveis ainda não foram identificados (LOFT *et al.*, 1991). O metronidazol é um derivado nitroimidazólico, introduzido para o tratamento de *Trichomonas Vaginalis* em 1959 e é metabolizado por isoenzimas do CYP, resultando em dois metabólitos principais: o metabólito hidroxí, que é responsável por 65% da atividade farmacológica do metronidazol e um metabólito ácido acético inativo (SILVA *et al.*, 1998).

Esse teste consiste na medida da razão hidroxí-metronidazol/metronidazol por HPLC (cromatografia líquida de alta eficiência), seguido da administração endovenosa de uma dose única de metronidazol. Foram encontrados dados mostrando que o metabolismo reduz-se com a progressividade da hepatopatia. Avaliou-se uma redução na capacidade de metabolização da droga em pacientes cirróticos classificados como Child A comparados com indivíduos saudáveis, indicando que a detecção da deterioração da função hepática é possível em estágios iniciais da cirrose hepática. Também foi relatado que o teste mostrou uma diminuição na capacidade de metabolização do metronidazol em doadores de sangue anti-HCV positivos e pacientes com hepatite crônica (MUSCARÁ *et al.*, 1995). Estudos recentes mostram que o metabolismo do metronidazol é progressivamente diminuído em doadores de sangue anti-HCV positivos e em pacientes com hepatite crônica quando comparados aos voluntários saudáveis (SILVA *et al.*, 1998).

1.11 - TESTES RESPIRATÓRIOS NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA

Os testes respiratórios usando compostos com carbono marcado dividem o princípio de que uma droga administrada possui o átomo de ^{12}C ou um grupo funcional substituído pelo ^{14}C radioativo ou o isótopo ^{13}C . O grupo funcional é então enzimaticamente transformado e o processo metabólico libera CO_2 com C marcado, o qual posteriormente será expirado. No passado, esses testes foram geralmente realizados com o ^{14}C , entretanto o risco devido à radiação, especialmente para gestantes e crianças, levou à substituição pelo seu isótopo - ^{13}C . A porcentagem da dose administrada recuperada por hora e a porcentagem acumulada pelo tempo são os métodos mais adequados de apresentação. Atualmente, muitos testes respiratórios específicos têm sido introduzidos de forma não invasiva para avaliação da função hepática (*ARMUZZI et al., 2002*).

Os testes respiratórios com ^{13}C ou ^{14}C -aminopirina e ^{13}C -metacetina nos dão informações quantitativas sobre a função hepatocelular, os testes com ^{13}C têm vantagens em relação aos de ^{14}C por não serem radioativos e invasivos. Para a obtenção de função hepatocelular em recém-nascidos e crianças, a diluição do $^{13}\text{CO}_2$ exalado pode ser estimada aproximadamente, porque a produção do CO_2 altera com a idade, atividade motora e nutrição. Em crianças pequenas, o estresse provocado pelas máscaras gera uma falsa resposta. Desta forma, o teste urinário ^{15}N -metacetina tem vantagens podendo ser usado em crianças de todas as idades e recém-nascidos (*KRUENBIEGEL et al., 1990*).

Os testes respiratórios, como instrumento diagnóstico, vêm sendo mais utilizados recentemente para estimar a função hepática. Esses testes têm sido propostos por serem uma análise não invasiva, sem carga radioativa e de fácil realização, não havendo necessidade de contato com materiais perfuro-cortantes contaminados. A quantificação de ^{13}C ou ^{14}C em ar expirado, seguido da administração de componentes marcados é usada para estimar a atividade das enzimas hepáticas microssomais (*KLATT et al., 1997*).

Testes respiratórios com ^{13}C , como teste respiratório da ^{13}C -uréia ou teste respiratório da ^{13}C -aminopirina estão tendo maior interesse na gastroenterologia e hepatologia (*KLATT et al., 1997*).

A Metacetina [N-(4-Metoxifenil)acetamida], um derivado da fenacetina,

é absorvida no tubo digestivo e levada ao fígado, sofrendo demetilação oxidativa pelas enzimas microssomais hepáticas, sendo transformada em acetaminofen e $^{13}\text{CO}_2$, o qual é eliminado no ar expirado. O carbono 13 é quantificado por espectrômetro de massa ou por IRIS após o ar ser expirado e armazenado em bolsas plásticas aluminizadas especiais (*REBER et al., 2000*). Como a fenacetina, a metacetina é uma droga de alta extração ($E > 0,8$), sofrendo extensivo clearance de primeira passagem. Essa droga foi sugerida como uma alternativa para aminopirina, devido ao seu rápido metabolismo em pessoas normais e a ausência de toxicidade em doses pequenas (*MATSUMOTO et al., 1987; KLATT et al., 1997*). Taxas de eliminação de $^{13}\text{CO}_2$ aumentam linearmente sem saturação com taxas de 1 a 5 mg/kg de peso corpóreo (*KLATT et al., 1997*).

Um teste não invasivo que pudesse detectar a presença de cirrose hepática por HCV em pacientes aguardando a terapia com interferon poderia influenciar a decisão terapêutica sem os altos custos e riscos de uma biópsia hepática antes do tratamento. Klatt observou em seu estudo uma diferença significativa nos resultados do teste respiratório entre pacientes com hepatite crônica com e sem cirrose. A correlação com a classificação de Child-Pugh foi melhor em relação aos parâmetros dos testes MEGX e o clearance de verde de indocianina (*KLATT et al., 1997*).

Uma análise do teste respiratório da ^{13}C -metacetina comparando-o ao score de Child-Pugh poderia ser potencialmente útil na avaliação da resposta terapêutica e no prognóstico de fases anteriores ao desenvolvimento de cirrose e de pacientes em estágio-final da doença aguardando transplante (*KLATT et al., 1997*). Entretanto, pouco se sabe sobre os fatores que podem influenciar a metabolização hepática da droga (*REBER et al., 2000*).

1.12 - CLASSIFICAÇÃO DE CHILD-PUGH

O sistema de score Child-Pugh foi desenvolvido como uma avaliação embasada por critérios clínicos e laboratoriais, sendo considerado o instrumento

mais importante para estadiamento das doenças hepáticas (*ARMUZZI et al., 2002*).

Os critérios utilizados são cinco, dos quais três são laboratoriais e dois clínicos: Bilirrubina (mg/dl); Albumina (g/dl); TP (INR); Encefalopatia (grau); Ascite. A cada parâmetro, atribuem-se pontos onde a soma final destes, variando de 5 a 15, classifica o paciente em: A (5 a 6 pontos – melhor prognóstico); B (7 a 9 pontos); ou C (10 a 15 pontos – pior prognóstico) (*DESMET, 1994*).



2 - OBJETIVO

Avaliar a utilidade da determinação da metabolização da ^{13}C -metacetina administrada por via oral, como teste função hepática em pacientes portadores de hepatopatia por vírus da hepatite C.



3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - SELEÇÃO DE PACIENTES E VOLUNTÁRIOS

Os indivíduos foram avaliados e classificados em seis grupos (tabela 2):

Voluntários sadios:

Os voluntários foram selecionados em Bragança Paulista e região, aleatoriamente, de acordo com a disponibilidade de participação. Não apresentavam sinais ou sintomas evidentes de doença cardíaca, hepática, renal, pulmonar, neurológica, gastrointestinal, hematológica ou psiquiátrica, com base na história clínica, nos exames físico e psiquiátrico e nos seguintes exames laboratoriais: glicemia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanino aminotransferase (ALT), gama glutamil transpeptidase (γ GT), fosfatase alcalina (FA), bilirrubina total e frações, proteínas totais, albumina, hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de células brancas, tempo de protrombina, sorologia para hepatite B e C, HIV e urina tipo1.

Vinte voluntários, sendo 12 do sexo masculino e 8 do sexo feminino, com idade média de 29,2 anos (24 a 39 anos), com peso médio de 70,4 Kg (51,5 a 89 Kg), com altura média de 1,70 m (1,58 a 1,82 m).

Portadores de hepatite crônica pelo vírus C:

Pacientes com diagnóstico de hepatite crônica pelo vírus C, confirmados por PCR e estadiamento realizado por biópsia hepática, acompanhados no ambulatório de gastroenterologia ou internados na enfermaria de Clínica Médica do Hospital Universitário São Francisco para investigação diagnóstica, encaminhados do banco de sangue ou de serviços da região. Foram classificados em dois grupos: hepatite crônica de grau leve (score 0-5) e hepatite crônica de grau moderado a severo (score 6-15), de acordo com a classificação histopatológica e estadiamento das hepatites crônicas da SBH de 1999. Nove pacientes com hepatite

crônica de grau leve, sendo 7 do sexo masculino e 2 do sexo feminino, com idade média de 35,9 anos (24 a 51 anos), com peso médio de 71,5 Kg (50 a 92,5 Kg), com altura média de 1,68 m (1,58 a 1,88 m).

Dezoito pacientes com hepatite crônica de grau moderado a severo, sendo 17 do sexo masculino e 1 do sexo feminino, com idade média de 44,9 anos (31 a 58 anos), com peso médio de 79,5 Kg (45 a 95 Kg), com altura média de 1,73 m (1,55 a 1,88 m).

Portadores de cirrose hepática pelo vírus C:

Pacientes com diagnóstico de cirrose hepática, acompanhados no ambulatório de gastroenterologia ou internados na enfermaria de Clínica Médica do Hospital Universitário São Francisco para investigação diagnóstica, encaminhados do banco de sangue ou de serviços da região. Avaliados clinicamente para diagnóstico de ascite, encefalopatia hepática ou outras complicações de sua doença de base. A avaliação laboratorial consta dos seguintes parâmetros: AST, ALT, γ GT, FA, eletroforese de proteínas, bilirrubina total e frações, tempo de atividade de protrombina, hemograma com contagem de plaquetas, sorologia para hepatite B, C e HIV, função renal (creatinina), urina tipo I e, quando indicado, exame bioquímico e celularidade do líquido ascítico. Todos os pacientes foram estratificados de acordo com a classificação de Child Pugh em Child A, Child B e Child C (HARTMANN *et al*, 1989). O diagnóstico de cirrose hepática foi definido previamente por meio de biópsia hepática percutânea, quando não foi possível, o diagnóstico foi confirmado por meio de dados clínicos: alterações de características propedêuticas do fígado (borda, consistência e superfície), presença de ascite, spiders, esplenomegalia e encefalopatia hepática; da propedêutica armada (ultra-sonografia ou tomografia computadorizada) e da presença de varizes de esôfago ou gastropatia congestiva da hipertensão portal.

Dezoito pacientes Child A, sendo 13 do sexo masculino e 5 do sexo feminino, com idade média de 49,9 anos (34 a 76 anos), com peso médio de 73,7 Kg (51,5 a 115 Kg), com altura média de 1,67 m (1,38 a 1,85 m).

Um paciente Child B, sexo masculino, idade 69 anos, peso 69 Kg, altura 1,70 m. Em nossa região houve extrema dificuldade para obter pacientes cirrótico Child B somente por vírus da hepatite C.

Cinco pacientes Child C, sendo 3 do sexo masculino e 2 do sexo feminino, com idade média de 60,2 anos (51 a 75 anos), com peso médio de 67,4 Kg (52 a 78 Kg), com altura média de 1,62 m (1,49 a 1,80 m).

Tabela 2 - Classificação dos grupos por alteração histológica, considerando sexo, idade média, peso médio e altura média.

	VOL	HCL	HCMS	CHA	CHB	CHC
N=71	20	9	18	18	1	5
	12	7	17	13	1	3
	8	2	1	5		2
IDADE M.	29,2	35,9	44,9	49,9	69,0	60,2
PESO M.	70,4	71,5	79,5	73,7	69,0	67,4
ALTURA M.	1,70	1,68	1,73	1,67	1,70	1,62

Foram excluídos pacientes com episódios de hemorragia digestiva na semana anterior ao estudo, com processo infeccioso de etiologia bacteriana em atividade, com neoplasia do trato gastrointestinal ou hepática, com insuficiência renal, pacientes submetidos anteriormente a cirurgias do trato gastrointestinal, que estejam usando ou tenham feito uso, nas quatro semanas anteriores ao estudo, de bebidas alcoólicas, procinéticos, bloqueadores de secreção ácida ou antimicrobianos.

3.2 - PROTOCOLO CLÍNICO

ADMINISTRAÇÃO DA METACETINA E COLETA DO AR EXPIRADO

Os participantes foram admitidos na Unidade de Farmacologia e Gastroenterologia (UNIFAG) da Universidade São Francisco (USF), 30 min antes do início do teste, onde permaneceram em repouso até cerca de 30 min após a coleta da última amostra de ar expirado (permanência total de 3h). Todas as coletas foram realizadas no período matinal após jejum de no mínimo 8 horas.

Foi administrada uma dose de 75 mg de metacetina (*Wagner GmbH, Bremer-Alemanha*) dissolvida em 100 ml de chá preto cafeinado não adoçado à temperatura entre 37 e 40 °C. Amostras de ar expirado foram coletadas nos seguintes tempos: 0 min (antes da administração), 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 60 min, 80 min, 100 min, 120 min. As amostras foram coletadas e armazenadas em bolsas fechadas de plástico aluminizado contendo 1200ml de ar até a determinação do C₁₃. Esse armazenamento não excedeu quinze dias entre o tempo de coleta e análise do C₁₃ em nenhum indivíduo estudado.

DETERMINAÇÃO DO C₁₃:

A determinação do C₁₃ expirado nas amostras foi realizada na Disciplina de Gastroenterologia da FCM da UFMG por meio de espectrometria infravermelha não dispersiva, seletiva para isótopo – IRIS - (*Wagner GmbH, Bremer-Alemanha*). Os resultados foram expressos em DOB (*delta over baseline*), velocidade de metabolização (% C₁₃ dose/hora) e a % da dose acumulada. Foram obtidos a concentração máxima atingida de C₁₃ (C_{max}) e o tempo ao qual a mesma aparece (T_{max}).

Todos os participantes foram devidamente esclarecidos sobre os objetivos do trabalho e deram seu consentimento por escrito (anexo 1). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da USF.

3.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados pela Comissão de Pesquisa – Estatística da FCM – Unicamp. Foram utilizadas tabelas de frequências para as variáveis categóricas (sexo e tabagismo) e estatísticas descritivas para as variáveis contínuas (idade, peso, altura, IMC e DOB). Foram verificadas a frequência e as estatísticas dessas variáveis em cada grupo.

Para verificar se existem associações entre os grupos e as variáveis sexo e tabagismo foi utilizado o teste Qui-quadrado. Quando os valores esperados foram menores que 5, utilizou-se o teste exato de Fisher, sendo considerado significativa a associação quando o p-valor ≤ 0.05 .

Para explicar a variabilidade de DOB em função dos fatores grupo e tempo utilizou-se a Análise de Variância para medidas repetidas com co-variáveis, que define o seguinte modelo:

$$\text{DOB} = \mu + \text{Grupo}_i + \text{Tempo}_j + \text{Idade}_k + \text{Tabag}_w + \text{Grupo}*\text{Tempo}_{ij} + \text{Grupo}*\text{Idade}_{ik} + \text{Grupo}*\text{Tabag}_{iw} + \text{Tempo}*\text{Idade}_{jk} + \text{Tempo}*\text{Tabag}_{jw} + \text{Tempo}*\text{Idade}*\text{Grupo}_{jki} + \text{Tempo}*\text{Tabag}*\text{Grupo}_{jwi}$$

onde:

μ é o valor médio da DOB;

Grupo_i é o efeito do grupo (VOL, HCL, HCMS, CHA e CHBC);

Tempo_j é o efeito do tempo (10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120);

Idade_k é o efeito da covariável Idade;

Tabag_w é o efeito da covariável Tabagismo;

$\text{Grupo}*\text{Tempo}_{ij}$ é o efeito da interação entre grupo(i) e tempo(j);

$\text{Grupo}*\text{Idade}_{ik}$ é o efeito da interação entre grupo(i) e a covariável(k);

$\text{Grupo}*\text{Tabag}_{iw}$ é o efeito da interação entre grupo(i) e a covariável(w);

$\text{Tempo}*\text{Idade}_{jk}$ é o efeito da interação entre tempo(j) e a covariável(k);

Tempo*Tabag_{jw} é o efeito da interação entre tempo(j) e a covariável(w);

Tempo*Idade*Grupo_{jki} é o efeito da interação entre tempo(j), a covariável(k) e o grupo(i);

Tempo*Tabag*Grupo_{jwi} é o efeito da interação entre tempo(j), a covariável(w) e o grupo(i).

Para a realização das comparações múltiplas (comparação de cada grupo pelos tempos pré-determinados), foi realizado o Teste de Tukey, considerado estatisticamente significativo com $\alpha \leq 0,05$ (CONOVER, 1971; KHATTREE *et al*, 1995).



4 - RESULTADOS

Foram analisadas amostras de ar expirado de 71 indivíduos após administração de 0,75 mg de ^{13}C -metacetina, os quais foram divididos em seis grupos: O grupo controle foi composto por 20 voluntários, após confirmação com exames anteriormente descritos, sendo 12 do sexo masculino e 8 do sexo feminino. O grupo de hepatite crônica, composto por 27 pacientes, foi dividido em, de acordo com o score obtido na biópsia hepática (0-5: leve; 6-15: moderado a severo), 9 pacientes com HCL – 7 do sexo masculino e 2 do sexo feminino e 18 pacientes com HCMS, sendo 17 do sexo masculino e 1 do sexo feminino. O grupo de cirróticos, constituído por 24 pacientes, foi dividido em 18 pacientes Child A – 13 do sexo masculino e 5 do sexo feminino, 1 paciente Child B do sexo masculino e 5 pacientes Child C – 3 do sexo masculino e 2 do sexo feminino. A distribuição dos grupos em relação ao sexo pode ser vista na tabela 3.

Tabela 3 - Tabela de frequência da variável sexo para os diferentes grupos.

SEXO	VOL	HCL	HCMS	CHA	CHB	CHC	TOTAL
	12	7	17	13	1	3	53
	8	2	1	5		2	18
TOTAL	20	9	18	18	1	5	71

A variável tabagismo não foi encontrada no grupo controle. No grupo de hepatite crônica foi observado em 11% dos pacientes com HCL, um tabagista entre 9 pacientes; e 39% no grupo de HCMS, 7 entre 18 pacientes. No grupo de cirróticos observou-se tabagismo em 33% dos pacientes Child A, 6 em 18 pacientes, e essa variável não foi observada no grupo Child C. A frequência da variável tabagismo entre os grupos pode ser observada na tabela 4.

Tabela 4 - Tabela de frequência da variável tabagismo para os diferentes grupos.

TABAGISMO	VOL	HCL	HCMS	CHA	CHB	CHC	TOTAL
NÃO	20	8	11	12	0	5	56
SIM	0	1	7	6	1	0	15

TOTAL	20	9	18	18	1	5	71
--------------	-----------	----------	-----------	-----------	----------	----------	-----------

Utilizando-se o Teste Exato de Fischer para avaliar diferenças estatísticas entre os grupos e as variáveis sexo e tabagismo, concluiu-se que para o sexo não há diferenças estatísticas entre os grupos (*Fisher's Exact Test* 0.1282), enquanto que está foi observada para o tabagismo (*Fisher's Exact Test* 0.0108).

A variável idade entre os grupos esteve entre 24 a 39 anos para VOL, sendo a média de 29,2 anos. Para o grupo HCL variou de 24 a 51 anos, com média de 35,9 anos e para HCMS variou de 31 a 58 anos, com média de 44,9 anos. Os pacientes cirróticos apresentaram uma maior variação, de 34 a 76 anos para Child A, com média de 44,9 anos e, de 51 a 75 anos para Child B e C, com média de 61 anos. Esses dados podem ser observados na tabela 5.

A variável idade por grupo mostrou-se estatisticamente diferente (*tabela 5*), e quando realizado a comparação múltipla pelo Teste de Tukey com $\alpha \leq 0,05$, percebe-se diferença estatística entre o grupo de VOL com o grupo de HCMS, grupo de VOL e com os grupos de cirrose hepática; entre o grupo de HCL e os grupos de cirrose; entre os grupos de HCMS e cirrose hepática Child B e C.

Tabela 5 - Tabela de estatísticas descritivas da variável Idade para os diferentes grupos.

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	29.20	4.48	24.00	29.00	39.00
HCL	9	35.89	8.07	24.00	35.00	51.00
HCMS	18	44.94	6.66	31.00	44.50	58.00
CHA	18	49.94	12.24	34.00	44.50	76.00
CHBC	6	61.00	9.19	51.00	62.00	75.00

Anova p-valor = **0.0001**

Para o grupo controle o peso variou de 51,5 a 89 Kg, com média de 70,41 Kg, a altura de 1,58 a 1,82 m, com média de 1,71 m. Os pacientes com HCL tinham peso de 50 a 92,5 Kg , com média de 71,5 Kg e altura de 1,58 a 1,88 m, com média de 1,68 m. Os pacientes com HCMS apresentaram peso entre 45 a 95 Kg, com média de 79,5 Kg e altura entre 1,55 a 1,88 m, com média de 1,73 m. Para o grupo CHA, o peso variou entre 49,7 a 115 Kg, com média de 73,75 Kg e a altura variou de 1,38 a 1,85 m, com média de 1,67 m. Para o grupo CHB e CHC o peso variou entre 52 a 78 Kg, média de 67,67 Kg e altura entre 1,49 a 1,80 m, com média de 1,63 m.

Foram testadas as variáveis peso, altura e IMC por grupo e não foram encontradas diferenças significativas. Seus valores podem ser observados nas tabelas 6, 7 e 8.

Tabela 6 - Tabela de estatísticas descritivas da variável Peso para os diferentes grupos.

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	70.41	11.81	51.50	70.00	89.00
HCL	9	71.50	12.91	50.00	70.00	92.50
HCMS	18	79.50	14.73	45.00	84.50	95.00
CHA	18	73.75	15.59	49.70	72.50	115.00
CHBC	6	67.67	8.57	52.00	69.00	78.00

Anova p-valor = 0.2229

Tabela 7 - Tabela de estatísticas descritivas da variável Altura para os diferentes grupos.

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	1.71	0.07	1.58	1.71	1.82
HCL	9	1.68	0.10	1.58	1.65	1.88
HCMS	18	1.73	0.09	1.55	1.74	1.88

CHA	18	1.67	0.10	1.38	1.70	1.85
CHBC	6	1.63	0.11	1.49	1.63	1.80

Anova p-valor = 0.1290

Tabela 8 - Tabela de estatísticas descritivas da variável IMC para os diferentes grupos.

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	24.10	2.81	18.00	23.75	29.70
HCL	9	25.34	4.52	18.60	25.60	33.20
HCMS	18	26.52	5.09	18.50	26.30	34.80
CHA	18	26.31	4.07	17.00	26.55	36.70
CHC	6	25.32	2.08	23.40	24.35	28.00

Anova p-valor = 0.3660

Variável Delta Overbaseline

Os valores de delta overbaseline foram obtidos nos tempos de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 e 120 minutos para todos os grupos, calculando-se a média.

Para o grupo VOL foram obtidos valores de DOB no tempo 10 minutos de no mínimo 4.80 e máximo de 27.40, sendo a média de 14.33. Para o tempo 20 minutos foram obtidos valores entre 12.90 e 34.30, sendo a média de 22.44. Para 30 minutos, valores entre 13.10 e 28.60, média de 20.42. Para o tempo 40 minutos, valores entre 10.70 e 25.00, sendo a média de 17.23. No tempo de 50 minutos, encontraram-se valores de 8.20 a 21.30, com média de 14.37. Para o tempo 60 minutos, os valores foram entre 8.30 e 17.30, sendo a média de 12.37. No tempo de 80 minutos, encontraram-se valores de 6.60 a 13.90, com média de 9.61. Para 100 minutos, valores entre 5.10 e 10.80, média de 7.80. Para o tempo de 120 minutos, foram obtidos valores entre 3.90 e 9.00, sendo a média de 6.34.

Para o grupo HCL foram obtidos valores de DOB no tempo 10 minutos de no mínimo 9.10 e máximo de 28.80, sendo a média de 15.00. Para o tempo 20

minutos valores entre 13.90 e 28.70, sendo a média de 18.71. Para 30 minutos, valores entre 13.00 e 22.70, média de 16.63. Para o tempo 40 minutos, encontraram-se valores entre 9.90 e 19.40, sendo a média de 14.57. No tempo de 50 minutos, foram obtidos valores de 8.00 a 19.00, com média de 12.81. Aos 60 minutos, valores entre 6.70 e 15.00, sendo a média de 10.93. No tempo de 80 minutos, encontraram-se valores de 4.70 a 11.10, com média de 8.38. Para 100 minutos, valores entre 3.90 e 8.90, média de 6.77. Para o tempo de 120 minutos, valores entre 2.20 e 7.40, sendo a média de 5.38.

Para o grupo HCMS foram obtidos valores de DOB no tempo 10 minutos de no mínimo 5.40 e máximo de 29.50, média de 14.15. No tempo 20 minutos valores entre 10.70 e 32.60, sendo a média de 20.83. Para 30 minutos, valores entre 14.00 e 30.70, média de 19.20. Para o tempo 40 minutos, foram encontrados valores entre 10.90 e 25.30, sendo a média de 16.02. No tempo de 50 minutos, encontraram-se valores de 9.70 a 21.60, com média de 13.40. Para o tempo 60 minutos, valores entre 8.50 e 18.10, sendo a média de 11.44. No tempo de 80 minutos, encontraram-se valores de 6.60 a 14.60, com média de 8.77. Para 100 minutos, valores entre 5.50 e 12.80, média de 7.28. Para o tempo de 120 minutos, valores entre 4.10 e 10.80, sendo a média de 5.98.

Para o grupo CHA foram obtidos valores de DOB no tempo 10 minutos de no mínimo 0.80 e máximo de 23.70, sendo a média de 10.90. Para o tempo 20 minutos, valores entre 2.80 e 29.50, sendo a média de 15.52. Para 30 minutos, valores entre 4.40 e 26.10, média de 14.63. Para o tempo 40 minutos, valores entre 4.80 e 23.00, sendo a média de 13.03. No tempo de 50 minutos, valores de 4.60 a 18.70, com média de 11.55. Para o tempo 60 minutos, valores entre 4.50 e 15.20, sendo a média de 10.10. No tempo de 80 minutos, valores de 4.40 a 11.10, com média de 8.21. Para 100 minutos, valores entre 3.80 e 9.30, média de 6.98. Para o tempo de 120 minutos, valores entre 3.40 e 8.00, sendo a média de 5.93.

Para o grupo CHB foi obtido valor de DOB no tempo 10 minutos de 3.2. Para o tempo 20 minutos obteve-se valor de 4.8. Para 30 minutos, valor de 6.1. Para o tempo 40 minutos, valor de 6.1. No tempo de 50 minutos, encontrou-se

valor de 6.8. Para o tempo 60 minutos, obteve-se valor de 6.5. No tempo de 80 minutos, encontrou-se valor de 6.8. Para 100 minutos, valor de 5.9. Para o tempo de 120 minutos, obteve-se valor de 5.1.

Para o grupo CHC foram obtidos valores de DOB no tempo 10 minutos de no mínimo -0.20 e máximo de 2.30, sendo a média de 0.96. Para o tempo 20 minutos encontraram-se valores entre 0.40 e 3.70, sendo a média de 1.88. Para 30 minutos, valores entre 0.60 e 4.30, média de 2.28. Para o tempo 40 minutos, foram obtidos valores entre 0.50 e 4.50, sendo a média de 2.62. No tempo de 50 minutos, valores de 0.50 a 5.30, com média de 2.84. Para o tempo 60 minutos, valores entre 0.70 e 6.90, sendo a média de 3.34. No tempo de 80 minutos, encontraram-se valores de 0.50 a 7.10, com média de 3.42. Para 100 minutos, valores entre 0.30 e 7.30, média de 3.50. Para o tempo de 120 minutos, valores entre 0.50 e 7.10, sendo a média de 3.40.

A média da variável DOB em todos os tempos e para todos os grupos está apresentada na tabela 9 e na figura 1. O diagrama foi construído com DOB aos 20 minutos (*figura 2*).

Tabela 9 - Tabela estatística descritiva da média da variável DOB para os diferentes grupos em todos os tempos.

GRUPOS	VOL	HCL	HCMS	CHA	CHB	CHC
T10	14,3	15	14,1	10,9	3,2	1
T20	22,4	18,7	20,8	15,5	4,8	1,9
T30	20,4	16,6	19,2	14,6	6,1	2,3
T40	17,2	14,6	16	13	6,1	2,6
T50	14,4	12,8	13,4	11,5	6,8	2,8
T60	12,4	10,9	11,4	10,1	6,5	3,3
T80	9,6	8,4	8,8	8,2	6,8	3,4
T100	7,8	6,8	7,3	7	5,9	3,5
T120	6,3	5,4	6	5,9	5,1	3,4

No tempo de 10 minutos há diferenças significativas entre os seguintes grupos: voluntários versus pacientes cirróticos Child C; pacientes portadores de hepatite crônica versus pacientes cirróticos Child C e dentro do grupo de pacientes com cirrose, separados pela classificação de Child, Child A e Child C. No tempo de 20 minutos há diferenças significativas entre os seguintes grupos: voluntários versus pacientes cirróticos Child A e Child C; pacientes portadores de hepatite crônica versus pacientes cirróticos Child C e dentro do grupo de pacientes com cirrose, separados pela classificação de Child, Child A e Child C. No tempo de 30 minutos os resultados encontrados são entre os grupos comentados acima, acrescido da diferença entre o grupo de portadores de hepatite crônica moderada a severa e cirrose hepática Child A. No tempo de 40 minutos, os resultados são idênticos ao tempo de 20 minutos. Nos tempos de 50, 60, 80 e 100 minutos, os resultados são idênticos ao tempo de 10 minutos. No tempo de 120 minutos há diferenças significativas entre os seguintes grupos: voluntários versus pacientes cirróticos Child C; pacientes portadores de hepatite crônica moderada a severa versus pacientes cirróticos Child C e pacientes com cirrose Child A e Child C. Esses resultados podem ser observados na tabela 10.

Tabela 10 - Tabela da análise estatística da variável DOB entre os diferentes grupos em todos os tempos.

	VOL/ CHA	VOL/ CHC	HCL/ CHC	HCMS/ CHA	HCMS/ CHC	CHA/ CHC
10	n.s	*	*	n.s	*	*
20	*	*	*	n.s	*	*
30	*	*	*	*	*	*
40	*	*	*	n.s	*	*
50	n.s	*	*	n.s	*	*
60	n.s	*	*	n.s	*	*
80	n.s	*	*	n.s	*	*

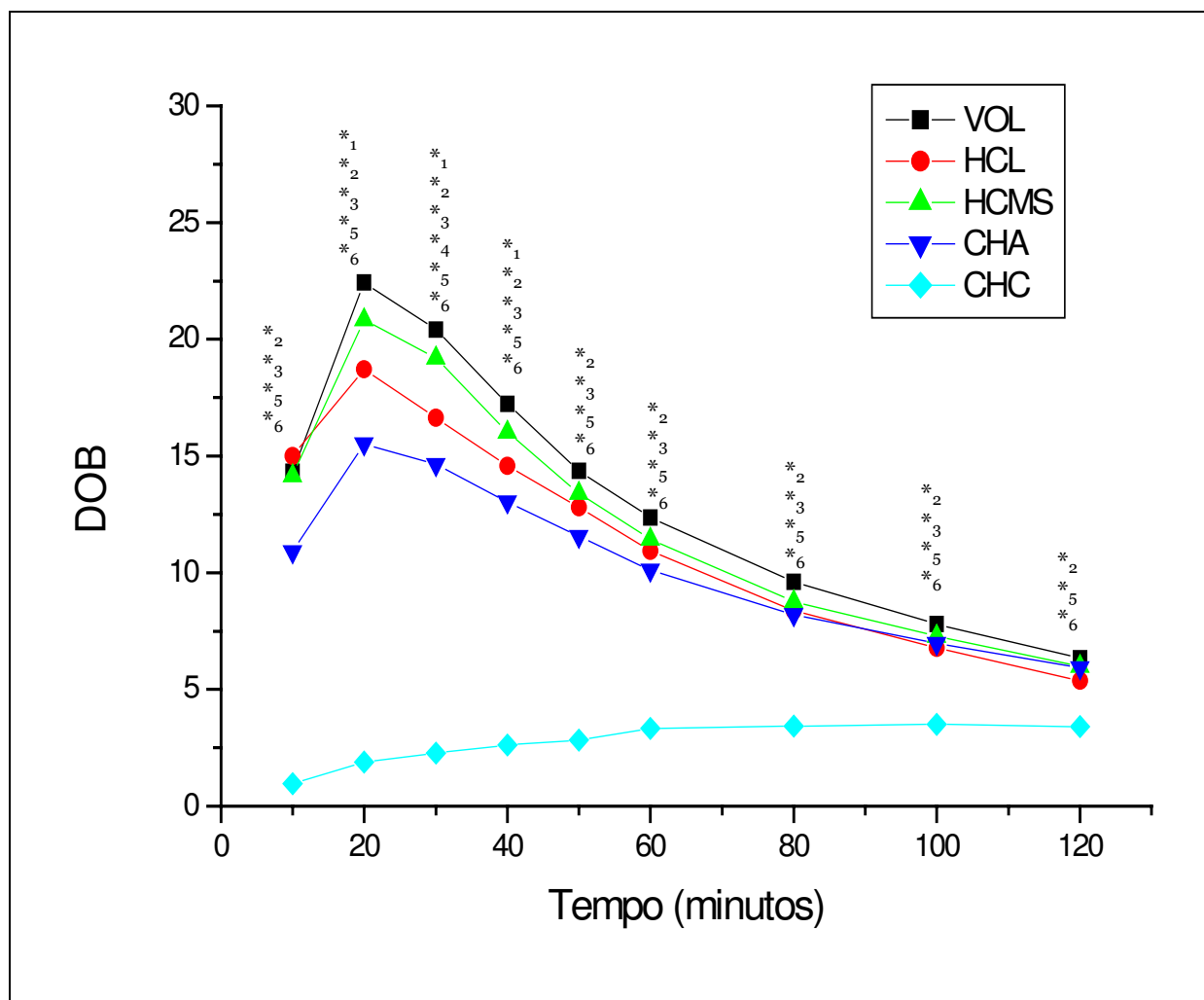
Resultados

100	n.s	*	*	n.s	*	*
120	n.s	*	n.s	n.s	*	*

*Teste de Tukey $\alpha \leq 0,05$

n.s = não significante

A visualização dos resultados é melhor observada na figura 1.



*1 VOL X CHA	$\alpha \leq 0,05$
*2 VOL X CHC	$\alpha \leq 0,05$
*3 HCL X CHC	$\alpha \leq 0,05$
*4 HCMS X CHA	$\alpha \leq 0,05$
*5 HCMS X CHC	$\alpha \leq 0,05$
*6 CHA X CHC	$\alpha \leq 0,05$

Figura 1 - Curva das médias dos valores de DOB em cada tempo pelos grupos representados.

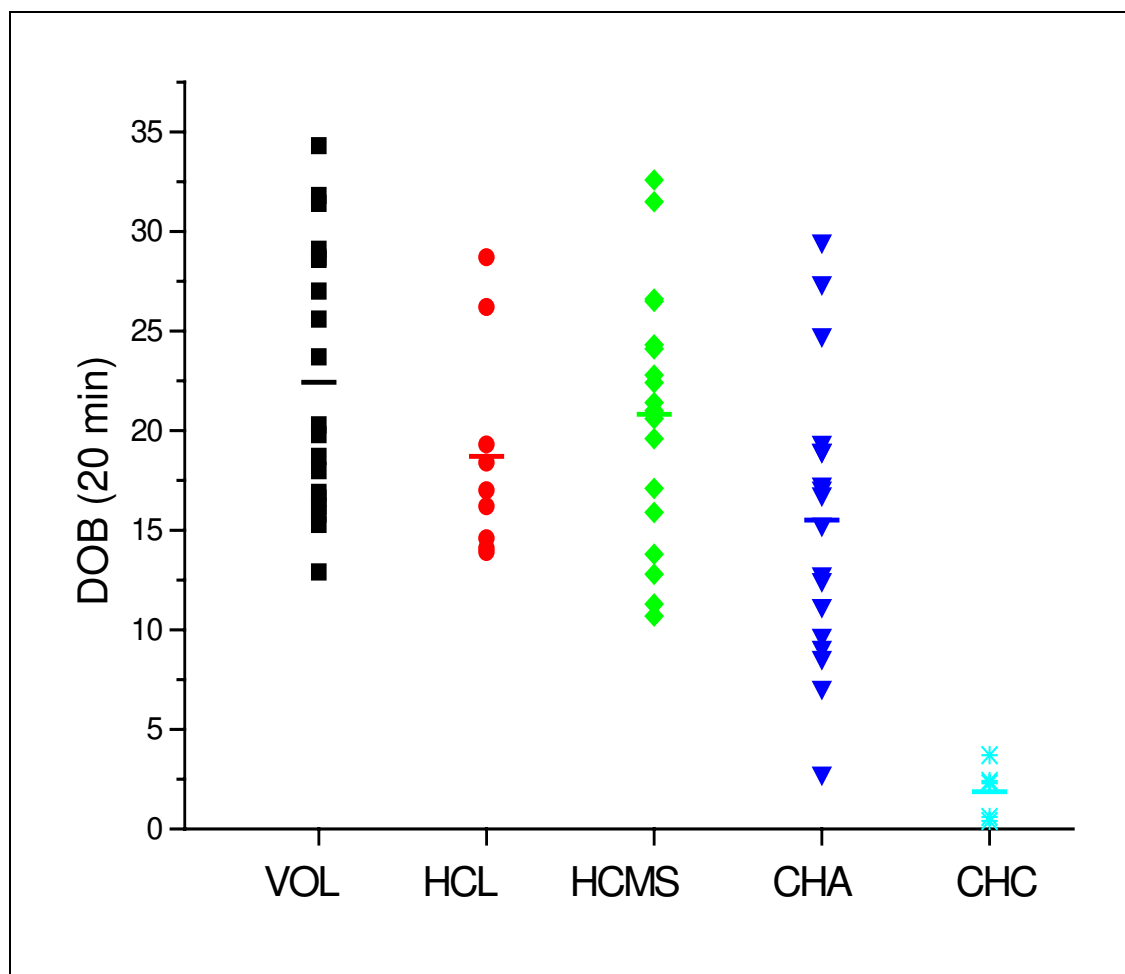


Figura 2 - Diagrama de pontos da medida DOB (20 minutos), sendo a média representada pelo traço em cada grupo apresentado.



5 - DISCUSSÃO

Os testes respiratórios com isótopos ^{13}C vêm ocupando crescente papel na avaliação funcional do fígado em decorrência de sua simplicidade e, principalmente, porque são isentos dos riscos da radioatividade e realizados de forma não invasiva. Dentre esses, o teste respiratório da ^{13}C -metacetina tem sido considerado excelente no acompanhamento da doença hepática crônica, sendo superior ao teste da aminopirina por sua metabolização mais rápida e por não apresentar nenhum risco de toxicidade em baixas doses (*REBER et al., 2000*). O teste é obtido através da análise do ar expirado por espectrometria infravermelha, a qual apresenta correlação linear com a espectrometria de massa, embora com sensibilidade inferior a essa (*ADAMEK et al., 1999*).

A necessidade de se obter um teste capaz de estimar a função hepática sendo aplicável a todos os pacientes e isento de riscos, proporcionou maior interesse nos testes respiratórios da metacetina, KRUMBIERGEL (1985) e seus colaboradores avaliaram o uso de ^{13}C em relação ao ^{14}C , obtendo resultados muito semelhantes. Também analisaram a resposta em pessoas normais e pacientes cirróticos, sendo estatisticamente diferentes (*ARMUZZI et al., 2002*).

O grupo de FAHL (1984) avaliou doses diferentes de ^{13}C -metacetina somente em voluntários, onde ocorreu um crescimento linear das taxas de excreção $^{13}\text{CO}_2$ sem saturação. Esse grupo relatou uma significativa correlação entre valores do teste, ácidos biliares totais e histologia em pacientes hepatopatas (*ARMUZZI et al., 2002*). Em nosso estudo, realizamos uma curva padrão composta por voluntários sadios, não tabagistas, não usuários de drogas ou de medicamentos, com idade inferior a 40 anos. Os valores da metabolização da ^{13}C -metacetina estiveram de acordo com a literatura, com concentração máxima no tempo de 20 minutos.

Em relação à idade, obtivemos resultados estatisticamente significantes entre os grupos, mas não há relatos de redução de metabolização da metacetina em indivíduos de terceira idade (*ARMUZZI et al., 2002*). Em relação às outras variáveis, peso, altura, IMC, não foram encontradas diferenças significativas.

Uma pequena interferência no metabolismo da metacetina e no

metabolismo da antipirina tem sido relatada por tabagismo e uso de drogas anticonvulsivantes (ARMUZZI *et al.*, 2002). Entretanto, pouco se sabe sobre os fatores que podem influenciar a acurácia dessa determinação ou influenciar a metabolização hepática dessa substância (REBER *et al.*, 2000). Em nosso estudo, o grupo de voluntários sadios não é composto por tabagistas, ao passo que o grupo de portadores de hepatite crônica tem 11% de tabagismo na classificação leve e 39% na classificação moderada a severa. Como não há diferenças estatísticas entre pacientes sãos e portadores crônicos para o teste, sugerimos uma não interferência do tabagismo no resultado do teste em relação a metabolização da metacetina.

MATSUMOTO (1987) e colaboradores estudaram pacientes com hepatite crônica, cirrose hepática compensada e descompensada, hepatocarcinoma e cirrose biliar primária, confirmados por biópsia hepática e mostraram que os valores do teste respiratório foram inversamente proporcionais à severidade da patologia. O ^{13}C recuperado no CO_2 após 30 minutos foi considerado como o melhor parâmetro para comparação entre os grupos. Não observaram diferenças estatísticas entre voluntários e pacientes com hepatite crônica leve. Mas, comparando os grupos de hepatite crônica moderada a severa, cirrose compensada e descompensada e hepatocarcinoma foi possível notar valores significativamente menores de acordo com a progressão da doença (ARMUZZI *et al.*, 2002).

Avaliamos o teste respiratório da ^{13}C -metacetina como um teste de função hepática quantitativo. Partimos da análise dos valores de DOB por serem estes mais sensíveis do que os valores obtidos da concentração de ^{13}C por tempo. Observamos concentração máxima de DOB do ^{13}C aos 20 minutos após a ingestão da metacetina via oral, sendo encontrado no tempo de 30 minutos de coleta maiores diferenças significativas entre os grupos. Sugere-se que o valor obtido nesta determinação poderia ser utilizado como teste de função hepática.

Não encontramos diferenças significativas entre voluntários e pacientes com hepatite crônica em nenhum tempo analisado. Por outro lado, os pacientes com cirrose, Child B e Child C, podem ser diferenciados de todos os grupos em

todos os tempos. Entretanto, podemos afirmar a diferença somente dos pacientes cirróticos Child C, devido ao número restrito de pacientes Child B no estudo. O teste não foi significativo para diferenciar pacientes com hepatite crônica leve de hepatite crônica moderada a severa.

KLATT (1997) e seu grupo procuraram comparar o teste respiratório da metacetina com o teste MEGX e o teste do verde de indocianina, correlacionando com a classificação de Child-Pugh. Apontaram que valores do teste não foram significativamente diferentes entre cirróticos Child A e Child B, mas os pacientes com Child C têm uma curva de metabolização da metacetina mais lenta e reduzida (KLATT *et al.*, 1997). Em nosso trabalho, a curva obtida para pacientes cirróticos Child C esteve dentro do estabelecido na literatura, sendo lenta e reduzida, não havendo pico nos valores de DOB aos 20 minutos como nos outros grupos.

Portanto, observou-se diferenças estatísticas entre pacientes com hepatite crônica e cirróticos, e uma melhor correlação deste teste com a classificação de Child-Pugh quando comparado aos outros, relatando uma especificidade de 95% e sensibilidade de 93,5% para o prognóstico da cirrose hepática (KLATT *et al.*, 1997).

PLAFFENBACH (1998) também relatou em seu estudo diferenças entre as curvas de metabolização da metacetina para voluntários sadios e pacientes cirróticos (ARMUZZI *et al.*, 2002). Um estudo realizado por LARA BARUQUE (2000), em que o teste foi usado para investigar a capacidade de função hepática em voluntários sadios, pacientes com hepatite crônica e cirrose hepática (Child A e Child C), mostrou que o mesmo tem melhor resultado quando comparado à % da dose/hora aos 10 minutos, diferenciando dos grupos anteriores que preconizavam 20 ou 30 minutos. Seu estudo obteve diferenças entre todos os grupos, com coeficiente de regressão alto para voluntários versus pacientes com hepatite crônica e para cirróticos Child A versus Child C (LARA BARUQUE *et al.*, 2000).

Deve-se, entretanto, ser observado que apesar de termos encontrado diferenças significativas em relação à média dos valores para os grupos,

individualmente, existe uma sobreposição destes (figura 2), ou seja, os valores obtidos de DOB nos tempos para cada grupo foi muito amplo dentro dos mesmos, havendo coincidências de valores individuais.



- O teste é de fácil realização, não invasivo, não sendo observados efeitos colaterais durante e após o procedimento. Assim, ele é considerado de fácil aplicabilidade, podendo fazer parte da rotina diagnóstica;
- Uma única coleta de amostra, realizada 30 minutos após a administração da metacetina, é suficiente para avaliação do paciente;
- Deve-se fazer uma curva padrão para cada faixa etária, para se obter uma melhor definição sobre a sua interferência no estudo;
- No estudo não há diferenças estatísticas entre pacientes sãos e portadores crônicos, portanto sugere-se uma não interferência do tabagismo no resultado do teste em relação a metabolização da metacetina;
- O teste diferenciou muito bem o grupo controle dos pacientes cirróticos e o grupo de hepatopatas crônicos de pacientes Child C;
- Há uma sobreposição de dados individuais, obtidos ao mesmo tempo para grupos diferentes, o que não é desejável para um teste dinâmico de função hepática, dificultando a interpretação de resultados em pacientes individualmente;
- Deve-se avaliar um maior número de pacientes para sua definição, em relação à aplicabilidade clínica.



*7 -
REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS*

ADAMEK, R. J.; GOETZE, O.; BOEDEKER, C.; PFAFFENBACH, B.; LUYPAERTS, A.; GEYPENS, B. ¹³C-methacetin breath test: isotope selective nondispersive infrared spectrometry in comparison to isotope ratio mass spectrometry in volunteers and patients with liver cirrhosis. **Z.Gastroenterol**, 37: 1139-1143, 1999.

ALBERTI, A.; CHEMELLO, L.; BENVEGNÙ, L. Natural history of hepatitis C. **J Hepatol**, 31(1): 17-24, 1999.

AMARAPURKAR, D. Towards control of hepatitis C in the Asia-Pacific region. Natural history of hepatitis C virus infection. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 15: E105-E110, 2000.

ARMUZZI, A.; CANDELLI, M.; ZOCCO, M. A.; ANDREOLI, A.; LORENZO, A.; NISTA, E. C. et al. Review article: breath testing for human liver function assessment. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, 16: 1977-1996, 2002.

BEAUNE, P.; DANSETTE, P. M.; MANSUY, D. Human anti-endoplasmatic reticulum autoantibodies appearing in a drug-induced hepatitis are directed against a human liver cytochrome P450 that hydroxylates the drug. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 84(2): 551, 1987.

BELLENTANI, S.; POZZATO, G.; SACCOCCIO, M.; CROVATTO, M.; CROCE, L. S.; MASSORAN, L. et al. Clinical course and risk factors of hepatitis C virus related liver disease in the general population: report from the Dionysos study. **Gut**, 44: 874-880, 1999.

BOYER, N. ;MARCELLIN, P. Pathogenesis, diagnosis and management of hepatitis C. **Journal of Hepatology**, 32(1): 98-112, 2000.

BRODIE, B. B.; AXELROD, J. The fate of antipyrine in man. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 98: 97-104, 1950.

BRODY, D. H.; LEICHTER, L. Clearance tests of liver function. **Med. Clin North Am.**, 63(3): 621-630, 1979.

CAESAR, J.; SHALDON, S.; CHIANDUSSI, L.; GUEVARA, L.; SHERLOCK, S. The use of indocyanine green in the mensurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. **Clin. Sci.**, 21: 43-57, 1961.

CALLAGHAN, R.; DESMOND, P. V.; PAULL, P.; MASHFORD, M. L. Hepatic enzyme determining elimination rate of high-clearance drugs in cirrhosis. **Hepatology**, 18(1): 54-60, 1993.

CHERRICK, G. R.; STEIN, S. W.; LEEVY, C. M.; DAVIDSON, C. S. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. **J. Clin. Invest.**, 39: 592-600, 1960.

CONOVER, W. J. **Practical Nonparametric Statistics**. New York: John Wiley & Sons, 462, 1991.

DANHOF, M.; VERBEEK, R. M.; BOEIJINGER, J. K. Differential effects of enzyme induction on antipyrine metabolite formation. **Br. J. Clin. Pharmacol.**, 13(3): 379-386, 1982.

DESMET, V. J.; GERBER, M.; HOOFNAGLE, J. H.; MANNS, M.; SCHEUER, P. J. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. **Hepatology**, 19: 1513-1520, 1994.

DESMOND, P. V.; PATWARDHAN, R. V.; JOHNSON, R. F.; SCHENKER, R. Impaired elimination of caffeine in cirrhosis. **Dig. Dis. Sci.**, 25: 193-197, 1980.

DIAZ, D.; FABRE, I.; DAUJAT, M. Omeprazole is an arylhydrocarbon like inducer of human hepatic cytochrome P450. **Gastroenterology**, 99(3): 737, 1990.

ELIN, R. J.; FRIED, M. W.; SAMPSON, M.; RUDDER, M.; KLEINER, D. E.; DIBISCEGLIE, A. M. Assessment of monoethylglycinexylidide as a measurement of liver function for patients with chronic viral hepatitis. **Clin Chem**, 43: 1952-1957, 1997.

FABRIS, L.; JEMMOLO, R. M.; TOFFOLO, G.; PALEARI, D.; VIAGGI, S.; RIGON, M. et al. The monoethylglycinexylide test for grading of liver cirrhosis. **Aliment Pharmacol Ther**, 13: 67-75, 1999.

FAHL, J.; KAPLAN, R.; ANTONOW, D. ¹³C-methacetin breath test (MBT) for hepatic functions. A noninvasive approach. **Hepatology**, 4:1094. 1984.

FAHL, J.; WONG, W.; KLEIN, P. D.; WATKINS, J. B. ¹³C-methacetin breath test (MBT): a comparative analyses. **Hepatology**, 4:1094. 1984.

FERRARI, C.; URBANI, S.; PENNA, S.; CAVALLI, A.; VALLI, A.; LAMONACA, V. et al. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. **Journal of hepatology**, 31(1): 31-38, 1999.

GEORGE, J.; LIDDLE, C.; MURRAY, M.; BYTH, K.; FARREL, G. C. Pre-translational regulation of cytochrome P540 genes is responsible for disease-specific changes of individual P450 enzymes among patients with cirrhosis. **Biochem. Pharmacol.**, 49(7): 873-881, 1995.

GEORGE, J.; MURRAY, M.; BYTH, K.; FARREL, G. C. Differential alterations of cytochrome P450 proteins in liver from patients with severe chronic liver disease. **Hepatology**, 21(1): 120-128, 1995.

GORESKY, C. A.; BACH, G. U.; NADEAU, B. E. On the uptake of material by the intact liver: the transport and net removal of galactose. **J. Clin. Invest.**, 52(5): 991-1009, 1973.

HARTMANN, A. I.; BIRCHER, H.; CREUTZFELD, W. Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function test for assessing prognosis of liver cirrhosis. **Scand J Gastroenterol.**, 24: 269-276, 1989.

HENDERSON, J. M.; KUTNER, M. H.; BAIN, R. P. First-order clearance of plasma galactose: the effect of liver disease. **Gastroenterology**, 83(5): 1090-1096, 1982.

HEROLD, C.; HEINZ, R.; RADESPIEL-TRÖGER, M.; SCHNEIDER, H. T.; SCUPPAN, D.; HAHN, E. G. Quantitative testing of liver function in relation to fibrosis in patients with chronic hepatitis B and C. **Liver**, 21: 260-265, 2001.

HONDA, M.; KANEKO, S. Cell cycleregulation of hepatitis C virus internal ribossomal entry-syte directed translation. **Gastroenterology**, 118: 152, 2000.

HUANG, Y. S.; LEE, S. D.; DENG, J. F.; WU, J. C.; LU, R. H.; LIN, Y. F. et al. Measuring lidocaine metabolite-monoethylglycinexylidide as a quantitative index of hepatic function in adults with chronic hepatitis and cirrhosis. **J Hepatol**, 19: 140-147, 1993.

HUMPHRIES, T. J. Clinical implications of drug interactions whith the cytochrome P450 enzyme system associated with omeprazole. **Dig. Dis. Sci.**, 36(12): 1665, 1991.

KHATTREE, R.; NAIK, D. N. **Applied Multivariate Statistics with SAS® Software**. SAS Institute Inc. Cary, NC. 396, 1995.

KLATT, S.; TAUT, C.; MAYER, D.; ADLER, G.; BECKH, K. Evaluation of the ¹³C-methacetin breath test for quantitative liver function testing. **Z Gastroenterol** 35 (8): 609-614, 1997.

KRUG, L. P.; LUNGE, V. R.; IKUTA, N.; FONSECA, A. S. K.; CHEINQUER, H.; OZAKI, L. S. et al. Hepatitis C virus genotypes in Southern of Brazil. **Brazilian. Journal of Medical and Biological Research**, 29: 1629-1632, 1996.

KRUMBIEGEL, P.; GÜNTHER, K.; FAUST, H.; MÖBIUS, G.; HIRSCHBERG, K.; SCHNEIDER, G. Nuclear medicine liver function tests for pregnancy and children. Breath tests with ¹⁴C-methacetin and ¹³C-methacetin. **Eur J Nucl Med**, 10:129-133. 1985.

KRUMBIEGEL, P.; TEICHMANN, B.; BOEHM, G. [¹⁵N] Methacetin urine test: a method to study the development of hepatic detoxification capacity. **Eur. J. Pediatr.**, 149: 393-395, 1990.

LARA BARUQUE, S.; RAZQUIN, M. J.; JIMENEZ, I.; VASQUEZ, A.; GISBERT, J. P.; PAJARES, G. M. ^{13}C -phenylalanine and ^{13}C -methacetin breath test to evaluate functional capacity of hepatocyte in chronic liver disease. **Digest Liver Dis**, 32: 226-232, 2000.

LAUER, G. M.; WALKER, B. D. Hepatitis C virus infection. **N. Eng. Journal of Medicine**, 345(1): 41-47, 2001.

LIANG, T. J. Pathogenesis, Natural History, Treatment, and Prevention of Hepatitis C. **Annals of Internal Medicine**, 132(4): 296-305, 2000.

LOEPER, J.; DESCATOIRE, V.; MAURICE, M. Presence of functional cytochrome P450 on isolated rat hepatocyte plasma membrane. **Hepatology**, 11(5): 850-858, 1990.

LOFT, S.; OTTON, S. V.; LENNARD, M. S.; TUCKER, G. T.; POULSEN, H. E. Characterization of metronidazole metabolism by human liver microsomes. **Biochem Pharmacol**, 41: 1127-1134, 1991.

MARCELLIN, P. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Conference. **J Hepatol**, 31(1): 1-8, 1999.

MARCELLIN, P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. **J Hepatol**, 31(1): 9-16, 1999.

MATSUMOTO, K.; SUEHIRO, M.; IIO, M.; KAWABE, T.; SHIRATORI, Y.; OKANO, K. et al. ^{13}C methacetin breath test for evaluation of liver damage. **Dig Dis Sci**, 32 (11): 344-348, 1987.

MIHM, S.; FAYYAZI, A.; HARTMANN, H.; RAMADORI, G. Analysis of histopathological manifestations of chronic hepatitis C virus infection with respect of virus genotype. **Hepatology**, 25(3): 735-739, 1997.

MOHSEN, A. H. The epidemiology of hepatitis C in a UK health region population of 5.12 million. **Gut**, 48(5): 707-713, 2001.

MONDELLI, M. U.; SILINI, E. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. **Journal of hepatology**, 31(1): 65-70, 1999.

MONROE, P.; BAKER, A.; KRAGER, P.; SCHOELLER, D.; KLEIN, P. The aminopyrine breath test predicts histology and correlates with course in patients with chronic hepatitis. **Gastroenterology**, 78(6): 1314, 1980.

MURRAY, M. P450 enzymes, inhibition mechanisms, genetic regulation and effects of liver diseases. **Clin. Pharmacokinet.**, 23(2): 132-146, 1992.

MUSCARÁ, M. N.; PEDRAZZOLI, J. J.; MIRANDA, E. L.; FERRAZ, J. G.; ITOFSTATTER, E.; LEITE, G. et al. Plasma hidroxy-metronidazole/ metronidazole ratio as an index of liver function in humans. **Br J Clin Pharmacol**, 40: 477-80, 1995.

NAOUMOV, N. V. Hepatitis C virus infection in Eastern Europe. **Journal of hepatology**, 31(1): 84-87, 1999.

NEBERT, D. W.; GONZALEZ, F.J. P450 genes: structure, evolution and regulation. **Ann. Rev. Biochem.**, 56: 945-993, 1987.

NEBERT, D. W.; NELSON, D.R.; COON, M. J.; ESTRABROOK, R. W.; FEYERIESEN, R.; FUJII-KURIYAMA, Y. et al. The P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping and recommended nomenclature. **DNA Cel. Biol.**, 10(1): 1-14, 1991.

OELLERICH, M.; BURDELSKI, M.; LAUTZ, H.; SCHULZ, M.; SCHMIDT, F.; HERRMANN, H. Lidocaine metabolite formation as a measure of liver function in patients with cirrhosis. **Therapeutic Drug Monitoring**, 12(3): 219-226, 1990.

OELLERICH, M.; SCHUTZ, E.; POLZIEN, F. Influence of gender on the monoethylglycinexylidide test in normal subjects and liver donors. **Ther. Drug Monit.**, 16(3): 225-231, 1994.

OLIVEIRA, M. A. L.; BASTOS, F. I.; SABINO, R. R.; PAETZOLD, U.; SCHREIER, E.; PAULI, G. et al.,. Distribution of HCV genotypes among different exposure categories in Brazil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 32(3): 279-282, 1999.

PAGLIARO L.; PERI V.; LÍNEA, C. Natural history of chronic hepatitis C: A systematic review. **It.J Gastroenterol**, in press, 1999.

PAWLOTSKY, J. M. Diagnosis test for hepatitis C. **Journal of hepatology**, 31(1): 71-79, 1999.

PFAFFENBACH, B.; GOETZE, O.; SZYMANSKY, C.; HAGEMANN, D.; ADAMEK, R. J. The ¹³C-methacetin breath test for quantitative noninvasive liver function analysis with an isotope-specific nondispersive infrared spectrometer in liver cirrhosis. **Dtsch Med Wochenschr**, 123: 1467-1471, 1998.

POYNARD, T.; BEDOSSA, P.; OPOLON, P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. **Lancet**, 349: 825-832, 1997.

PRICHARD-DAVIS, R.; GROSS, A. S.; SHENFIELD, G. M. The effect of liver disease and food on plasma MEGX concentrations. **Br. J. Clin. Pharmacology**, 37(3): 298-301, 1994.

REBER, M. M. O. S.; PARISE, E. R. Influência do stresse oxidativo provocado pelo etanol sobre a metabolização da ¹³C-metacetina no fígado de indivíduos normais. **GED**, 19(6): 245-248, 2000.

REICHEL, C.; NACKE, A.; SUDHOP, T.; WIENKOOP, G.; LÜERS, C.; HAHN, C. et al. The low-dose monoethylglycinexylidide test: assessment of liver function with fewer side effects. **Hepatology**, 25: 1323-1327, 1997.

REICHEN, J. Assessment of hepatic function with xenobiotics. **Sem Liver Dis**, 15(3): 189-201, 1995.

RENNER, E.; WIETHOLZ, H.; HUGUENIN, P.; ARNAUD, M. J.; PREISIG, R. Caffeine: a model compound of measuring liver function. **Hepatology**, 4(1): 38-46, 1984.

RYAN, D. E.; KOOP, D. R.; THOMAS, P. E.; COON, M. J.; LEWIN, W. Evidence that isoniazid and ethanol induce the same microsomal cytochrome P450 in rat liver, an isozyme homologous to rabbit liver cytochrome P450 isoenzyme 3a. **Arch. Biochem. Biophys.**, 246(2): 633-644, 1986.

SEEFF, L. B.; MILLER, R. N.; RABKIN, C. S.; BALES, Z. B.; EASON, K. D. S.; SMOAK, B. L. et al. 45-Year follow-up of hepatitis C virus infection in healthy young adults. **Annals of Internal Medicine**, 132(2): 105-111, 2000.

SHERLOCK, S.; DOOLEY, J. **Diseases of the Liver and Biliary System**. 11 ed. Oxford, Blackwell Publishing, 2002. 706p.

SILVA, A. O. **Hepatite viral C**. São Paulo: Pizarro Farmacêutica, 128, 2001.

SILVA, C. M. F.; DAVID, F. L.; MUSCARÁ, M. N.; SOUSA, S. S.; FERRAZ, J. G. P.; NUCCI, G. et al. Plasma hydroxy metronidazole/ metronidazole ratio in anti-HCV carriers with and without apparent liver disease. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 46: 176-80, 1998.

SILVA, L. K.; PARANÁ, R.; SOUZA, S. P.; BERBY, F.; KAY, A.; TREPÓ, C. et al. Hepatitis C virus genotypes in a northeastern area of Brazil. **Am. J. Trop. Med Hyg.**, 62(2): 257-260, 2000.

SKAK, C.; KEIDENG, S. Methodological problems in the use of indocyanine green to estimate hepatic blood flow and clearance in man. **Liver**, 7(3): 155-162, 1987.

TESTA, R.; CAGLIERIS, S.; RISSO, D.; ARZANI, L.; CAMPO, N.; AVAREZ, S. et al. Monoethylglycinexylide formation measurement as a hepatic function test to assess severity of chronic liver disease. **Am J Gastroenterol**, 92: 2268-2273, 1997.

TESTA, R.; CAMPO, N.; CAGLIERIS, S.; RISSO, D.; ALVAREZ, S.; ARZANI, L. et al. Lidocaine elimination and monoethylglycinexylidide formation in patients with chronic hepatitis or cirrhosis. **Hepato-Gastroenterology**, 45: 154-159, 1998.

THOMAS, D. L.; ASTEMBORSKI, J.; RAI, R. M.; ANANIA, F. A.; SCHAEFFER, M.; GALAI, N. et al. The natural history of hepatitis C virus infection. Host, viral, and environmental factors. **Jama**, 284(4): 450-456, 2000.

TRÉPO, C.; PRADAT, P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. **Journal of hepatology**, 31(1): 80-83, 1999.

TYGSTRUP, N. Determination of hepatic galactose elimination capacity after a single intravenous injection in man. **Acta Physiol. Scand.**, 58: 162-172, 1963.

WANG, T.; KLEBER, G.; STELLAARD, F.; PAUMGARTNER, G. Caffeine elimination: a test of liver function. **Klin Wochenschr**, 63: 1124-1128, 1985.

WATKINS, P. B. Role of cytochromes P450 in drug metabolism and hepatotoxicity. **Sem. Liver Dis.** 10(4): 235-250, 1990.

WILDT, S. N.; KEARNSA, G. L.; LEEDER, J. S.; VAN DER ANKER, J. N. Cytochrome P450 3A Ontogeny and Drug Disposition. **Clin Pharmacokinet.**, 37 (6): 485-505, 1999.



8 - APÊNDICE

TERMO DE CONSENTIMENTO:

DEPURAÇÃO DA METACETINA EM PORTADORES DE HEPATOPATIA PELO VÍRUS DA HEPATITE C

Responsáveis: Dr. José Pedrazzoli Júnior e Dr. Luiz G. V. Coelho

Nome, RG, Data de nascimento, Endereço

O abaixo-assinado declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supra-citado, de responsabilidade do médico Dr. José Pedrazzoli Júnior do HUSF e Dr. Luiz G. V. Coelho da FCM-UFMG. O abaixo-assinado está ciente que:

I - O objetivo da pesquisa é verificar se as doenças crônicas do fígado causam alterações no metabolismo da metacetina administrada por via oral.

II - Durante o estudo, deverá permanecer num período de 3 horas na Unidade Integrada de Farmacologia e Gastroenterologia. Nesta ocasião lhe será administrado 75 mg de metacetina diluídas em chá preto e coletadas amostras de ar expirado durante 2 horas.

III - A participação neste estudo poderá lhe acarretar um benefício terapêutico.

IV - A administração oral de metacetina poderá causar efeitos colaterais como náuseas, vômitos, cefaléia. Além dos efeitos citados, a administração de qualquer medicamento pode causar reações idiossincráticas imprevisíveis.

V - Será submetido antes do estudo aos seguintes exames laboratoriais: hemograma com contagem de plaquetas, transaminases, fosfatase alcalina, bilirrubina total, proteínas totais, creatinina, glicemia e urina 1, além da determinação da presença do vírus das hepatites B e C e HIV na corrente sanguínea. Uma biópsia hepática poderá ser solicitada, antes da realização do estudo, caso haja indicação médica.

VI - Obteve todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre a participação do referido ensaio clínico.

VII - Está livre para interromper a participação no ensaio clínico a qualquer momento, a não ser que esta interrupção seja contra-indicada por motivo médico.

VIII - A interrupção não causará prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento pela equipe do HUSF.

IX - Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, e o HUSF não identificará o voluntário por ocasião da exposição e/ou publicação dos mesmos.

X - Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar o serviço de Pronto Socorro do HUSF e solicitar que o mesmo contate o médico responsável pelo ensaio clínico.

XI - Poderá contactar a Secretaria da Comissão de Ética para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico.

Bragança Paulista, de de 200__

Voluntário

Dr. José Pedrazzoli

ARTIGO SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO

***DEPURAÇÃO DA METACETINA EM PORTADORES
DE
HEPATOPATIA PELO VÍRUS DA HEPATITE C -
ESTUDO PILOTO***

Ramos RFB,

**Coelho LGV³, Ecclissato C, Marchioretto MAM, Bernasconi
GCR, Piovesan H² Pedrazzoli JJ**

UNIFAG, ²Departamento de Patologia, Universidade São Francisco, Bragança Paulista, SP, Brasil, ³Disciplina de Gastroenterologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Autor para correspondência:

José Pedrazzoli Júnior

Unifag-USF

Av. São Francisco de Assis 218

12916-900, Bragança Paulista, SP, Brasil.

Fax: 55-11-4034 1825

e-mail: pedrazzoli@saofrancisco.edu.br

RESUMO

Introdução: A hepatite C é a principal causa de doença hepática crônica, cirrose e carcinoma hepatocelular na atualidade. Estima-se que 170 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas. Testes quantitativos utilizando-se do clearance hepático vêm sendo propostos para um diagnóstico precoce da função hepática. A metacetina é uma droga de metabolização hepática, resultando em CO₂ e acetaminofeno. O objetivo do estudo foi avaliar a utilidade da determinação da metabolização da ¹³C-metacetina administrada por via oral, como teste função hepática em pacientes portadores de hepatopatia por vírus da hepatite C. **Material e métodos:** Foram avaliados 71 indivíduos encaminhados do Hospital Universitário São Francisco e região, classificados em 6 grupos (20 controles sadios (VOL), 9 hepatite crônica leve-(HCL), 18 hepatite crônica moderada a severa-(HCMS), 18 cirrose hepática Child A (CHA), 1 cirrose hepática Child B (CHB) e 5 cirrose hepática C (CHC)), de acordo com avaliação clínica e laboratorial. Administrou-se uma dose de 75 mg de metacetina, com posterior coleta de ar expirado durante 120 minutos. A determinação do C₁₃ expirado nas amostras foi realizada por meio de espectrometria infravermelha não dispersiva, seletiva para isótopo. **Resultados:** Obteve-se curva padrão composta por grupo controle. A média da variável DOB (delta over baseline) aos 20 minutos foi 22.44 para VOL; 18.71 para HCL; 20.83 para HCMS; 15.53 para CHA; 4.80 para CHB e 1.88 para CHC. Foi obtido um $\alpha \leq 0,05$, entre os grupos VOL/CHA; VOL/CHC; HCL/CHC; HCMS/CHA; HCMS/CHC E CHA/CHC no tempo de 30 minutos (teste de Tukey). **Conclusão:** Foi encontrada diferença estatística entre VOL/CHA; VOL/CHC; CHA/CHC; HCL/CHC; HCMS/CHC em todos os tempos e de HCMS/CHA somente no tempo de 30 minutos. O teste não diferenciou grupo controle de hepatite crônica, nem portadores de hepatite crônica leve de moderada a severa. Houve uma sobreposição de valores individualmente. Deve-se avaliar um número maior de pacientes para definição de sua aplicabilidade clínica!

Palavras chave: testes dinâmicos, metacetina, hepatite C

INTRODUÇÃO

Estima-se que 170 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas com o HCV (32). A hepatite C é uma doença relativamente comum, a relação entre a ausência de quadro clínico exuberante e a alta taxa de cronicidade explicam o grande número de pacientes infectados (17). Cerca de 15% dos infectados curam-se espontaneamente (32).

A infecção pelo vírus C resulta em uma doença heterogênea onde a história natural ainda é controversa e complexa. O curso natural da doença é difícil de ser determinado já que a infecção aguda raramente é reconhecida, pois os sintomas são inexistentes ou inespecíficos, os portadores crônicos raramente são sintomáticos e o estágio-final da doença, quando ocorre, pode levar até três décadas para se desenvolver (26). Apesar de ter uma progressão lenta e a maioria dos infectados ser assintomáticos, a qualidade de vida mostra-se marcadamente reduzida em pacientes com infecção crônica com ou sem cirrose (2).

Exame clínico, parâmetros bioquímicos, procedimentos propedêuticos por imagem e biópsia hepática são usados rotineiramente para determinar o grau de lesão hepática e o prognóstico associado à doença. Entretanto, a capacidade funcional do fígado estimada por esses métodos é pouco precisa. Parâmetros como a albumina e fatores de coagulação também podem ser usados, mas não são tão sensíveis e ocorrem tardiamente na doença hepática crônica (9,12).

Vários testes dinâmicos para avaliar a função hepática têm sido propostos para examinar a integridade ou desordem das diferentes vias metabólicas do fígado: testes do clearance de galactose, sorbitol, antipirina e cafeína, metronidazol, síntese de uréia e teste do MEG - monoetilglicina, testes respiratórios utilizando compostos com carbono marcado entre outros (3, 8, 9, 10,

13, 20, 31, 34), que catalizam a N-deetilação da lidocaína (13, 19, 20, 21, 22, 24, 28, 30, 33).

Os testes dinâmicos de função hepática baseiam-se na administração de uma substância exógena, que é metabolizada ou eliminada pelo fígado, com a subsequente medida da concentração da substância no plasma ou do metabólito formado. O princípio básico para a maioria destes testes é o clearance hepático (3). As determinações de clearance hepático de uma variedade de xenobióticos têm sido utilizadas para avaliar o metabolismo de drogas, medir a perfusão hepática, determinar o prognóstico e verificar a resposta ao tratamento das doenças do fígado (4, 5, 6, 9, 25, 29).

Os testes respiratórios, como instrumento diagnóstico, vêm sendo mais utilizados recentemente para estimar a função hepática. Esses testes têm sido propostos por serem uma análise não invasiva, sem carga radioativa e de fácil realização (15), não havendo necessidade de contato com materiais perfurocortantes contaminados. A quantificação de ^{13}C ou ^{14}C em ar expirado, seguido da administração de componentes marcados é usada para estimar a atividade das enzimas hepáticas microsossomais.

Os testes respiratórios com a administração de compostos com carbono marcado empregam o princípio de que a droga administrada possui um átomo de ^{12}C ou um grupo funcional substituído por ^{14}C radioativo ou o isótopo ^{13}C . O grupo funcional é então enzimaticamente transformado e o processo metabólico libera CO_2 com C marcado, o qual posteriormente será expirado. No passado, esses testes foram geralmente realizados com o ^{14}C , entretanto o risco devido à radiação, especialmente para gestantes e crianças, levou à substituição pelo isótopo - ^{13}C . A porcentagem da dose administrada recuperada por hora e a porcentagem acumulada pelo tempo são os métodos mais adequados de apresentação. Atualmente, muitos testes respiratórios específicos têm sido introduzidos para avaliação da função hepática, como os que utilizam a ^{13}C -aminopirina e ^{13}C -metacetina (3, 16).

A Metacetina [N-(4-Metoxifenil)acetamida], um derivado da fenacetina, é absorvida no tubo digestivo e levada ao fígado, sofrendo demetilação oxidativa pelas enzimas microssomais hepáticas, sendo transformada em acetaminofen e $^{13}\text{CO}_2$, o qual é eliminado no ar expirado. O carbono 13 é quantificado por espectrômetro de massa ou por IRIS após o ar ser expirado e armazenado em bolsas plásticas aluminizadas especiais (23). Como a fenacetina, a metacetina é uma droga de alta extração ($E > 0,8$), sofrendo extensivo clearance de primeira passagem. Essa droga foi sugerida como uma alternativa para aminopirina, devido ao seu rápido metabolismo em pessoas normais e a falta de toxicidade em doses pequenas (15, 18). Taxas de eliminação de $^{13}\text{CO}_2$ aumentam linearmente sem saturação com taxas de 1 a 5 mg/kg de peso corpóreo (15).

Um teste não invasivo, que pudesse diferenciar os diversos estágios da hepatopatia por HCV poderia influenciar a decisão terapêutica. Uma correlação deste teste com o score de Child-Pugh, bem como com os resultados anatomo-patológicos, seria necessária para definir seu uso na avaliação da resposta terapêutica e no prognóstico de fases anteriores ao desenvolvimento de cirrose e de pacientes em estágio-final da doença aguardando transplante (15).

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a utilidade da determinação da metabolização da ^{13}C -metacetina administrada por via oral, como teste função hepática em pacientes portadores de hepatopatia por vírus da hepatite C.

MATERIAL E MÉTODOS

Indivíduos

Os participantes foram divididos em 3 grupos: voluntários sadios, pacientes com hepatite crônica e portadores de cirrose hepática.

Voluntários sadios:

Vinte voluntários sadios, sendo 12 do sexo masculino e 8 do sexo feminino, com idade média de 29,2 anos (24 a 39 anos), com peso médio de 70,4 Kg (51,5 a 89 Kg), com altura média de 1,70m (1,58 a 1,82 m) foram selecionados com base na história clínica, nos exames físico e psiquiátrico e nos seguintes exames laboratoriais: glicemia, creatinina, AST, ALT, fosfatase alcalina, bilirrubina total e frações, proteínas totais, albumina, hemoglobina, hematócrito, contagem total e diferencial de células brancas, tempo de protrombina, sorologia para hepatite B e C e HIV e urina tipo1.

Portadores de hepatite crônica pelo vírus C:

Pacientes portadores do vírus C, confirmados por PCR e diagnóstico de hepatite crônica com estadiamento realizado por biópsia hepática foram classificados em dois grupos: hepatite crônica de grau leve (score 0-5) e hepatite crônica de grau moderado a severo (score 6-15), de acordo com o score obtido na biópsia e a classificação da SBH de 1999.

Nove pacientes com hepatite crônica de grau leve, sendo 7 do sexo masculino e 2 do sexo feminino, com idade média de 35,9 anos (24 a 51 anos), com peso médio de 71,5 Kg (50 a 92,5 Kg), com altura média de 1,68m (1,58 a 1,88 m).

Dezoito pacientes com hepatite crônica de grau moderado a severo, sendo 17 do sexo masculino e 1 do sexo feminino, com idade média de 44,9 anos (31 a 58 anos), com peso médio de 79,5 Kg (45 a 95 Kg), com altura média de 1,73m (1,55 a 1,88 m).

Portadores de cirrose hepática pelo vírus C:

Pacientes com diagnóstico de cirrose hepática, acompanhados no ambulatório de gastroenterologia ou internados na enfermaria de Clínica Médica do Hospital Universitário São Francisco para investigação diagnóstica. Todos os pacientes foram estratificados de acordo com a classificação de Child Pugh em Child A, Child B e Child C (11). O diagnóstico de cirrose hepática foi definido previamente por meio de biópsia hepática percutânea. Quando esta não foi possível, o diagnóstico foi confirmado por meio de dados clínicos: alterações de

características propedêuticas do fígado (borda, consistência e superfície), presença de ascite, spiders, esplenomegalia e encefalopatia hepática; da propedêutica armada (ultra-sonografia ou tomografia computadorizada) e da presença de varizes de esôfago ou gastropatia congestiva da hipertensão portal.

Foram excluídos pacientes com episódios de hemorragia digestiva, na semana anterior ao estudo, com processo infeccioso de etiologia bacteriana em atividade, com neoplasia do trato gastrointestinal ou hepática, pacientes submetidos anteriormente a cirurgias do trato gastrointestinal, que estejam ou tenham feito uso de bebidas alcoólicas, procinéticos, bloqueadores de secreção ácida ou antimicrobianos nas quatro semanas anteriores ao estudo, bem como insuficiência renal.

Dezoito pacientes Child A, sendo 13 do sexo masculino e 5 do sexo feminino, com idade média de 49,9 anos (34 a 76 anos), com peso médio de 73,7 Kg (51,5 a 115 Kg), com altura média de 1,67m (1,38 a 1,85 m).

Um paciente Child B, sexo masculino, idade 69 anos, peso 69 Kg, altura 1,70m.

Cinco pacientes Child C, sendo 3 do sexo masculino e 2 do sexo feminino, com idade média de 60,2 anos (51 a 75 anos), com peso médio de 67,4 Kg (52 a 78 Kg), com altura média de 1,62m (1,49 a 1,80 m).

PROTOCOLO CLÍNICO

ADMINISTRAÇÃO DA METACETINA E COLETA DO AR EXPIRADO

Os participantes foram admitidos na UNIFAG – Unidade de Farmacologia e Gastroenterologia da Universidade São Francisco - 30 min antes do início do teste, onde permaneceram em repouso até cerca de 30 min após a coleta da última amostra de ar expirado (permanência total de 3 h). Todas as coletas foram realizadas no período matinal após jejum de no mínimo 8 horas.

Foi administrada uma dose de 75 mg de metacetina (*Wagner GmbH, Bremer-Alemanha*) dissolvida em 100 ml de chá preto cafeinado não adoçado à temperatura entre 37 e 40 °C. Amostras de ar expirado (1,2l) foram coletadas nos seguintes tempos: 0 min (antes da administração), 10 min, 20 min, 30 min, 40 min, 50 min, 60 min, 80 min, 100 min, 120 min. As amostras foram coletadas e armazenadas em bolsas fechadas de plástico aluminizado contendo 1200ml de ar até a determinação do C₁₃.

Esse armazenamento não excedeu duas semanas entre o tempo de coleta e análise do C₁₃ em nenhum indivíduo estudado.

DETERMINAÇÃO DO C₁₃:

A determinação do C₁₃ expirado nas amostras foi realizada na Disciplina de Gastroenterologia da FCM da UFMG por meio de espectrometria infravermelha não dispersiva, seletiva para isótopo – IRIS - (*Wagner GmbH, Bremer-Alemanha*). Os resultados foram expressos em DOB (*delta over baseline*), velocidade de metabolização (% C₁₃ dose/hora) e a % da dose acumulada. Foram obtidos a concentração máxima atingida de C₁₃ (C_{max}) e o tempo ao qual a mesma aparece (T_{max}).

Todos os participantes foram devidamente esclarecidos sobre os objetivos do trabalho e deram seu consentimento por escrito (em anexo). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade São Francisco (CEP-USF).

Análise Estatística

Os dados foram analisados com o teste Qui-quadrado ou Fisher, Teste de Tukey, e Análise de Variância, e os resultados foram considerados significativos o valor de $p \leq 0.05$. (7, 14).

RESULTADOS

Uma correlação entre sexo, idade e tabagismo, peso, altura, Índice de Massa Corpórea e resultados anatomo-patológicos pode ser vista nas tabelas de 1, a 6, tendo sido encontrada uma diferença significativa entre os grupos em relação a tabagismo (Fisher's Exact Test 0.0108) e para a idade foi encontrado $\alpha < 0.05$ entre os grupos de voluntários com HCMS e com os grupos de cirrose hepática; entre o grupo de HCL e os grupos de cirrose; entre os grupos de HCMS e cirrose hepática Child B e C.

A média da variável DOB (*delta over baseline*) em todos os tempos e para todos os grupos está apresentada na figura 1. O diagrama foi construído com DOB aos 20 minutos (figura 2). No tempo de 20 minutos encontramos diferenças significativas entre os seguintes grupos: voluntários versus pacientes cirróticos; portadores de hepatite crônica versus cirróticos classe Child B e Child C e dentro do grupo de pacientes com cirrose, separados pela classificação de Child. No tempo de 30 minutos encontramos os resultados comentados acima, além da diferença entre o grupo de portadores de hepatite crônica moderada a severa e cirrose hepática Child A..

DISCUSSÃO

Os testes respiratórios com isótopos ^{13}C vêm ocupando crescente papel na avaliação funcional do fígado em decorrência de sua simplicidade e, principalmente, porque são isentos dos riscos da radioatividade e realizados na forma não invasiva. Dentre esses, o teste respiratório da ^{13}C -metacetina tem sido considerado excelente no acompanhamento da doença hepática crônica, sendo superior ao teste da aminopirina por sua metabolização mais rápida e por não

apresentar nenhum risco de toxicidade em baixas doses (23).

O teste é obtido através da análise do ar expirado por espectrometria infravermelha, a qual apresenta correlação linear com a espectrometria de massa, embora com sensibilidade inferior a essa (1).

Uma pequena interferência no metabolismo da metacetina e no metabolismo da antipirina tem sido relatada por tabagismo e uso de drogas anticonvulsivantes (3). Entretanto, pouco se sabe sobre os fatores que podem influenciar a acurácia dessa determinação ou influenciar a metabolização hepática dessa substância (23).

A necessidade de se obter um teste capaz de estimar a função hepática aplicável a todos os pacientes e isento de riscos, proporcionou maior interesse nos testes respiratórios da metacetina. Krumbiergel e seus colaboradores avaliaram o uso de ^{13}C em relação ao ^{14}C nestes testes, obtendo resultados semelhantes. Também analisaram a resposta em pessoas normais e pacientes cirróticos, sendo estatisticamente diferente (3).

Fahl et al avaliaram doses diferentes de ^{13}C metacetina somente em voluntários, onde ocorreu um crescimento linear das taxas de excreção $^{13}\text{CO}_2$ sem saturação. Esse grupo relatou uma significativa correlação entre valores do teste, ácidos biliares totais e histologia em pacientes hepatopatas (3).

Matsumoto e colaboradores estudaram pacientes com hepatite crônica, cirrose hepática compensada e descompensada, hepatocarcinoma e cirrose biliar primária, confirmados por biópsia hepática obtendo valores inversamente proporcionais à severidade da enfermidade. O ^{13}C recuperado no CO_2 após 30 minutos foi considerado como o melhor parâmetro para comparação entre os grupos. Não observaram diferenças estatísticas entre voluntários e pacientes com hepatite crônica leve. Mas, comparando os grupos de hepatite crônica moderada a severa, cirrose compensada e descompensada e hepatocarcinoma foi possível notar valores significativamente menores quanto comparados aos outros grupos (3).

Klatt e seu grupo procuraram comparar o teste respiratório da metacetina com o teste MEGX e o teste do verde de indocianina, correlacionando com a classificação de Child-Pugh. Não encontraram diferenças entre cirróticos Child A e Child B, mas os pacientes com Child C apresentaram curva de metabolização da metacetina mais lenta e reduzida, além de observarem diferenças estatísticas entre pacientes com hepatite crônica e cirróticos, e uma melhor correlação deste teste com a classificação de Child-Pugh quando comparado aos outros testes (15).

Diferenças entre as curvas de metabolização da metacetina para voluntários sadios e pacientes cirróticos também foram relatadas por Plaffenbach. Outro estudo, conduzido por Lara Baruque, para investigar a capacidade de função hepática em voluntários sadios, pacientes com hepatite crônica e cirrose hepática (Child A e Child C), mostrou que o teste tem melhor resultado quanto comparado a % da dose/hora aos 10 minutos, diferenciando-se dos estudos anteriores que preconizavam 20 ou 30 minutos. Seu estudo obteve diferenças entre todos os grupos, com coeficiente de regressão alto para voluntários versus pacientes com hepatite crônica e para cirróticos Child A versus Child C (3).

Em nosso estudo, realizamos uma curva padrão composta por voluntários sadios, não tabagistas, não usuários de drogas ou de medicamentos, com idade inferior a 40 anos.

Em relação à idade, obtivemos resultados estatisticamente significantes entre os grupos, mas não há relatos de redução de metabolização da metacetina em indivíduos de terceira idade (3).

A O-desmetilação da metacetina pode ser influenciada pelo tabagismo (18), porém não há trabalhos que afirmem essa interferência. Em nosso estudo, o grupo de voluntários sadios não foi composto por tabagistas, ao passo que no grupo de portadores de hepatite crônica leve, 11% dos pacientes e 39% dos portadores de hepatite crônica moderada a severa eram tabagistas. Como não há diferenças estatísticas entre pacientes sãos e portadores crônicos, sugerimos uma não interferência do tabagismo no resultado do teste em relação à metabolização da

metacetina.

Observamos um pico de concentração de DOB de C marcado entre 20 a 30 minutos após a ingestão da metacetina via oral, sendo encontrado no tempo de 30 minutos de coleta maiores diferenças significativas entre os grupos o que sugere que o valor obtido nesta determinação poderia ser utilizado como teste de função hepática. Não encontramos diferenças entre voluntários e pacientes com hepatite crônica em nenhum tempo analisado. Por outro lado, os pacientes com cirrose, estadio Child B e Child C, podem ser diferenciados de todos os outros grupos em todos os tempos. Entretanto, podemos afirmar a diferença somente dos pacientes cirróticos Child C, devido ao número restrito de pacientes Child B no estudo. O teste não foi capaz de diferenciar pacientes com hepatite crônica leve de hepatite crônica moderada a severa. Infelizmente, o único método capaz dessa importante diferença para o prognóstico e tratamento do paciente continua sendo a biópsia hepática (27).

No tempo de 20 minutos encontramos diferenças significativas entre os seguintes grupos: voluntários versus pacientes cirróticos; portadores de hepatite crônica versus cirróticos classe Child B e Child C e dentro do grupo de pacientes com cirrose, separados pela classificação de Child. No tempo de 30 minutos encontramos os resultados comentados acima, além da diferença entre o grupo de portadores de hepatite crônica moderada a severa e cirrose hepática Child A. Deve, entretanto, ser observado que apesar de termos encontrado diferenças significativas em relação aos valores para os grupos de pacientes, individualmente, existe uma sobreposição de valores (figura 2), o que não é desejável para um teste dinâmico de função hepática, já que dificulta a interpretação de resultados em pacientes individualmente.

Concluimos com esses resultados que o melhor tempo para a análise do teste respiratório da metacetina encontra-se em 30 minutos, o qual está de acordo com os dados da literatura que se encontram entre 20 e 30 minutos.

Uma única coleta de amostra, realizada 30 minutos após a

administração da metacetina pode ser suficiente para uma avaliação do paciente, porém este teste deve ser avaliado em número maior de pacientes para definição de sua aplicabilidade clínica ou não.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1)ADAMEK, R.J., GOETZE, O. et al. ^{13}C -methacetin breath test: isotope selective nondispersive infrared spectrometry in comparison to isotope ratio mass spectrometry in volunteers and patients with liver cirrhosis. **Z.Gastroenterol**, 37: 1139-1143, 1999.
- (2)AMARAPURKAR, D. Towards control of hepatitis C in the Asia-Pacific region. Natural history of hepatitis C virus infection. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, 15: E105-E110, 2000.
- (3)ARMUZZI, A., CANDELLI, M. et al. Review article: breath testing for human liver function assessment. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, 16: 1977-1996, 2002.
- (4)BRODY, D. H.; LEICHTER, L. Clearance tests of liver function. **Med. Clin North Am.**, 63(3): 621-630, 1979.
- (5)CAESAR, J.; SHALDON, S. et al. The use of indocyanine green in the mensurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. **Clin. Sci.**, 21: 43-57, 1961.
- (6)CHERRICK, G. R.; STEIN, S. W et al. Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. **J. Clin. Invest.**, 39: 592-600, 1960.
- (7)CONOVER, W. J. **Practical Nonparametric Statistics**. New York: John Wiley & Sons, p.462. 1991.

- (8) DESMOND, P. V.; PATWARDHAN, R. V et al. Impaired elimination of caffeine in cirrhosis. **Dig. Dis. Sci.**, 25: 193-197, 1980.
- (9) ELIN R.J.; FRIED M.W.; SAMPSON M. et al. Assessment of monoethylglycinexylidide as a measurement of liver function for patients with chronic viral hepatitis. **Clin Chem**, 43: 1952-1957, 1997.
- (10) FABRIS L.; JEMMOLO R. M. et al. The monoethylglycinexylidide test for grading of liver cirrhosis. **Aliment Pharmacol Ther**, 13: 67-75, 1999.
- (11) HARTMANN, A. I.; BIRCHER, H.; CREUTZFELD, W. Superiority of the Child-Pugh classification to quantitative liver function test for assessing prognosis of liver cirrhosis. **Scand J Gastroenterol** 1989; 24: 269-276
- (12) HEROLD C.; HEINZ R. et al. Quantitative testing of liver function in relation to fibrosis in patients with chronic hepatitis B and C. **Liver**, 21: 260-265, 2001.
- (13) HUANG Y.S.; LEE S. D. et al. Measuring lidocaine metabolite-monoethylglycinexylidide as a quantitative index of hepatic function in adults with chronic hepatitis and cirrhosis. **J Hepatol**, 19: 140-147, 1993.
- (14) KHATTREE, R.; NAIK, D.N. **Applied Multivariate Statistics with SAS® Software**. SAS Institute Inc. Cary, NC. 396p., 1995.
- (15) KLATT, S.; TAUT, C. et al. Evaluation of the ¹³C-methacetin breath test for quantitative liver function testing. **Z Gastroenterol** 35 (8): 609-614, 1997
- (16) KRUMBIEGEL, P.; TEICHMANN, B.; BOEHM, G. [¹⁵N] Methacetin urine test: a method to study the development of hepatic detoxification capacity. **Eur. J. Pediatr.**, 149: 393-395, 1990.
- (17) MARCELLIN P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. **J Hepatol**, 31 (suppl 1): 9-16, 1999.
- (18) MATSUMOTO, K.; SUEHIRO, M. et al. ¹³ methacetin breath test for evaluation of liver damage. **Dig Dis Sci**, 32 (11): 344-348, 1987

- (19)MUSCARÁ M.N.; PEDRAZZOLI J. J. et al. Plasma hidroxy-metronidazole/metronidazole ratio as an index of liver function in humans. **Br J Clin Pharmacol**, 40: 477-80, 1995.
- (20)OELLERICH, M.; BURDELSKI, M. et al. Lidocaine metabolite formation as a measure of liver function in patients with cirrhosis. **Therapeutic Drug Monitoring**, vol.12, n.3, p. 219-226,1990.
- (21)OELLERICH, M.; SCHUTZ, E. et al. Influence of gender on the monoethylglycinexylidide test in normal subjects and liver donors. **Ther. Drug Monit.**, 16(3): 225-231, 1994.
- (22)PRICHARD-DAVIS, R.; GROSS, A. S.;SHENFIELD, G. M. The effect of liver disease and food on plasma MEGX concentrations. **Br. J. Clin. Pharmacology**, 37(3): 298-301, 1994.
- (23)REBER, M. M. O. S; PARISE, E. R. Influência do stresse oxidativo provocado pelo etanol sobre a metabolização da ¹³C-metacetina no fígado de indivíduos normais. **GED**, v.19, n.6, p.245-248, nov/dez 2000.
- (24)REICHEL C.; NACKE A. et al. The low-dose monoethylglycinexylidide test: assessment of liver function with fewer side effects. **Hepatology**, 25: 1323-1327, 1997.
- (25)REICHEN J. Assessment of hepatic function with xenobiotics. **Sem Liver Dis**, 15(3): 189-201, 1995
- (26)SEEFF, L. B.; MILLER, R. N. et al. 45-Year follow-up of hepatitis C virus infection in healthy young adults. **Annals of Internal Medicine**, v.132, n.2, p.105-111, jan. 2000.
- (27)SHERLOCK, S.; DOOLEY, J. **Diseases of the Liver and Biliary System**. Oxford, Blackwell Publishing, 11^aed. 2002. 706p.

- (28)SILVA, C. M. F.; DAVID, F. L. et al. Plasma hydroxy metronidazole/ metronidazole ratio in anti-HCV carriers with and without apparent liver disease. **British Journal of Clinical Pharmacology**,; 46: 176-80, 1998.
- (29)SKAK, C.; KEIDENG, S. Methodological problems in the use of indocyanine green to estimate hepatic blood flow and clearance in man. **Liver**, 7(3): 155-162, 1987.
- (30)TESTA R.; CAGLIERIS S. et al. Monoethylglycinexylide formation measurement as a hepatic function test to assess severity of chronic liver disease. **Am J Gastroenterol**, 92: 2268-2273, 1997.
- (31)TESTA R.; CAMPO N. et al. Lidocaine elimination and monoethylglycinexylidide formation in patients with chronic hepatitis or cirrhosis. **Hepato-Gastroenterology**, 45: 154-159, 1998.
- (32)THOMAS, D. L.; ASTEMBORSKI, J. et al. The natural history of hepatitis C virus infection. Host, viral, and environmental factors. **Jama**, v.284, n.4, p.450-456, july 2000.
- (33)TYGSTRUP, N. Determination of hepatic galactose elimination capacity after a single intravenous injection in man. **Acta Physiol. Scand.**, 58: 162-172, 1963.
- (34)WANG T.; KLEBER G. et al. Caffeine elimination: a test of liver function. **Klin Wochenschr**, 63: 1124-1128, 1985.

Tabela 1 - Correlação entre sexo e grupos.

SEXO	VOL	HCL	HCMS	CHA	CHB	CHC	TOTAL
	12	7	17	13	1	3	53
	8	2	1	5		2	18
TOTAL	20	9	18	18	1	5	71

Tabela 2 - Correlação entre tabagismo e grupos.

TABAG.	VOL	HCL	HCMS	CHA	CHB	CHC	TOTAL
NÃO	20	8	11	12	0	5	56
SIM	0	1	7	6	1	0	15
TOTAL	20	9	18	18	1	5	71

(Fisher's Exact Test 0.0108)

Tabela 3 - Correlação entre tabagismo e grupos.

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	29.20	4.48	24.00	29.00	39.00
HCL	9	35.89	8.07	24.00	35.00	51.00
HCMS	18	44.94	6.66	31.00	44.50	58.00
CHA	18	49.94	12.24	34.00	44.50	76.00
CHBC	6	61.00	9.19	51.00	62.00	75.00

Anova p-valor = **0.0001****Tabela 4 - Correlação entre peso e grupo.**

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	70.41	11.81	51.50	70.00	89.00
HCL	9	71.50	12.91	50.00	70.00	92.50

HCMS	18	79.50	14.73	45.00	84.50	95.00
CHA	18	73.75	15.59	49.70	72.50	115.00
CHBC	6	67.67	8.57	52.00	69.00	78.00

Anova p-valor = 0.2229

Tabela 5 - Correlação entre altura e grupo.

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	1.71	0.07	1.58	1.71	1.82
HCL	9	1.68	0.10	1.58	1.65	1.88
HCMS	18	1.73	0.09	1.55	1.74	1.88
CHA	18	1.67	0.10	1.38	1.70	1.85
CHBC	6	1.63	0.11	1.49	1.63	1.80

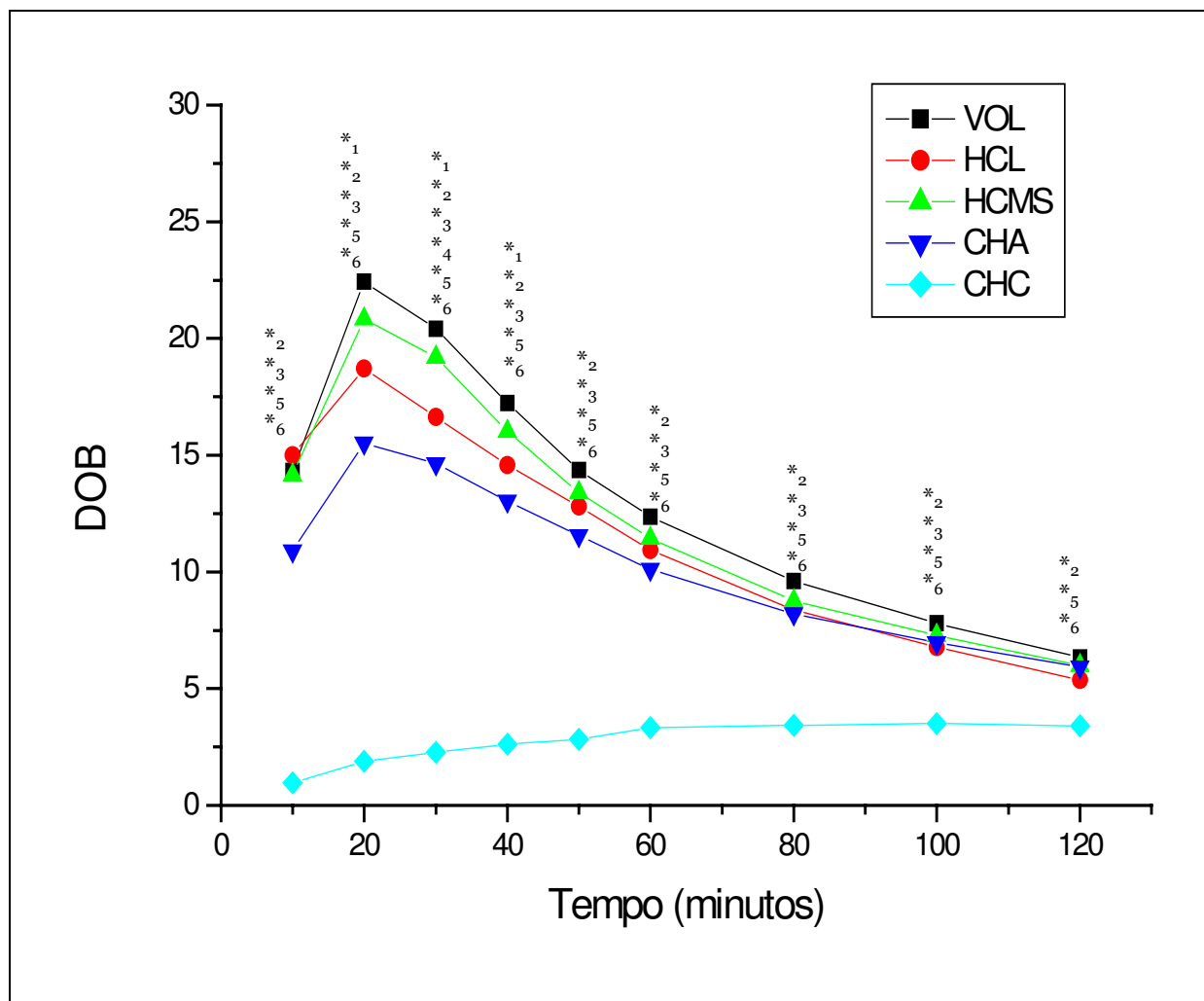
Anova p-valor = 0.1290

Tabela 6 - Correlação entre IMC e grupos.

Grupo	N	Média	D.P.	Mínimo	Mediana	Máximo
VOL	20	24.10	2.81	18.00	23.75	29.70
HCL	9	25.34	4.52	18.60	25.60	33.20
HCMS	18	26.52	5.09	18.50	26.30	34.80
CHA	18	26.31	4.07	17.00	26.55	36.70
CHC	6	25.32	2.08	23.40	24.35	28.00

Anova p-valor = 0.3660

Figura 1 - Curva das médias dos valores de DOB em cada tempo pelos grupos representados.



*1 Voluntários vs. Cirrose hepática Child A

$p \leq 0,05$

*2 Voluntários vs. Cirrose hepática Child C

$p \leq 0,05$

*3 Hepatite Crônica Leve vs. Cirrose hepática Child C

$p \leq 0,05$

*4 Hepatite Crônica Moderada a Severa vs. Cirrose hepática Child A

$p \leq 0,05$

*5 Hepatite Crônica Moderada a Severa vs. Cirrose hepática Child C

$p \leq 0,05$

*6 Cirrose hepática Child A vs. Cirrose hepática Child C

$p \leq 0,05$

Figura 2 - Diagrama de pontos da medida DOB (20 minutos), sendo a média representada pelo traço em cada grupo apresentado.

