

BC/13564
IB/81201



**Níveis de Teofilina Plasmática em Pacientes e
Voluntários Sadios**

**Tese Apresentada ao Departamento de Genética e Evolução para
Obtenção do Título de Mestre**

9103232/IB

*Este exemplar
corresponde à re-
dação final da
tese defendida
pelo candidato
e aprovada pela
Comissão julgadora.*

Candidato - Eduardo Alexandre Hofstätter
Orientador - Prof Dr Luiz Alberto Magna

Março 1991

[Handwritten signature]

191

T/UNICAMP

H677_n

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

CM000 80806-3

CLASSIF.	T
AUTOR	H677m
V.	EX.
TOMBO BCI	13564
	131021

Agradecimentos

A Dora, Margarida, Airton e a todos os funcionários que criam as condições "basais" para que um laboratório possa funcionar;

Aos amigos da Genética e da Farmacologia, pelas horas muitas vezes importantíssimas passadas juntas;

Ao Nello, um mestre e amigo;

Ao Marcelo, além de colega, amigo paciente;

Ao Magna, pelas palavras de estímulo e confiança, em muitas horas de incerteza;

Aos meus irmãos e cunhados, que souberam compreender-me ;

A minha mãe, que à compreensão uniu paciência e carinho num dia-a-dia nem sempre fácil;

Finalmente, ao Gilberto e à Lilian, que abriu-me as portas do seu laboratório e de sua casa e sempre arranjou longas horas para o fatigante ensino de redação científica.

Não há como falar da intensidade da vivência destes anos de mestrado. Sairia uma imagem pálida e diminuída. Também seria injusto não deixar registro nenhum. Que ao longo do tempo seja-me dado exprimir o que as palavras hoje não podem alcançar.

Resumo

A teofilina é um agente broncodilatador utilizado por via oral e parenteral, que possui faixa terapêutica estreita, sendo indicada sua monitorização plasmática.

Neste trabalho desenvolvemos uma técnica de cromatografia líquida de alta pressão para monitorização dos níveis plasmáticos de teofilina nos pacientes de ambulatório e enfermaria da Disciplina de Pneumologia, do Departamento de Pediatria e finalmente comparamos o perfil farmacocinético em voluntários sadios de duas preparações farmacêuticas distintas de teofilina, i.e., uma preparação de liberação lenta e outra de liberação imediata.

As amostras do ambulatório de Pneumologia tiveram grande percentual de níveis plasmáticos abaixo da faixa terapêutica. As amostras procedentes das demais enfermarias e ambulatório tiveram percentuais bem mais elevados de pacientes com níveis na faixa terapêutica (maior controle da ingestão do fármaco). Esses resultados indicaram uma baixa aderência ao tratamento dos pacientes seguidos no ambulatório de Pneumologia.

As formas de apresentação de liberação lenta e imediata testadas mostraram-se bioequivalentes segundo os critérios estabelecidos pelo *Food & Drug Administration*.

O trabalho cumpriu seus objetivos ao obter a visão preliminar dos níveis plasmáticos de diferentes grupos de pacientes e voluntários e dos cuidados necessários na condução de estudos desta natureza.

Índice

1. Introdução	7
1.1. Histórico	7
1.2. Propriedades Químicas	7
1.3. Propriedades Farmacológicas	9
1.3.1. Mecanismo de ação a nível celular	9
1.3.2. Efeitos nos vários órgãos e sistemas	9
1.3.2.1. Musculatura Brônquica	9
1.3.2.2. Sistema Nervoso Central.	9
1.3.2.3. Aparelho cardiovascular	9
1.3.2.4. Outros órgãos e sistemas	10
1.4. Farmacocinética e Farmacodinâmica da Teofilina	10
1.5. Metabolismo da Teofilina	12
1.6. Aspectos Genéticos do Metabolismo da teofilina	12
1.6.1. Significado Clínico	12
1.6.2. Aspectos Enzimáticos	14
2. Objetivos	17
3. Casuística, Material e Métodos	18
3.0. Pacientes e Voluntários	18
3.1. Ambulatório de Pneumologia	18
3.2. Enfermaria de Pneumologia	18
3.2.1. Medicação endovenosa	18
3.2.2. Medicação oral	18
3.3. Ambulatório de Alergia, Imunologia e Pneumologia Infantil	18
3.4. Voluntários do Ambulatório de Farmacologia Clínica	18
3.4.1. Critério de inclusão	19
3.4.2. Critério de exclusão	19
3.4.3. Engajamento dos voluntários	19
3.4.4. Internação	19
3.4.5. Restrições aos voluntários	20
3.4.6. Critério de interrupção do estudo	20
3.4.7. Reações adversas	20
3.5. Coleta das amostras	21
3.6. Métodos de dosagem de teofilina plasmática	21
3.7. Descrição dos Métodos cromatográficos	21
3.7.1. Primeiro método	21
3.7.1.1. Extração da amostra	22
3.7.1.2. Fase móvel	22
3.7.1.3. Condições cromatográficas	22
3.7.1.4. Solução padrão de teofilina	23

3.7.1.5. Cálculo da quantidade	23
3.7.2. Segundo método	23
3.7.2.1. Extração da amostra	23
3.7.2.2. Fase movel	24
3.7.2.3. Condições cromatograficas	24.
3.7.2.4. Preparo dos padrões	25
3.7.2.4.1. Teofilina em solução aquosa	25
3.7.2.4.2. Padrões plasmáticos	25
3.7.2.4.3. Padrão interno	25
3.7.2.5. Cálculo da quantidade	25
3.7.3. Particularidades das análises através de HPLC	27
3.7.4. Controle de qualidade	28
3.7.5. Padrões Internos	28
3.8. Estudo de bioequivalência de teofilina	29
3.8.1. Seleção de voluntários	29
3.8.2. Modelo experimental	29
3.8.2.1. Doses	29
3.8.2.2. Amostras de sangue	29
3.8.2.3. Determinação da concentração plasmática	30
3.8.3. Análise farmacocinética	30
3.8.4. Programas de computador	30
3.8.5. Aspectos éticos	30
3.8.5.1. Aprovação do estudo	30
3.8.5.2. Consentimento escrito	30
3.8.5.3. Carater confidencial do estudo	31
3.8.6. Delineamento do ensaio	31
3.8.7. Fármacos	31
4.Resultados	32
4.1. Metodologia	32
4.1.1. Percentuais de recuperação	32
4.1.2. Comparação de resultados	32
4.1.3. Variação quantitativa ao longo do tempo	34
4.1.4. Comparação de resultados obtidos através dos métodos TDX e HPLC	
4.2. Níveis Plasmáticos	34
4.2.1. Ambulatório de Pneumologia	36
4.2.2. Enfermaria de Pneumologia (medicação endovenosa)	37
4.2.3. Enfermaria de Pneumologia (medicação oral)	37
4.2.4. Ambulatorio de Alergia, Imunologia e Pneumologia infantil	37
4.3. Resultados quanto a faixa terapêutica	38
4.3.1. Ambulatório	38
4.3.2. Enfermaria (medicação endovenosa)	38
4.3.3. Enfermaria (medicação via oral)	38
4.3.4. Ambulatório de Alergia, Imunologia e Pneumologia Infantil	38
4.3.5. Enfermaria de Farmacologia Clínica	38

4.3.5.1. Concentrações Plasmáticas	39
4.3.5.2. Parâmetros Farmacocinéticos	61
4.3.5.3. Média dos Parâmetros Farmacocinéticos	72
4.3.5.4. Concentração Plasmática Média (Bermacia)	73
4.3.5.5. Concentração Plasmática Média (Teolong)	74
4.3.5.6. Média das AUC/24 de Teolong e Bermacia	75
4.3.5.7. Análise estatística	75
4.3.5.8. Comentários	76
5. Discussão	77
5.1. Amostras do Ambulatório de Pneumologia	77
5.2. Enfermaria	78
5.2.1. Pacientes que receberam medicação por via endovenosa	78
5.2.2. Pacientes que receberam medicação por via oral	78
5.3. Amostras do Ambulatório de Alergia, Imunologia e Pneumologia Infantil	78
5.4. Voluntários sadios	80
5.5. Metodologia utilizada	81
6. Bibliografia	82
7. Apêndice	A1-A11

1. Introdução

1.1. Histórico

O vocábulo "teofilina" tem origem grega e significa folha divina, em referência à folha de chá que contém pequena quantidade de teofilina. A teofilina é estudada há várias décadas e algumas de suas propriedades farmacológicas são conhecidas empiricamente há séculos, pois seu consumo em forma de bebidas de infusão é bastante antigo.

Essa substância que, a exemplo da cafeína e teobromina, é uma xantina metilada, foi sintetizada em laboratório e introduzida na terapêutica em 1900. A aminofilina, seu principal sal, surgiu 10 anos mais tarde (Hirsh, 1922), estabelecendo-se a partir de 1937 (Herrmann et al., 1937) como importante arma no tratamento da asma e do broncoespasmo agudo.

Como bebida de grande consumo, as propriedades mais atraentes da teofilina e cafeína foram as de estímulo geral do sistema nervoso, manifestado pela suspensão da sensação de fadiga.

1.2. Propriedades químicas

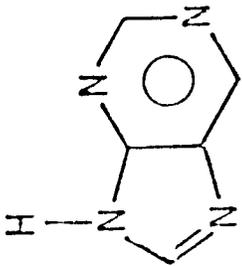
As xantinas metiladas estão estruturalmente relacionadas com o ácido úrico, pois a xantina é uma dioxipurina. Na figura 1 ilustramos as estruturas químicas da teofilina e fármacos afins, com seus respectivos nomes químicos e pesos moleculares.

A baixa solubilidade da teofilina (tabela 1), estimulou a procura de complexos mais solúveis. O exemplo mais notável é a associação de teofilina com a etilenodiamina, na proporção de 84 a 87,4% para 16% a 12,6%, denominada aminofilina. Assim, enquanto que 1g de teofilina dissolve-se em 120 ml de H₂O, produzindo uma solução levemente ácida, a aminofilina é 24 vezes mais solúvel, resultando em uma solução acentuadamente alcalina.

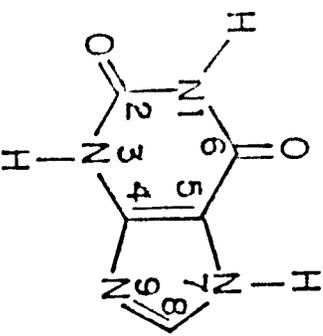
Tabela 1: Solubilidade (%)

	água	álcool	Peso Molecular
Teofilina	0.83	1.25	180.17
Aminofilina	20	insolúvel	420.44

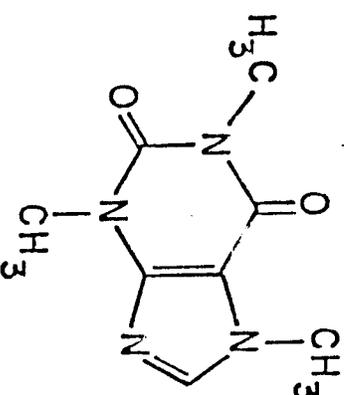
Fig. 1
estruturas químicas



Purina P.M.120.11

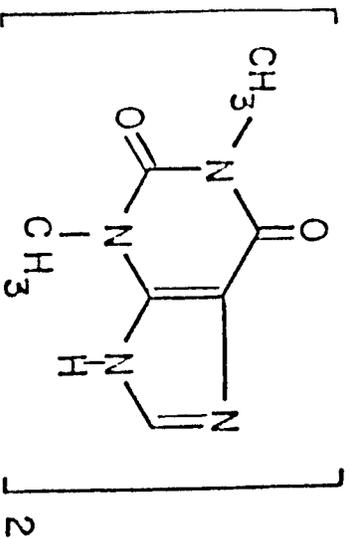


Xantina P.M.152.11



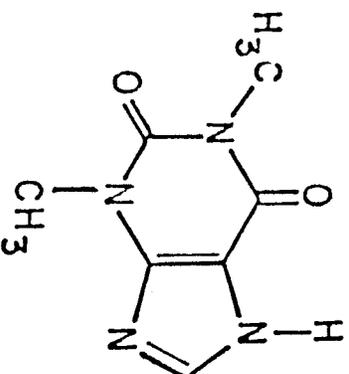
Cafeina

P.M. 194.19



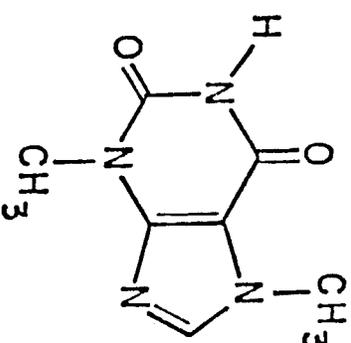
$\cdot \text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Aminofilina

P.M.420.44



Teofilina

P.M.180.17



Teobromina

P.M. 180.17

1.3. Propriedades farmacológicas

1.3.1. Mecanismo de ação

Uma das ações das metilxantinas é a inibição da enzima fosfodiesterase, responsável pela degradação do AMP cíclico. O aumento da concentração intracelular desse segundo mensageiro causa relaxamento da musculatura lisa e, conseqüentemente, broncodilatação. Entretanto, as concentrações terapêuticas de teofilina são baixas em relação às concentrações necessárias *in vitro* para causar inibição da fosfodiesterase (Nielson, 1988). A teofilina, como outros fármacos que agem através do aumento intracelular dos níveis de AMP cíclico, possui discreta ação inibitória no sistema imunitário (Bessler, 1988).

Outro mecanismo de ação proposto para a teofilina é o seu antagonismo à adenosina endógena, a qual é um agente broncoconstrictor (Butcher & Sutherland, 1962).

Um terceiro mecanismo de ação proposto está relacionado com o transporte de cálcio; ao limitar o influxo de cálcio nas células, a teofilina induz o relaxamento da musculatura lisa (Rall, 1982).

1.3.2. Efeitos nos vários órgãos e sistemas

1.3.2.1. Musculatura Brônquica

O efeito broncodilatador da teofilina é evidente durante as constrictões asmáticas espontâneas e quando induzidas experimentalmente pela histamina. Apesar do sinergismo entre os agonistas beta-adrenérgicos e a aminofilina ter sido demonstrado *in vitro* na musculatura lisa das vias aéreas (Bertelli et al, 1973), aparentemente não ocorre em pacientes, onde o efeito destas combinações é aditivo (Wolfe et al., 1978; Ziment, 1978).

1.3.2.2. Sistema Nervoso Central

Quando a concentração plasmática de teofilina ultrapassa o limite terapêutico (20 ug/ml), observa-se nervosismo, agitação, insônia, tremor e hiperestesia. Em concentrações acima de 30 ug/ml, podem ocorrer convulsões focais ou generalizadas, refratárias ao uso de anticonvulsivantes (Kordash et al., 1977).

Apesar do efeito da teofilina sobre o SNC ser, em sua maior parte, responsável pelos seus efeitos colaterais, em algumas situações ela possui efeitos terapêuticos. A estimulação dos centros respiratórios medulares é importante no tratamento da apnéia dos recém nascidos prematuros e dos episódios de depressão induzida por barbitúricos e opiáceos (Rall, 1982).

1.3.2.3. Aparelho cardiovascular

Além de efeito inotrópico positivo, a teofilina produz decréscimo da resistência vascular periférica e aumento da perfusão na maioria dos órgãos (Olgivie et al., 1978). Concomitantemente observa-se aumento da excreção urinária de epinefrina e norepinefrina, indicando que os efeitos cardiocirculatórios observados são devidos, pelo menos em parte, à liberação secundária de catecolaminas (Atuk et al., 1967). Entretanto, como a absorção e principalmente a distribuição da teofilina é imprevisível em pacientes com a função circulatória comprometida, seu uso é contraindicado nas emergências cardíacas (Piafsky et al., 1977).

1.3.2.4. Outros órgãos e sistemas

Quanto às secreções endócrinas e exócrinas, o efeito da teofilina é, em geral, de estímulo. Constitui uma exceção importante a inibição da secreção de mediadores pelos mastócitos. Já a secreção gástrica, na espécie humana, parece ser estimulada tanto pela teofilina quanto pela cafeína, podendo ser responsável pela irritação gástrica observada em alguns pacientes (Rall, 1982).

1.4. Farmacocinética e Farmacodinâmica

A absorção da teofilina em preparações líquidas ou em comprimidos é virtualmente total (Hendeles et al., 1983).

A teofilina é bem absorvida pelo intestino delgado e reto, mas a administração endovenosa é a mais efetiva no estado de "mal asmático". O volume de distribuição é em torno de 0.3-0.8 l/kg nas concentrações terapêuticas (60% ligam-se às proteínas plasmáticas). Quando o hematócrito é normal, a concentração no sangue total é cerca de 55% da concentração plasmática, ou seja, 10 ug/ml plasmáticos equivalem a 5.5 ug/ml de sangue total. Os efeitos terapêuticos ótimos são obtidos aproximadamente nesses níveis de teofilina plasmática. Algum efeito de broncodilatação já é observado em um nível plasmático tão baixo como 5 ug/ml (Nicholson et al., 1973). Nos casos de asma resistente, geralmente é necessário atingir concentrações maiores de teofilina (10-20 ug/ml), mas na criança é preferível não exceder o limite inferior.

Há preparações de teofilina de liberação lenta, as quais espera-se que proporcionem níveis terapêuticos efetivos por mais de 12 horas.

A aminofilina retal, na forma de supositórios, é bem absorvida e consiste em um tratamento efetivo para acessos moderados de asma brônquica. Entretanto, os supositórios podem produzir irritação retal e rejeição. Em crianças, essa via não é a mais indicada, visto ser difícil obter uma dose acurada.

A aminofilina administrada por via endovenosa usualmente produz rápido alívio dos sintomas da asma. Ela é administrada como uma injeção lenta de 250-500 mg em um

mínimo de 5 minutos ou através de infusão contínua. Para adultos sem outras alterações patológicas, a dose deve ser ajustada para 5-6 mg por kg de peso. Numa infusão contínua, administra-se 0.5 mg/kg/hora até um máximo de 1g em 24 horas, sendo imprescindível interromper a infusão após esse tempo, a menos que seja possível uma monitorização da teofilina plasmática. Os efeitos adversos graves estão relacionados com nível plasmático elevado. Entretanto alguns efeitos tóxicos, em particular a dispepsia e o distúrbio do sono, podem surgir mesmo com nível baixo de teofilina.

A ligação com proteínas plasmáticas não é extensa, ficando entre 50 e 65%, muito embora seja marcadamente reduzida em recém-nascidos (36%) e em pacientes com cirrose (29-37%).

A teofilina passa livremente para o leite bem como atravessa a barreira placentária.

Em adultos jovens, não fumantes, a meia vida da teofilina varia de 3 a 13 horas, com média em torno de 8 horas e, em 25% dos adultos não fumantes, a eliminação é mais rápida, com meia vida menor que 6 horas (Jenne et al., 1972). Nos indivíduos idosos e nos recém-nascidos a eliminação é retardada, mas é mais rápida nas crianças jovens de 1 a 16 anos de idade, nas quais a média da meia vida está em torno de 3.7 horas (Ziment, 1978).

A eliminação da teofilina é afetada por outras variáveis fisiológicas e mórbidas. O tabagismo (consumo de 10 cigarros ou mais por dia) aumenta o índice de eliminação devido à indução das enzimas do metabolismo da aminofilina, reduzindo a meia vida desse fármaco para menos de 6 horas. Por outro lado, a sua eliminação é retardada em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, doença hepática e obesidade (Jusko et al., 1978).

A eliminação da teofilina é também influenciada por outros fármacos administrados concomitantemente a ela. A indução enzimática promovida por anticonvulsivantes tais como fenobarbital (Landay et al., 1978; Jusko et al., 1978), fenitoína (Marquis et al., 1982; Reed & Schwartz, 1983; Miller et al., 1983; Adebayo, 1988) e carbamazepina (Rosenberry et al., 1983; Reed & Schwartz, 1983) aumentam a eliminação da teofilina a tal ponto que a dose da mesma deve ser aumentada em torno de 30 a 50%. A rifampicina (Hauser et al., 1983), isoniazida (Thompson et al., 1982) e sulfinpirazona (Birkett et al., 1983), também aumentam a eliminação da teofilina e, portanto, um cuidado especial torna-se necessário se quaisquer desses fármacos são interrompidos num paciente que continua o tratamento com teofilina (Jonkman et al., 1984). Por outro lado, outros fármacos diminuem a eliminação da teofilina, tornando-se aconselhável a redução da sua dose. Assim, com doses usuais de eritromicina, uma redução de aproximadamente 25% faz-se necessária (Cummins et al., 1976, 1977; Pfeifer et al. 1978, Stults et al., 1983), com cimetidina (Jackson et al., 1980, 1981; Reitberg et al., 1981, Gutfeld et al., 1989) e contraceptivos orais (Tornatore et al., 1982), essa redução é de 15 a 30% ou mais e com triacetiloleandomicina (troleandomicina) a redução é de 50% aproximadamente (Weinberger et al., 1976, 1977). Quanto à influência do diurético furosemide na eliminação da teofilina, entretanto, são necessários mais estudos para definir em que grau se dá essa interferência (Toback & Gilman, 1983). Em altas doses, o alopurinol, inibidor da xantina oxidase, pode retardar a eliminação da teofilina e uma redução da dose de

teofilina em torno de 20% é aconselhável (Manfredi & Vesell, 1981). Os antagonistas de cálcio tipo verapamil e diltiazem (Nafziger et al., 1987) provocam um aumento no tempo de eliminação da teofilina da ordem de 10 a 15%, alteração que deve ser levada em conta em pacientes com comprometimentos cardíacos (Gin et al., 1989). Davis et al (1989) encontraram uma meia vida aumentada em torno de 10% em pacientes sob terapia com norfloxacin, aconselhando cuidados de monitorização nestes pacientes. A adição de terbutalina ao tratamento com teofilina diminui a biodisponibilidade dessa última em torno de 10% (Jonkman et al., 1988).

Em estudos de população, uma variedade de efeitos parece se correlacionar, de modo geral, com os níveis plasmáticos do fármaco não modificado, os quais incluem aumento nos volumes respiratórios forçados, frequência reduzida de ataques asmáticos, abolição do broncoespasmo induzido por exercícios, aumento do fluxo sanguíneo no antebraço, decréscimo do fluxo sanguíneo cerebral e débito cardíaco.

1.5. Metabolismo da teofilina

A teofilina é metabolizada no fígado e apenas 10% são excretados de forma inalterada na urina; 15% são desmetilados a 3-metil-xantina e uma pequena quantidade a 1-metil-xantina, 35% são eliminados na forma de ácido 1,3-dimetilúrico e 20% como ácido 1-metilúrico, ambos resultantes de oxidação microsomal (Brodie et al., 1952; Cornish & Christman, 1957; Jenne et al., 1976; Lohman & Miech, 1976; Grygiel et al., 1979; Johnkman et al., 1981; Tang-Liu et al., 1982; Birkett et al., 1985). Conseqüentemente, fatores que influenciam a oxidação ou a desmetilação de enzimas hepáticas podem modificar o metabolismo da teofilina e sua meia vida na circulação (fig. 2). A concentração da teofilina decai segundo uma cinética de primeira ordem e de acordo com um modelo de 2 compartimentos. A meia vida da fase beta varia de 3 a 13 horas, proporcionando, portanto, condições para muita variação na resposta relacionada ao fenômeno farmacocinético. Como o metabolismo da 3-metilxantina obedece uma cinética de Michaelis-Menten (Tang-Liu et al., 1982) e como as xantinas dietéticas, como a cafeína, conduzem à produção de metabólitos que interferem com esse estágio de biotransformação, a remoção de xantinas dietéticas pode levar a um aumento do índice de eliminação do metabólito, pela redução do substrato que compete com a teofilina. O metabolismo da teofilina também apresenta cinética de capacidade limitada. Uma vez que as vias metabólicas podem ser saturadas, modificações nas doses podem ocasionalmente resultar em grandes alterações das concentrações séricas (Hendeles & Weinberger, 1983).

1.6. Aspectos Enzimáticos e Genéticos do Metabolismo da Teofilina

1.6.1. Significado Clínico

O significado clínico dos polimorfismos do metabolismo da teofilina é difícil de se avaliar, uma vez que o metabolismo desse fármaco pode ser marcadamente alterado por vários fatores do ambiente, entre os quais tabagismo, etilismo, ingestão de

fármacos e de anticoncepcionais, além de numerosos fatores de dieta, conforme visto acima.

Não obstante, a teofilina tem um baixo índice terapêutico e uma taxa estabelecida de concentrações plasmáticas terapêuticas, de forma que, para um pequeno número de pacientes sob medicação, a constituição genética pode ser o principal fator determinante para dose.

Assim, não é infrequente que os pacientes requeiram ajustes na dose de teofilina para manter as concentrações plasmáticas terapêuticas e tais ajustes são, portanto, atribuíveis às influências de fatores do ambiente.

Um significado clínico considerável poderá ser atribuído ao polimorfismo da teofilina se ficar constatado que os fármacos comumente usados com baixos índices terapêuticos são metabolizados pelas mesmas enzimas do citocromo p450, que é o responsável pela transformação da teofilina.

Tomando como exemplo a debrisoquina, em relação à qual 8% da população caucasóide são considerados metabolizadores lentos, e cujo número de casos de intoxicação relatado é relativamente pequeno, cabe formular a indagação se a toxicidade realmente é rara ou, ao contrário, se é frequente mas não relatada porque os pacientes não são fenotipados e, dessa forma o metabolismo lento não é associado com a toxicidade do fármaco.

De um modo geral, a descoberta de um polimorfismo genético afetando a oxidação de um fármaco não é motivo para contraindicá-lo, mas se dois fármacos diferirem apenas pelo fato de um ser polimorficamente metabolizado e outro não, o último deve, evidentemente, ser preferido.

1.6.2. Aspectos enzimáticos

As observações de Vesell et al. (1986) indicam que os patamares individuais oxidativos para vários fármacos são catalizados por uma família de isozimas do citocromo p-450. Por exemplo, a N-desmetilação e a 8-hidroilação da teofilina são mediadas por duas formas distintas do citocromo p-450 (Miller et al., 1985). Parece razoável supor que fármacos que exibem polimorfismo genético e são metabolizados por N-desmetilação e hidroilação poderiam compartilhar com a teofilina certos aspectos da biotransformação e, dessa forma, da regulação genética.

A possibilidade de compartilhar isozimas do citocromo p-450 que participam no metabolismo de diferentes fármacos tem importantes implicações terapêuticas. Assim, os metabolizadores rápidos ou lentos da teofilina poderiam ser preditos por biotransformar fármacos relacionados de uma forma similar.

Essa abordagem de estudar um painel de diferentes fármacos em indivíduos farmacogeneticamente bem definidos foi aplicada para delinear as consequências clínicas e farmacocinéticas do "locus" genético polimórfico que controla o metabolismo da debrisoquina e de 22 outros fármacos. Enquanto muitas variantes

enzimáticas de um locus do citocromo p-450 estão envolvidas no metabolismo da teofilina, elas também são diferentemente suscetíveis aos fatores do ambiente. (Grigiel & Birkett, 1980, 1981; Bonati et al., 1981; Tserng et al., 1981).

Tais fatores, exercendo efeitos variáveis nas diferentes variantes enzimáticas do citocromo p450, poderiam pesar no fato de que as correlações entre os metabólitos da teofilina não sejam altos. Em conjunto, essas considerações enfatizam a necessidade de se selecionar, para investigações farmacogenéticas, medidas mais próximas ao efeito primário dos genes do que o são os índices de eliminação dos fármacos.

Nenhuma diferença entre os sexos foi observada por Vesell, (1986) em qualquer das medidas cinéticas, muito embora Miller et al. (1985) detectaram eliminação da teofilina mais lenta na mulher. Penno e Vesell (1983) observaram uma relação entre o polimorfismo genético da antipirina e o da teofilina nos 15 membros das famílias por eles estudadas. Contudo, as baixas correlações entre os índices de formação dos metabólitos da antipirina e da teofilina sugerem que, conquanto a disposição dos patamares da antipirina e da teofilina poderem compartilhar de algum fator regulatório em comum, algumas enzimas do citocromo p-450 responsáveis pela produção dos metabólitos da antipirina e da teofilina podem diferir. Mesmo sob condições ambientais cuidadosamente controladas, existem grandes variações interindividuais no metabolismo da antipirina e da teofilina. Mesmo assim Teunissen (1984) observou que a formação dos metabólitos da teofilina e da 4-Hidroxi antipirina é mediada por isozimas do citocromo P450 altamente semelhantes (provavelmente as mesmas).

Os resultados indicativos de polimorfismo geneticamente controlado da antipirina e da teofilina, bem como de outros fármacos descritos, sugerem que as diferenças genéticas entre as enzimas do citocromo P450 de indivíduos normais pode ser maior do que previamente se suspeitava.

Se esse grau de heterogeneidade das enzimas do citocromo P-450 confirmar-se, mesmo sendo usados poucos fármacos e métodos *in vivo* reconhecidamente de pequena sensibilidade, evidentemente poder-se-á avaliar qual é o peso do fator genético na metabolização da teofilina, com o concurso de uma metodologia melhor aprimorada.

As análises de heredogramas e das distribuições populacionais evidenciaram o controle genético das variações individuais nas constantes de formação de cada metabólito da teofilina. Essas análises foram todas baseadas em medidas cinéticas expressas como constantes de formação dos três principais metabólitos da teofilina, quais sejam, a 3-metilxantina (3-MX), o ácido metil-úrico (1-MU) e o ácido 1,3-dimetil-úrico (1,3-MU). As curvas de distribuição foram construídas com os valores das constantes de eliminação desses 3 metabólitos, obtidas de 79 indivíduos não aparentados. Entre esses indivíduos, o intervalo das variações dessa constante, no caso da 3-metilxantina foram da ordem de 6 vezes, para o 1-MU foram de 8 vezes e para o 1,3-MU, 7 vezes (Miller et al., 1986). Todos os dados familiares foram

consistentes com uma hipótese monogênica com respeito as constantes de biotransformação.

Os indivíduos cujos fenótipos correspondem a uma constante de eliminação baixa foram considerados homocigotos e denominados tt (k 3-MX), nn (k 1-MU), dd (k 1,3-MU).

Os indivíduos cujas constantes tiveram valores na faixa intermediária foram considerados heterocigotos e tiveram seus genótipos denominados Tt, Nn e Dd, enquanto aqueles com constante de eliminação alta foram assinalados como TT, NN e DD.

O coeficiente de correlação médio de todas as constantes foi de 0.74 e nas famílias nas quais o fenótipo de antipirina foi também determinado, as correlações obtidas foram 0.77, 0.69 e 0.68 para a 3-MX, ácido 1-MU e ácido 1,3-MU (Miller et al., 1986).

Foram também comparados gêmeos sob condições ambientais próximas as basais, isto é, com o mínimo possível de fatores do ambiente que pudessem interferir no metabolismo da teofilina. Os resultados obtidos indicam que as grandes variações individuais no metabolismo da teofilina são predominantemente genéticas. Um aspecto fundamental no uso de gêmeos para estimar as contribuições distintas dos fatores genéticos e ambientais para a variação farmacocinética é que os ambientes de gêmeos MZ e DZ sejam uniformes com respeito a fatores críticos. Nesse caso, as fontes em potencial das diferenças ambientais incluem vários fatores dietéticos.

Uma correlação mais alta foi observada, para todas as constantes, em gêmeos vivendo juntos comparados àqueles vivendo separados. As condições ambientais heterogêneas permitiram constatar a importância dos fatores genéticos na regulação da produção hepática dos três principais metabólitos da teofilina, o que ficou demonstrado pelos altos valores de herdabilidade nos índices de formação dos mesmos. (Miller et al., 1986).

A análise dos heredogramas nas seis famílias estudadas por Miller et al. (1986), e a distribuição trimodal nos 79 indivíduos não aparentados (Miller et al., 1986) comporta uma hipótese monogênica para o controle das variações individuais do metabolismo da teofilina, cujos alelos são transmitidos de forma codominante autossômica. Ainda é incerto se mais de um polimorfismo genético controla essas variações individuais nos índices de formação de 3-MX, 1-MU, e 1,3-MU. Uma interpretação de que apenas um polimorfismo regula a formação de todos os três metabólitos é apoiada pelas altas e estatisticamente significativas correlações entre os índices desses três metabólitos da teofilina. (Miller et al., 1986)

Quanto às enzimas envolvidas, os conceitos presentes sustentam que as vias oxidativas individuais de vários fármacos são catalizadas não por um único citocromo P-450 mas por uma família de citocromos. Assim, mais do que um polimorfismo genético do citocromo P-450 pode participar do metabolismo da teofilina. Essa afirmação apóia-se também nas curvas de distribuição populacional que diferem quanto a constante de

eliminação da teofilina e dos seus três metabólitos, bem como por estudos de indução enzimática que revelam vias geneticamente distintas no metabolismo da teofilina. Esses estudos indicam que a N-desmetilação e a 8-hidroilação da teofilina são mediados por duas formas distintas do citocromo P-450.

Assim, por exemplo, Miller et al. (1986) encontraram uma correlação positiva na formação de 1-MU e 3-MX, e uma correlação negativa entre estes metabólitos e o DMU (ácido 1,3 dimetilúrico), sugerindo que a N-desmetilação e a 8-Hidroilação são conduzidas por diferentes formas do citocromo P-450.

2. Objetivos

Tendo em vista que a teofilina é um fármaco classificado como de estreita faixa terapêutica (10 a 20 ug/ml), e sua eliminação pelo organismo é influenciada por fatores genéticos e ambientais, nossos objetivos no presente trabalho foram:

1. Estabelecimento e padronização de um método preciso e prático para a mensuração plasmática da teofilina. Esse método permitirá desenvolver um programa de monitorização terapêutica de interesse clínico e de pesquisa no concernente à avaliação dos fatores ambientais, da influência de diferentes enfermidades e de fármacos administrados simultaneamente à teofilina sobre a sua meia vida e o seu nível plasmático.

2. Obtenção de um levantamento preliminar dos níveis plasmáticos de teofilina em amostras de pacientes adultos e crianças acompanhados nos Ambulatórios de Pneumologia e de Imunologia Infantil, e na Enfermaria de Pneumologia.

3. Comparação entre os níveis plasmáticos induzidos pela administração de duas distintas preparações farmacêuticas de teofilina; uma preparação de liberação lenta (teofilina em microgranulos) vs uma preparação de liberação imediata (teofilina xarope), em voluntários sadios.

Os resultados permitirão estabelecer um protocolo de monitorização clínica, definindo-se as circunstâncias em que há necessidade de individualização da dose segundo o peso corporal, a idade, enfermidades associadas e resposta enzimática individual visando à melhor utilização da teofilina com respeito aos seus efeitos desejados.

3. Casuística, Material e Métodos

3.0 .Pacientes e Voluntários

Foram analisados pacientes e voluntários, sendo os primeiros de diferentes procedências, estados de saúde, faixa etárias e submetidos a diferentes tratamentos.

3.1.Pacientes do Ambulatório de Pneumologia do HC da Unicamp

Constituído de adultos portadores de Deficiência Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) ou asma, com idade variando entre 18 e 80 anos e um tempo de doença entre 1 mes e vários anos. Quanto ao sexo e cor, 13 homens (9 caucasóides, 1 negróide, 3 sem informação quanto a cor) e 27 mulheres (14 caucasóides, 10 negróides e 3 sem informação quanto a cor).

Todos tinham prescrita medicação por via oral e a dose por kg foi variável. O tempo transcorrido entre a última dose e a coleta da amostra foi desconhecido. Não houve acompanhamento da ingestão do fármaco.

3.2. Pacientes da Enfermaria de Pneumologia do HC da Unicamp

3.2.1. Medicação endovenosa. Adultos portadores de DPOC ou asma, com idade entre 39 e 71 anos, 4 homens e 3 mulheres sob medicação endovenosa (Ampolas de 0.24 g de aminofilina a cada 8 hs), com tempo de uso mínimo de 3 dias. Coleta da amostra entre uma e três horas após administração.

3.2.2. Medicação por via oral. Adultos, também portadores de DPOC ou asma, sob medicação oral (0.2 g a cada 8 hs), 3 homens e 2 mulheres. Mesmo intervalo entre coleta da amostra e última ingestão.

3.3. Pacientes do ambulatório de Alergia, Imunologia e Pneumologia Infantil do HC da Unicamp.

Portadores de asma cronica ou DPOC, com idade variavel entre 7 e 14 anos, o tempo de doença mínimo foi de 4 anos, e o tempo de tratamento mínimo, 10 dias. Quanto ao sexo e cor, 4 crianças do sexo feminino, 2 crianças do sexo masculino, todos caucasóides. A amostra foi coletada após 2 horas da administração de teofilina por via oral na dose de 5 mg/kg.

3.4. Voluntários do Ambulatório de Farmacologia Clínica

Conjunto de 11 voluntários adultos, hígidos, 6 homens e 5 mulheres, idade entre 20 anos e 45 anos, selecionados ao acaso quanto aos fatores genéticos.

A seleção de voluntários obedeceu às seguintes normas:

3.4.1. Critério de inclusão

- Voluntários Saudáveis Adultos
- Idade entre 18 e 45 anos
- Livres de enfermidade cardíaca, hepática, renal, pulmonar, neurológica, gastrointestinal, hematológica e psiquiátrica significativa, determinada através de anamnese, exame clínico e exames laboratoriais
- Não fumantes

3.4.2. Critério de exclusão

- Voluntários que tenham participado de estudo como voluntários nos 3 meses anteriores ao início do ensaio
- Os que tenham recebido medicação regularmente durante as quatro semanas anteriores ao estudo
- Voluntários com história de abuso de álcool ou droga
- Voluntários que consomem regularmente mais do que quatro unidades de álcool por dia (uma unidade = 1/2 garrafa de cerveja ou um copo de vinho)
- Peso maior do que 100 kg ou com desvio maior do que 15% do peso corporal ideal
- Fumantes

3.4.3. Engajamento dos Voluntários

Os voluntários foram engajados no estudo somente se julgados aptos e saudáveis de acordo com anamnese, exame clínico e exames laboratoriais (ver apêndice 1) realizados no máximo 4 semanas antes do início do estudo.

3.4.4. Internação

Os voluntários apresentaram-se à enfermaria da Unidade de Farmacologia Clínica às 19:00 hs da noite quando se iniciava cada ensaio, e permaneceram na Unidade durante as 48 horas que se seguiam à primeira dose.

3.4.5. Restrições aos voluntários

Todos os voluntários que se internavam na Unidade de Farmacologia Clínica recebiam o jantar normalmente.

Foi permitida ingestão de líquidos à vontade após o almoço, mas as bebidas contendo xantinas (chá, café, Coca-Cola) foram evitadas.

Na medida do possível, foi evitada medicação concomitante durante o período de estudo. Qualquer medicação dada neste período foi registrada.

O consumo de álcool foi evitado completamente nas 48 hs que antecediam cada internação.

3.4.6. Critério de interrupção do estudo

Os seguintes critérios foram seguidos para interromper um estudo em andamento:

- Voluntários que não desejavam continuar com o estudo por razões outras do que efeitos indesejáveis do fármaco em estudo, por exemplo não disponibilidade e intolerância aos procedimentos inerentes ao estudo
- Efeitos indesejáveis do fármaco em estudo
- Exames de laboratório anormais, julgados de relevância clínica
- Enfermidades intercorrentes que requeressem medicação

3.4.7 Reações adversas

Pediu-se aos voluntários que descrevessem qualquer efeito adverso, se e quando ocorresse. Pediu-se também que notificassem o investigador caso necessitassem de alguma medicação adicional.

Quaisquer efeitos adversos que ocorreram durante o período de estudo foram registrados em detalhe através de nota complementar na pasta de dados do voluntário. O questionário para averiguar se o paciente experimentou qualquer efeito adverso limitou-se a perguntas genéricas do tipo "Como está passando?"

Qualquer voluntário com algum efeito adverso foi acompanhado clinicamente e através de estudos laboratoriais até todas as variáveis terem voltado aos valores normais.

As apresentações e intervalos entre doses dos fármacos foram Teolong 300 mg a cada 12 horas e Xarope Bermacia 200 mg a cada 8 hs. Os horários de coleta após dose são os adiante descritos.

3.5. Coleta das Amostras

Amostras de 5 ml de sangue foram obtidas por punção venosa e acondicionadas em tubos de vidro com aproximadamente 0.3 ml de EDTA (10%, w/v). As amostras foram conduzidas ao laboratório à temperatura ambiente e centrifugadas a 4000rpm. durante 5 minutos. Plasma (2 ml) foi retirado e acondicionado em tubos de vidro, fechado hermeticamente, e armazenado em congelador (-20°C). Em caso de suspeita de intoxicação, a amostra era submetida a análise no mesmo dia.

3.6. Método da dosagem de teofilina plasmática

Os métodos desenvolvidos para dosagem de teofilina plasmática até o momento são: espectrofotométricos, imunoquímicos e através de HPLC (high pressure liquid chromatography). Atualmente, os mais utilizados são os dois últimos.

As vantagens que a dosagem por HPLC apresentou em relação ao método imunoquímico foram:

- A possibilidade de dosar simultaneamente a cafeína
- A possibilidade de dosar anticonvulsivantes com mudança apenas da fase móvel, com alta sensibilidade

De modo genérico, as principais características inerentes ao método HPLC são:

- Versatilidade. Os equipamentos (colunas, detectores, etc.) são úteis para detectar e dosar amostras de diferentes tipos, e portanto servirem às diversas técnicas cromatográficas
- Rapidez. Para se conseguir análises rápidas, devíamos procurar as melhores condições da cromatografia líquida de alta pressão: fase móvel de baixa viscosidade usada com bomba hplc, colunas com partículas de pequeno diâmetro (aumentando a área de superfície, melhora-se o processo de separação)
- Reprodutibilidade e Estabilidade. Para tanto, o equipamento teve controladas as seguintes variáveis: Vazão, temperatura, pressão e composição da fase móvel
- Sensibilidade. Devida ao sistema de detecção (Detector U.V.)

3.7. Descrição dos Métodos Cromatográficos para dosagem e monitorização terapêutica de teofilina plasmática

3.7.1. Primeiro Método

Este método utilizou o protocolo de preparação da amostra proposto por Weidner et al. (1980), devido à sua simplicidade, e a fase móvel proposta por Ou e Frawley (1982), devido à minimização de interferências por alguns antibióticos do grupo das cefalosporinas.

3.7.1.1. Extração da amostra

Precipitante das proteínas plasmáticas:

- Ácido acético glacial: 10%
- Diclorometano : 40%
- Isopropanol : 50%

Ao precipitante, adicionou-se 8-Cloroteofilina na proporção de 2 mg por litro

Técnica de extração

- a. A 0.5ml do precipitante adicionou-se 50ul de plasma padrão, controle ou do paciente.
- b. Após misturar em vortex por 1 minuto, centrifugaram-se os tubos por 5 min. a 2000 rpm
- c. 300 ul do sobrenadante claro foi transferido para pequenos tubos (70x7mm).
- d. O conteúdo foi evaporado sob fluxo de nitrogênio, a 60°C.

3.7.1.1.3. Injeção: Adicionaram-se 40 ul da fase móvel a cada tubo e misturou-se no vortex por 1 min. A seguir, injetaram-se 20 ul no injetor.

3.7.1.2. Fase móvel

- 120 ml de acetonitrila: 120 ml
- KH₂PO₄ 0.1 M, pH 4: 880 ml

3.7.1.3. Condições Cromatográficas

- velocidade de fluxo: 2ml/min
- coluna (fase reversa) : Partysil C18 10 ods (10um) 200x4 mm
- précoluna: mesmo material 40x4 mm
- Absorbância (detector ultravioleta): 272 nm
- Sensibilidade: 0.100 AUFS
- Registrador: Bryans Southern modelo 28000 tipo potenciométrico, regulado em 10 mV, a 5 mm/min.
- Válvula de amostragem: modelo de volume fixo (loop) igual a 20ul.
- Recuperação = 91 a 94%

- Tempo de retenção obtido:
Teofilina: 3.8 ± 0.2 min.
Padrão Interno: 5.5 ± 0.4 min.

3.7.1.4. Solução Padrão de Teofilina

Dissolveram-se 20 mg de teofilina em 100ml de metanol, sendo essa solução estocada a 4 °C.

3.7.1.5. Cálculo da quantidade de teofilina

- D_s: Altura do pico do fármaco no cromatograma padrão.
- D_t: Altura do pico do fármaco no cromatograma do paciente.
- I_s: Altura do pico do padrão interno no cromatograma padrão.
- I_t: Altura do pico do padrão interno no cromatograma do paciente.
- c_d: concentração do fármaco no soro padrão.
- R: índice padrão para o fármaco.
- $R = I_s \times c_d / D_s$ mg/L
- Teofilina sérica (mg/l) = $D_t \times R / I_t$

3.7.2. Segundo Método

3.7.2.1. Extração da amostra para injeção no HPLC

Precipitantes:

- Acetonitrila
- NaCl

Procedimento:

- Em um tubo de ensaio eram adicionados:
 - 150 ul da amostra ou do padrão de teofilina.
 - 50 ul de padrão Interno (beta-OH-Propil teofilina) diluído.
 - 500 ul de acetonitrila (para precipitação de proteínas).
 - 100-200 ug NaCl.

b. Após agitação, as amostras eram centrifugadas (2,000 rpm, 5 minutos), e o sobrenadante (300-400 ul) transferido para tubo de ensaio, e posteriormente evaporado sob fluxo de N₂ a temperatura de 50 °C. 2.7.2.1.3. Reconstituía-se o resíduo com a fase móvel (100 ul) e alíquotas (20 ul) eram injetadas no cromatógrafo.

3.7.2.2. Eluente ou fase móvel

Acetato de sódio, Hidróxido de tetra butil amônia/acetonitrila/metanol ou CH₃COONa,OH N (C₄H₉)₄/ CH₃ CN/ CH₃OH na proporção 70/05/25

Preparo:

Adicionou-se 0.5 ml de ácido acético glacial a 500ml de água destilada. A seguir, adicionou-se gota a gota, NaOH (até pH 7 a 8. Adicionou-se então 0,5 ml de solução tetrabutilamoníaco, seguindo-se ácido acético glacial gota-a-gota até a obtenção de um pH = 4.7.

Acetato de Sódio, Hidróxido de Tetrabutil Amônia: 350 ml

Acetonitrila: 25 ml

Metanol: 125 ml

3.7.2.3. Condições cromatográficas:

Bomba de alta pressão: marca Waters, modelo M45.

- A reprodutibilidade dos cromatogramas estava diretamente relacionada com a reprodutibilidade do fluxo do solvente. Sistemas de bombeamento confiáveis são fundamentais no método hplc.
- Fluxo: 1.5 ml/min.
- Coluna: tipo fase reversa Merck Lichrosorb RP 18, 10 u, 250x9mm
- Absorbância (detector ultravioleta): 273 nm
- Sensibilidade: 0.05 a 0.1 AUFS.
- Registrador: Bryans Southern, modelo 28000 tipo potenciométrico, regulado em 10 mv, a 5 mm/min.
- válvula de amostragem: modelo de volume fixo (loop) = 20ul
- Recuperação: 87 a 93%
- Tempo de retenção obtido:
Teofilina: 6.5 ± 0.2 min.

Padrão Interno: 9.6 ± 0.4 min.

3.7.2.4. Preparo dos Padrões

3.7.2.4.1. Teofilina anídrica (80 mg) foi diluída em H₂O (50 ml). A essa solução adicionou-se NaOH concentrado gota-a-gota) até obtenção de pH alcalino (aproximadamente 8). Após correção do pH, o volume final (100 ml) foi completado com H₂O.

Esta solução (800 ug/ml), armazenada a 4°C, é estável por, no mínimo, 6 meses. Durante a estocagem a 4°C alguns cristais de teofilina podem aparecer. Em vista disso, a solução de teofilina sempre foi usada à temperatura ambiente.

Diluições (1:2) em H₂O foram efetuadas para obtenção dos seguintes padrões: 800ug/ml, 400ug/ml, 200ug/ml, 100ug/ml, 50ug/ml e 0ug/ml.

3.7.2.4.2. Padrões plasmáticos

O plasma sanguíneo (500 ml) foi fornecido pelo Hemocentro da Unicamp. Após eliminação das partículas sólidas do plasma por centrifugação (5000 rpm, 5 minutos), os padrões de teofilina (0.5 ml) foram diluídos (1/20) em plasma (9.5 ml), obtendo-se deste modo os seguintes padrões finais: 40 ug/ml, 20ug/ml, 10 ug/ml, 5 ug/ml, 2,5 ug/ml, 0 ug/ml. Alíquotas (300 ul) eram armazenadas em tubos de ensaio descartáveis plásticos a -20°C, sabendo-se que nesta temperatura a teofilina é estável por anos (fig. 3).

3.7.2.4.3. Padrão Interno

Beta-OH-Propil teofilina (100mg) foi dissolvido em metanol (100 ml) e armazenado a 4°C. Imediatamente antes da análise, o padrão interno concentrado (1mg/ml) era diluído (1:10) em H₂O; esta solução diluída (100 ug/ml) era então utilizada no preparo das amostras.

3.7.2.5. Modelo Utilizado para cálculo da quantidade de teofilina

Identif.	h ₁	h ₂	R = h ₁ /h ₂	F	C(ug/ml)
padrão 20	48	56	0.856	23.36	20
padrão 10	22	53	0.415	24.10	10
amostra 1	12	66	0.182		4.3
amostra 2	84	53	1.585		37.6

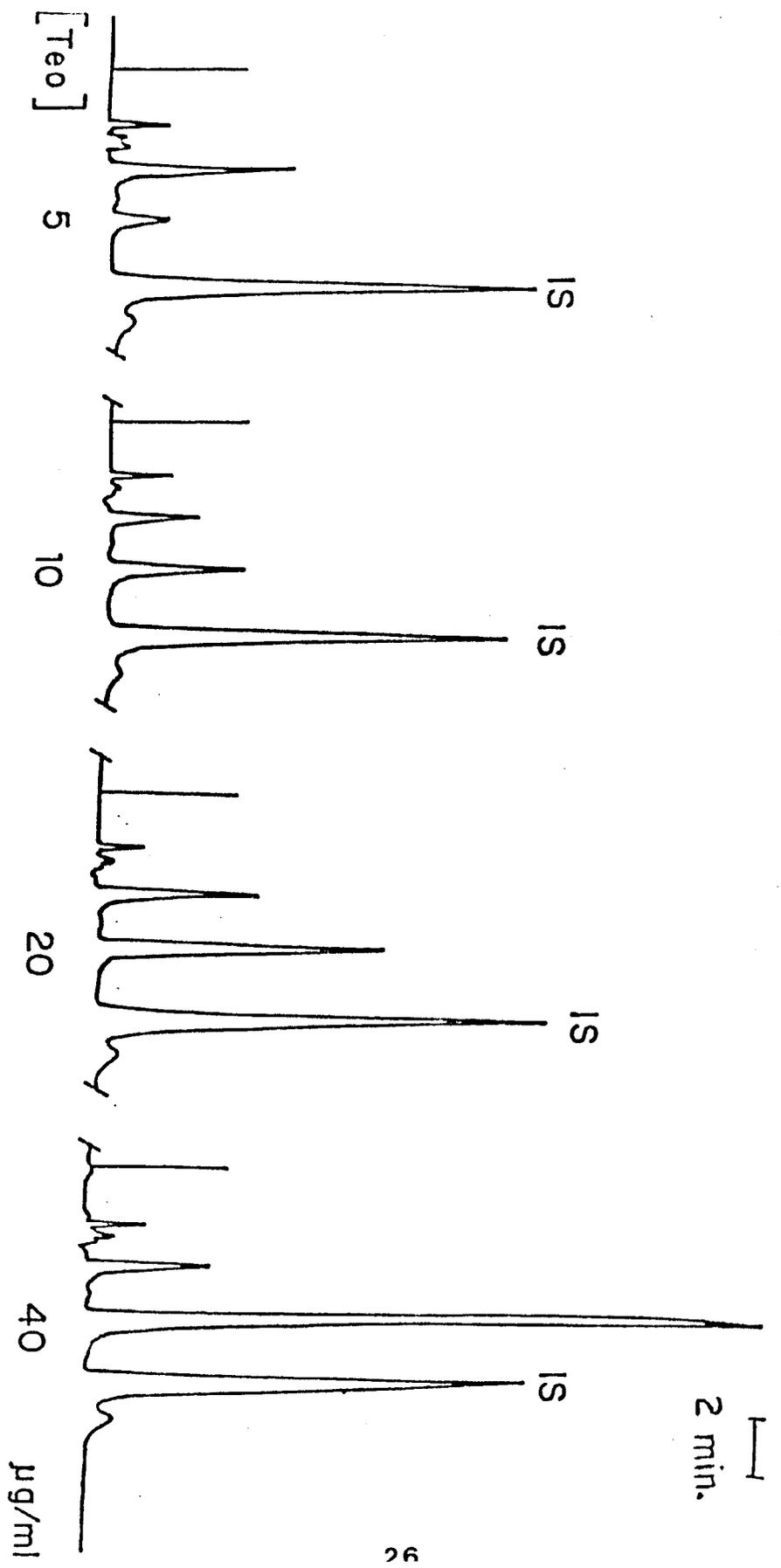
$f_{\text{médio}} = 23.73$; $C = F \times R$

h₁ = altura do pico cromatográfico de teofilina.

h₂ = altura do pico cromatográfico do padrão interno.

FIG. 3

Cromatograma da Teofilina e da B-OH-propil Teofilina
(padrão interno) através de HPLC



Calcula-se o valor médio de F de 2 ou 3 padrões. Utiliza-se então este valor para calcular C da amostra.

3.7.3. Observações sobre particularidades das análises através de HPLC.

a) Submetíamos a fase móvel durante 5 a 10 minutos ao ultrasom pois com a degaseificação obtém-se:

- Melhor sensibilidade e estabilidade da linha de base.
- Reprodutibilidade dos tempos de retenção.
- Reprodutibilidade dos volumes de injeção.
- Estabilidade de operação das bombas.

b) O sistema que utilizamos foi o isocrático, isto é, uma só fase móvel.

c) A técnica descrita no 1º item do 1º e 2º métodos, correspondente a extração da amostra, é uma etapa que contém muitas das fontes de erro. A extração ideal deveria ser 100% eficiente para o componente de interesse e ter eficiência de extração zero para todo o restante. Na prática, esta situação ideal é muito raramente alcançada e a extração torna-se um compromisso entre eficiência e seletividade.

d) A amostra era injetada numa válvula (injetor), que contém um sistema de "loop", que permitia que a injeção não interrompesse o fluxo da fase móvel.

e) A coluna de fase reversa utilizada é apolar. A teofilina, sendo mais polar que o AAS por exemplo, liga-se menos à coluna, se esta for de fase reversa, e portanto elui anteriormente. Da mesma forma, como os metabólitos regra geral são mais polares do que a teofilina, também eluirão anteriormente à mesma.

f) A fase móvel apresentou as seguintes características:

- Alto grau de pureza em cada componente
- Alta capacidade de dissolver a amostra sem decompor seus componentes
- Não interferência com a fase estacionária.
- Baixa viscosidade. A baixa viscosidade da fase móvel é muito importante na eficiência da separação, porque a viscosidade influi no efeito de transferência de massa entre a fase estacionária e a fase móvel, e também na vazão.
- Compatibilidade com o tipo de detector ultravioleta utilizado
- Polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra.

Ao escolher ou trocar a composição da fase móvel, os seguintes pontos foram considerados (foi alterada somente quando implantou-se o segundo método de dosagem descrito):

- Quanto mais alta a porcentagem de solventes orgânicos (metanol ou acetonitrila), menor o tempo de retenção. O metanol tem cerca de metade da força de eluição em relação a acetonitrila. Portanto, espera-se que a substância eluída aos 10 minutos com a fase móvel com 40% de metanol eluirá no mesmo tempo com somente 20% de acetonitrila.
- O metanol requer pressão mais alta do que a acetonitrila, devido a sua viscosidade mais alta. Se quisermos obter resultados reprodutíveis na composição da fase móvel, é importante preparar exatamente da mesma maneira: medir sempre em provetas separadas o volume de metanol, acetonitrila e tampão, e então misturar. Se adicionarmos um solvente orgânico com outros na mesma proveta, existe uma contração de volume devido as diferentes densidades dos componentes da fase móvel, que erroneamente leva a adição de mais solvente orgânico ou mais tampão aquoso para obter o volume final.
- A composição da fase móvel altera-se leve mas invariavelmente com o tempo, devido a evaporação do solvente orgânico. Apesar de armazenada corretamente, frequentemente era necessário re Prepará-la.
- A concentração do tampão fosfato teoricamente pode variar entre 0.001 e 0.1 M. Usualmente concentrações altas de sais fornecem melhores cromatogramas, porém diminuem o tempo de vida útil da coluna, o que leva-nos a um compromisso entre estas duas exigências. O sal mais utilizado é o KH_2PO_4 , que produz também um efeito de íon pareado. Outro sal utilizado é o Acetato de Sódio.
- O pH é importante não somente para prevenir a dissolução da coluna, mas para melhorar a separação dos componentes que são dissociados (ácidos ou bases).

3.7.4. Regras gerais para cálculo e controle de qualidade

(Introduzido a partir do segundo método)

- Organizamos um livro para cada fármaco monitorizado. Este livro contém todos os dados analíticos, comentários sobre o desempenho geral, sobre problemas específicos e obviamente qualquer variação em relação ao método original.
- Sempre que analisávamos uma amostra, mesmo uma única, analisávamos junto pelo menos um padrão, de nível médio (por exemplo 20 ug/ml, para teofilina). quando não havia emergências, coletávamos várias amostras e analisávamos simultaneamente, junto com pelo menos dois padrões e um soro controle. (Biorad).
- Após uma cromatografia completa, independente do número de amostras, registrávamos os dados de acordo com os exemplos já vistos. A razão $f = C/R$ de alguns padrões e diferente de outras. Construíamos um gráfico, e avaliávamos se

era necessário descartar algum dado ou o conjunto inteiro de dados deveria ser desprezado.

3.7.5. Padrões Internos

Tanto no 1º quanto no 2º método utilizado, a escolha do padrão interno obedeceu aos seguintes critérios:

- Tempo de retenção semelhante ao da amostra, mas com pico completamente distinto do pico da teofilina.
- Não reagir com a amostra.
- Ausente em 100% das amostras.
- Alta pureza e fácil obtenção.

3.8. Estudo de Bioequivalência da Teofilina

3.8.1. Seleção de voluntários

O critério de seleção foi anteriormente descrito no item "Pacientes e Voluntários"

3.8.2. Modelo experimental

3.8.2.1. Doses

Cada dose compreendeu uma cápsula (300mg) ou medida de xarope (200mg) administrados conforme casualização prévia.

As cápsulas foram ingeridas com 200 ml de água comum.

3.8.2.2. Amostras de sangue

As amostras de sangue para o ensaio foram coletadas de uma veia de um antebraço (à escolha do voluntário), nos tempos 0, 15min, 30min, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h (quando foi administrada nova dose), para a apresentação de liberação lenta e nos horários 0, 15min; 30 min, 1h, 2h, 4h e 8h (quando foi administrada nova dose), para a apresentação de liberação normal. Em cada ocasião, uma amostra de 3ml foi coletada com auxílio de "butterfly", num tubo contendo anticoagulante em quantidade suficiente. O controle dos tempos de coleta das amostras foi realizado com auxílio de um cronômetro.

3.8.2.3. Determinação da Concentração Plasmática

A concentração plasmática foi determinada por cromatografia líquida de alta pressão. Todas as amostras de um mesmo voluntário foram analisadas num mesmo dia, para diminuir a variação interensaio. As amostras foram previamente extraídas como descrevemos no ítem referente ao 2º método.

3.8.3. Análise Farmacocinética

A concentração plasmática máxima observada (C_{max}) e o tempo transcorrido para a obtenção do nível plasmático máximo (T_{max}) foram determinados somente para o período que antecedia a segunda administração do medicamento. Este critério foi utilizado para realçar as diferenças em T_{max} entre a formulação de liberação lenta e a de liberação imediata. As áreas sob as curvas concentração-tempo da teofilina (AUC 0-24 hs) foram calculadas usando método trapezoidal.

3.8.4. Programas de Computador

Os seguintes programas foram usados:

a. Siphar

SIMED S.A. Centre d Etudes et de Recherches en Statistiques et informatique
Medicales
9-11, rue G.-Enesco- 94008 Creteil Cedex FRANCE

b. Bioequivalence Program

For Two-Period Cross-Over Studies
Version 3.4
January, 29, 1990
Author: Herman P. Wijnand
The Netherlands

3.8.5. Aspectos éticos

3.8.5.1. Aprovação do estudo

O protocolo foi submetido ao comitê de ética da Faculdade de Ciências Médicas para aprovação. Quaisquer alterações importantes requereram aprovação pelo comitê.

O estudo foi conduzido de acordo com as determinações da Declaração de Helsinki (1965) e as revisões de Tokio (1975) e Veneza (1983).

3.8.5.2. Consentimento Escrito

Os voluntários receberam uma explicação completa sobre a natureza e propósito do estudo do investigador. Ficou claro que o estudo era para fins de pesquisa e que não traria nenhum benefício terapêutico para os participantes. Ao voluntário também ficou claro que ele tinha todo o direito de abandonar o estudo a qualquer tempo, sem prejuízo. Para cada voluntário foi então pedido um consentimento por escrito para sua participação no estudo.

3.8.5.3. Caráter Confidencial dos Dados

Os resultados do exame clínico e dos testes de laboratório foram registrados na pasta de dados do voluntário e nos prontuários individuais do Arquivo de Dados do HC.

Todas as informações obtidas durante o desenvolvimento do estudo, referentes ao estado de saúde dos voluntários, foram colocadas a disposição do corpo clínico do HC da Unicamp.

3.8.6. Delineamento do ensaio

O delineamento consistiu num estudo aberto de 11 voluntários adultos saudáveis. Após a seleção e um período de desintoxicação (de no mínimo 4 semanas), os voluntários foram internados por dois períodos de 48 horas cada.

Lista de Casualização

Voluntário	Fase1	Fase 2
Vol. I	Teolong	Bermacia
*Vol. II	Bermacia	Teolong
*Vol. III	Teolong	Bermacia
*Vol. IV	Bermacia	Teolong
*Vol. V	Bermacia	Teolong
Vol. VI	Teolong	Bermacia
*Vol. VII	Teolong	Bermacia
*Vol. VIII	Teolong	Bermacia
*Vol. IX	Teolong	Bermacia
*Vol. X	Bermacia	Teolong
Vol. XI	Bermacia	Teolong

* Voluntários os quais ingeriram o fármaco e dos quais foram coletadas amostras durante um período de tempo suficiente para o cálculo da área sob a curva.

3.8.7. Fármacos

Teolong 300 mg - lote número 955/900; Bermacia Xarope 200 mg - lote número 9057

4. Resultados

4.1. Metodologia

4.1.1. Percentuais de recuperação da teofilina após submeter à extração.

1º método: 91 a 94%

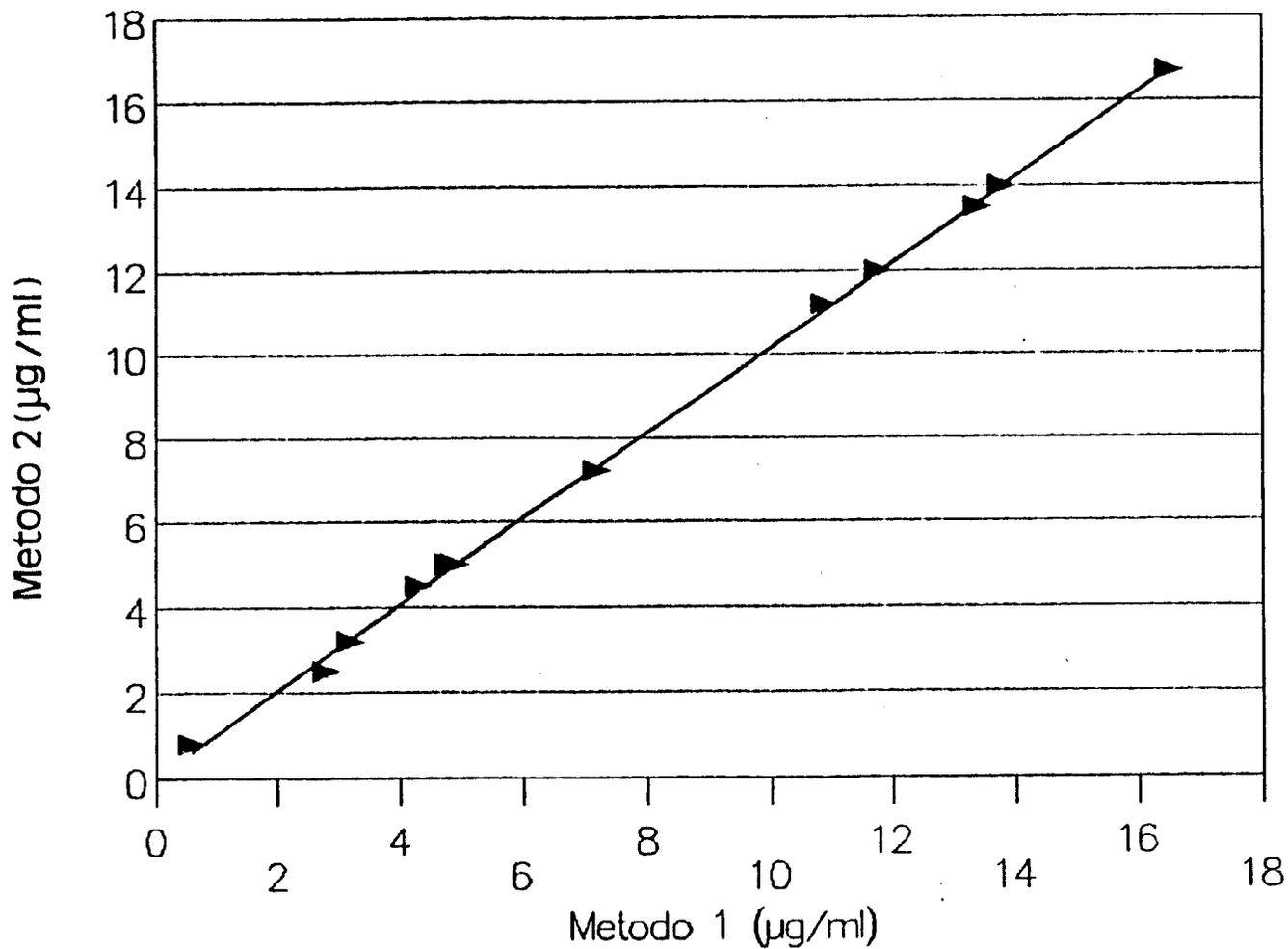
2º método: 87 a 93%

4.1.2. Comparação de resultados de concentração de teofilina plasmática obtidos através do 1º e 2º método (Figura 4):

<u>amostra</u>	<u>1º método(ug/ml)</u>	<u>2º método(ug/ml)</u>
1	2.8	2.5
2	13.8	14.0
3	11.8	12.0
4	10.9	11.2
5	16.5	16.7
6	13.4	13.5
7	4.8	5.0
8	3.2	3.2
9	0.6	0.8
10	7.2	7.2
11	4.3	4.5
12	4.9	5.0

FIG. 4
REGRESSAO LINEAR

Metodo 1 x Metodo 2



4.1.3. Variação quantitativa ao longo do tempo

Valores obtidos do Laboratório de Controle de Qualidade da Policlínica Careggi - Florença, Itália (2º ciclo de 1989).

	Careggi (ug/ml)	Unicamp (ug/ml)	Diferença (%)
1	3.2	5.0	+56
2	1.8	2.0	+12
3	11.4	14.0	+23
4	21.4	27.0	+26

4.1.4. Comparação de resultados obtidos através dos métodos TDX (Laboratório Fleury) e HPLC:

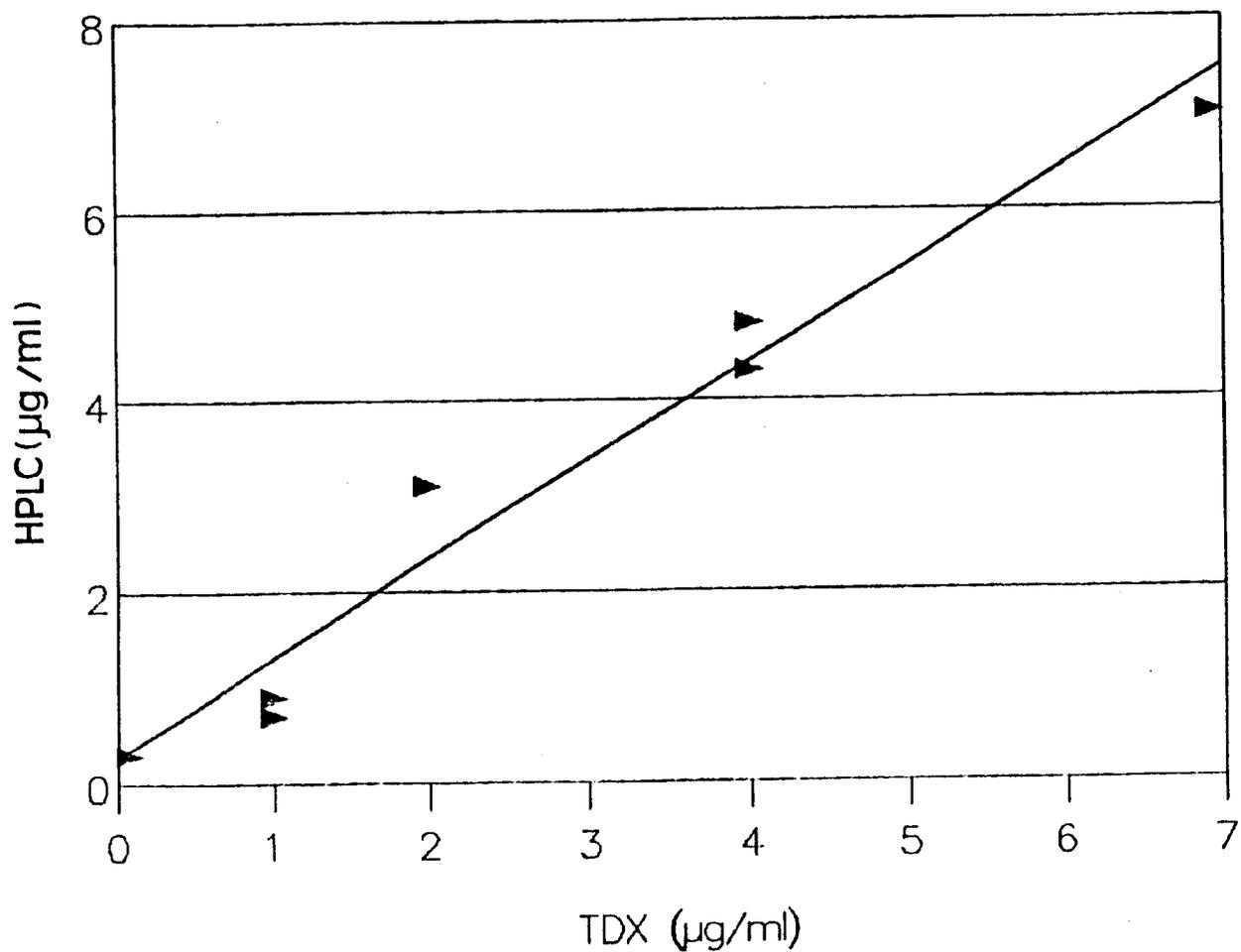
	TDX (ug/ml)	HPLC (ug/ml)
1	4	4.8
2	1	0.9
3	2	3.1
4	1	0.7
5	7	7.0
6	4	4.8
7	4	4.3
8	0	0.3

4.2. Níveis Plasmáticos

FIG. 5

REGRESSAO LINEAR

TDX (ug/ml) x HPLC (ug/ml)



4.2.1 Dados dos pacientes de Ambulatório de Pneumologia do HC da Unicamp

Pac.	sexo	idade	cor	peso	conc.(ug/ml)
1	m	57	br	108	1.1
2	f	53	pt	95	1.3
3	f	60	pt	75	2.5
4	f	56	pt	52	4.8
5	f	38	br	64	7.9
6	m	71	br	-	5.4
7	m	55	-	-	2.6
8	m	66	-	56	2.2
9	m	80	br	-	5.4
10	m	34	-	57	1.2
11	f	57	br	-	4.2
12	f	53	-	62	5.4
13	f	57	-	68	1.5
14	m	55	pt	55	1.2
15	m	49	br	54	1.2
16	f	68	br	46	4.3
17	f	45	pt	53	1.5
18	f	52	pt	89	1.3
19	f	71	br	-	2.2
20	f	61	br	44	18.4
21	f	72	br	49	2.6
22	f	44	pt	60	16.5
23	f	57	br	56	2.0
24	f	18	pt	47	10.0
25	m	48	br	80	10.0
26	f	48	br	73	4.6
27	m	31	br	80	7.1
28	f	67	br	44	4.5
29	f	74	-	46	2.1
30	f	40	pt	46	3.0
31	f	57	pt	49	19.3
32	f	37	pt	-	2.5
33	f	58	br	58	8.3
34	f	-	br	101	2.9
35	f	46	br	72	8.9
36	m	65	br	61	4.3
37	f	57	br	67	0.6
38	m	39	br	57	7.5
39	m	63	br	63	8.0
40	f	55	br	75	11.2

**4.2.2. Dados dos pacientes da Enfermaria de Pneumologia do HC da Unicamp
(medicação endovenosa)**

Pac.	sexo	idade	cor	peso	conc.(ug/ml)
1	f	57	br	43	26.0
2	m	71	br	39	13.3
3	f	60	br	-	8.0
4	m	65	br	49	11.6
5	m	58	pt	77	7.4
6	f	68	br	46	8.7
7	m	39	br	48	9.7

**4.2.3. Dados dos pacientes da Enfermaria de Pneumologia do HC da Unicamp
(medicação oral)**

Pac	sexo	idade	cor	peso	conc.(ug/ml)
1	f	76	-	39	5.2
2	f	26	-	-	2.6
3	m	53	pt	-	4.6
4	m	72	br	62	8.8
5	m	14	-	-	10.1

4.2.4. Pacientes do Ambulatório de Alergia, Imunologia e Pneumologia Infantil

Pac	Sexo	Idade	Cor	Peso	C(ug/ml)
1	M	9	B	-	22.6
2	M	10	B	-	13.5
3	F	11	B	-	16.7
4	F	14	B	-	11.5
5	F	7	B	-	13.5
6	F	7	B	-	11.2

4.3. Resultados quanto a faixa terapêutica

4.3.1. Grupo de ambulatório (V.O.)

- Faixa Terapêutica (10 a 20 ug/ml) : 6 (15%)
- 5 a 10 ug/ml : 9 (22.5%)
- menos que 5 ug/ml: 25 (62.5%)

Total:40

4.3.2. Enfermaria (E.V.)

- 20 a 30 ug/ml: 1 (14.2%)
- Faixa Terapêutica (10 a 20 ug/ml) : 3 (42.9 %)
- 5 a 10 ug/ml: 3 (42.9 %)

Total: 7

4.3.3.. Enfermaria (V.O)

- Faixa Terapêutica (10 a 20 ug/ml): 1 (20%)
- 5 a 10 ug/ml: 3 (60%)
- menos que 5 ug/ml: 1 (20%)

total: 5

4.3.4. Ambulatório Alergia, Imunologia e Pneumologia Infantil (V.O.)

- Faixa Terapêutica (10 a 20 ug/ml): 5 (83.3%)
- 20 a 30 ug/ml: 1 (16.6%)

total: 6

4.3.5. Voluntários da Enfermaria de Farmacologia Clínica

Vol. I - S.C.R.

Idade - 21 anos
 Homem - Branco
 Estudante de Medicina
 Peso - 75 Kg
 Altura - 181 cms

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
20:15	0.0
20:30	0.0
21:00	0.0
22:00	0.9
24:00	2.9
04:00	5.6
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	5.7
08:15	6.0
08:30	6.1
09:00	5.9
10:00	7.0
12:00	9.1
16:00	10.3
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	7.6
20:15	7.7
20:30	7.8
21:00	7.9
22:00	7.1
24:00	8.6
04:00	9.1
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	9.5
08:15	9.5
08:30	9.8
09:00	9.5
10:00	9.8
12:00	13.2
16:00	10.9
20:00 - última amostra.	8.8

Vol. I - S.C.R.

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	2.6
23:30	2.5
24:00	3.4
01:00	5.6
03:00	5.1
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	4.4
07:15	*
07:30	*
08:00	*
09:00	*
11:00	*
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	*
15:15	*
15:30	*
16:00	*
17:00	*
19:00	*
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	*
23:15	*
23:30	*
24:00	*
01:00	*
03:00	*
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	10.5
07:15	14.6
07:30	17.4
08:00	19.2
09:00	*
11:00	*
15:00 - última amostra	*

* Amostra não coletada

Vol. II - C.R.D.T.S.

Idade - 20 anos
 Homem - Branco
 Estudante de Medicina
 Peso - 92kg
 Altura - 171 cms

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	1.4
23:30	1.7
24:00	2.1
01:00	2.8
03:00	3.4
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	2.6
07:15	3.7
07:30	5.8
08:00	10.2
09:00	7.5
11:00	5.8
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.9
15:15	4.4
15:30	5.2
16:00	5.6
17:00	6.2
19:00	6.0
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.8
23:15	6.7
23:30	8.3
24:00	8.8
01:00	6.8
03:00	6.0
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	4.1
07:15	8.2
07:30	9.5
08:00	11.5
09:00	8.3
11:00	6.2
15:00 - última amostra	4.6

Vol. II - C.R.D.T.S.

Teolong 300 mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
20:15	0.0
20:30	0.0
21:00	0.0
22:00	0.7
24:00	2.9
04:00	4.6
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	4.5
08:15	4.1
08:30	4.4
09:00	4.6
10:00	6.8
12:00	11.0
16:00	8.1
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	5.4
20:15	4.7
20:30	5.1
21:00	5.1
22:00	5.5
24:00	8.8
04:00	6.3
08:00	4.8
08:15	*
08:30	*
09:00	*
10:00	*
12:00	*
16:00	*
20:00 - última amostra.	1.4

* Amostra não coletada

Vol. III - M.L.A.

Idade - 26 anos
 Mulher - Branca
 Secretária
 Peso - 58 kg
 Altura - 162 cm

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0
20:15	0
20:30	0
21:00	0
22:00	0.6
24:00	2.4
04:00	6.4
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	7.5
08:15	8.2
08:30	7.3
09:00	7.1
10:00	8.5
12:00	9.2
16:00	8.4
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	8.2
20:15	9.0
20:30	9.2
21:00	8.9
22:00	8.7
24:00	10.4
04:00	8.6
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	12.0
08:15	13.5
08:30	13.9
09:00	12.9
10:00	13.5
12:00	13.0
16:00	11.1
20:00 - última amostra	8.3

Vol. III - M.L.A.

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Bermacia VO	0.0
23:15	2.9
23:30	3.2
24:00	5.8
01:00	5.6
03:00	4.8
07:00 - amostra basal seguida por Bermacia VO	3.5
07:15	10.1
07:30	13.5
08:00	11.5
09:00	9.6
11:00	7.6
15:00 - amostra basal seguida por Bermacia VO	4.7
15:15	6.1
15:30	5.9
16:00	6.4
17:00	8.1
19:00	7.8
23:00 - amostra basal seguida por Bermacia VO	6.8
23:15	7.7
23:30	8.4
24:00	9.0
01:00	10.7
03:00	10.4
07:00 - amostra basal seguida por Bermacia VO	7.9
07:15	11.4
07:30	15.2
08:00	16.2
09:00	15.0
11:00	11.7
15:00 - última amostra	7.8

Vol. IV - C.S.

Idade - 26 anos
Mulher - Branca
Enfermeira
Peso - 50 kg
Altura - 167 cm

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	0.9
23:30	4.6
24:00	5.6
01:00	5.9
03:00	5.7
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	4.7
07:15	8.0
07:30	10.3
08:00	15.6
09:00	11.6
11:00	8.4
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	5.8
15:15	6.7
15:30	8.0
16:00	8.1
17:00	9.6
19:00	6.7
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	5.9
23:15	11.0
23:30	12.1
24:00	14.9
01:00	14.0
03:00	11.1
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	9.2
07:15	10.3
07:30	9.9
08:00	12.6
09:00	16.1
11:00	12.5
15:00 - última amostra	9.8

Vol. IV - C.S.

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
23:15	0.0
23:30	0.0
24:00	0.0
01:00	1.1
03:00	1.7
07:00	9.2
11:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	8.2
11:15	9.4
11:30	9.3
12:00	9.3
13:00	12.8
15:00	16.5
19:00	12.5
23:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	9.9
23:15	9.3
23:30	9.5
24:00	9.8
01:00	11.3
03:00	12.5
07:00	17.7
11:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	13.5
11:15	11.9
11:30	13.3
12:00	11.0
13:00	11.7
15:00	14.9
19:00	14.2
23:00	11.2
11:00	6.6

Vol. V - E.P.A.

Idade - 25 anos
 Mulher - Branca
 Enfermeira
 Peso - 55 kg
 Altura - 165 cm

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	7.9
23:30	7.8
24:00	7.4
01:00	6.3
03:00	5.3
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	4.8
07:15	12.5
07:30	13.2
08:00	11.5
09:00	9.8
11:00	9.3
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	6.4
15:15	7.5
15:30	9.8
16:00	10.3
17:00	10.7
19:00	9.3
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	7.5
23:15	7.3
23:30	8.1
24:00	10.5
01:00	10.8
03:00	10.2
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	9.0
07:15	9.6
07:30	10.9
08:00	23.0
09:00	17.2
11:00	15.0
15:00 - última amostra	11.9

Vol. V - E.P.A.

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
23:15	0.0
23:30	0.0
24:00	0.0
01:00	0.8
03:00	2.2
07:00	4.2
11:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	6.1
11:15	6.1
11:30	6.6
12:00	7.0
13:00	9.5
15:00	11.4
19:00	9.1
23:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	5.0
23:15	4.9
23:30	4.9
24:00	5.2
01:00	4.9
03:00	5.2
07:00	8.9
11:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	11.7
11:15	11.0
11:30	10.9
12:00	9.9
13:00	10.0
15:00	9.4
19:00	9.7
23:00	12.1
11:00 - última amostra	4.2

Vol. VI - R.A.M.

Idade - 29 anos
Homem - Branco
Técnico de Laboratório
Peso - 85 Kg
Altura - 179 cms

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
20:15	0.0
20:30	0.0
21:00	0.0
22:00	0.0
24:00	2.5
04:00	5.3
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	5.0
08:15	5.6
08:30	5.6
09:00	5.9
10:00	7.4
12:00	9.3
16:00	9.9
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	7.8
20:15	7.5
20:30	7.5
21:00	7.5
22:00	7.5
24:00	9.3
04:00	9.6
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	9.6
08:30	10.2
09:00	10.5
10:00	12.7
12:00	13.0
16:00	12.4
20:00 - última amostra.	9.9

Vol. VI - R.A.M.

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	1.9
23:30	2.7
24:00	2.9
01:00	3.3
03:00	3.8
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.1
07:15	3.7
07:30	4.2
08:00	10.1
09:00	8.6
11:00	7.5
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	*
15:15	*
15:30	*
16:00	*
17:00	*
19:00	*
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	*
23:15	*
23:30	*
24:00	*
01:00	*
03:00	*
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	*
07:15	*
07:30	*
08:00	*
09:00	*
11:00	*
15:00 - última amostra	*

* Amostra não coletada

Vol. VII - E.S.M.

Idade - 31 anos
 Homem - Branco
 Alfaiate
 Peso - 68 Kg
 Altura - 190 cms

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	
20:15	0
20:30	0
21:00	0
22:00	0
24:00	*
04:00	6.7
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	5.7
08:15	5.8
08:30	6.4
09:00	5.7
10:00	7.9
12:00	9.0
16:00	8.5
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	7.2
20:15	6.8
20:30	7.4
21:00	6.9
22:00	7.5
24:00	8.0
04:00	9.1
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	8.3
08:15	8.7
08:30	10.6
09:00	9.3
10:00	9.3
12:00	11.3
16:00	11.1
20:00 - última amostra.	9.5

* Amostra não coletada

Vol. VII - E.S.M.

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	4.1
23:30	5.5
24:00	5.6
01:00	5.8
03:00	4.8
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.9
07:15	6.6
07:30	10.6
08:00	12.6
09:00	10.1
11:00	8.5
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	6.1
15:15	7.6
15:30	10.3
16:00	10.5
17:00	9.4
19:00	8.3
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	6.6
23:15	*
23:30	*
24:00	*
01:00	*
03:00	4.4
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.7
07:15	*
07:30	*
08:00	*
09:00	*
11:00	*
15:00 - última amostra	

* Amostra não coletada

Vol. VIII - L.S.A.C.

Idade - 21 anos
 Homem - Branco
 Estudante de Medicina
 Peso - 60.4 Kg
 Altura - 178 cms

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
20:15	0.0
20:30	0.0
21:00	0.5
22:00	1.9
24:00	2.9
04:00	4.0
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	4.6
08:15	4.3
08:30	4.6
09:00	4.3
10:00	*
12:00	5.7
16:00	9.2
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	5.6
20:15	5.1
20:30	5.7
21:00	5.5
22:00	5.7
24:00	6.2
04:00	5.6
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	4.9
08:15	4.7
08:30	5.1
09:00	5.6
10:00	5.9
12:00	9.6
16:00	7.1
20:00 - última amostra.	5.2

* Amostra não coletada

Vol. VIII - L.S.A.C.

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	1.4
23:30	2.9
24:00	5.6
01:00	4.9
03:00	3.6
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	2.4
07:15	3.1
07:30	6.2
08:00	7.2
09:00	7.3
11:00	6.4
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.4
15:15	5.7
15:30	8.3
16:00	8.6
17:00	7.2
19:00	6.0
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.8
23:15	6.5
23:30	7.8
24:00	8.4
01:00	7.9
03:00	6.5
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	4.2
07:15	11.5
07:30	10.9
08:00	10.3
09:00	8.9
11:00	6.5
15:00 - última amostra	3.8

Vol. IX - A.T.M.

Idade - 45 anos
 Mulher - Branca
 Enfermeira
 Peso - 68 Kg
 Altura - 156 cms

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
20:15	0.0
20:30	0.0
21:00	0.0
22:00	0.0
24:00	2.0
04:00	5.8
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	10.0
08:15	9.6
08:30	9.5
09:00	9.3
10:00	9.8
12:00	11.6
16:00	15.1
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	11.5
20:15	10.6
20:30	10.4
21:00	10.7
22:00	9.9
24:00	12.5
04:00	17.1
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	14.5
08:15	13.2
08:30	12.8
09:00	12.7
10:00	15.2
12:00	17.1
16:00	17.1
20:00 - última amostra.	15.9

Vol. IX - A.T.M.

Bermacia 200 mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	1.6
23:30	5.6
24:00	6.7
01:00	6.5
03:00	6.3
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	4.7
07:15	13.5
07:30	13.8
08:00	13.3
09:00	12.1
11:00	10.6
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	7.8
15:15	8.1
15:30	9.8
16:00	12.0
17:00	13.0
19:00	13.0
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	9.7
23:15	15.2
23:30	17.1
24:00	16.4
01:00	15.2
03:00	13.5
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	11.6
07:15	21.0
07:30	19.4
08:00	19.9
09:00	17.7
11:00	14.8
15:00 - última amostra	11.1

Vol. X - M.N.V.

Idade - 21 anos
 Mulher - Branca
 Estudante de Medicina
 Peso - 78 kg
 Altura - 170 cm

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	1.7
23:30	5.1
24:00	5.4
01:00	4.4
03:00	3.8
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	2.7
07:15	10.7
07:30	9.3
08:00	8.2
09:00	8.6
11:00	6.1
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	6.0
15:15	6.0
15:30	6.4
16:00	7.3
17:00	7.6
19:00	6.9
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	5.7
23:15	8.2
23:30	8.9
24:00	8.9
01:00	8.6
03:00	7.7
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	5.6
07:15	6.7
07:30	9.2
08:00	10.6
09:00	9.5
11:00	8.4
15:00 - última amostra	6.3

Vol. X - M.N.V.

Teolong 300mg 12/12 h

Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal	0.0
20:15	*
20:30	*
21:00	*
22:00	*
24:00	*
04:00	*
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
08:15	0.0
08:30	0.0
09:00	0.3
10:00	1.1
12:00	2.8
16:00	4.6
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	3.7
20:15	3.6
20:30	3.4
21:00	3.3
22:00	3.6
24:00	4.8
04:00	6.1
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	6.1
08:15	5.9
08:30	6.0
09:00	6.5
10:00	7.5
12:00	10.6
16:00	8.7
20:00	7.0
08:00 - última amostra	3.4

* Amostra não coletada

Vol. XI - R.M.

Idade - 26 anos
 Homem - Branco
 Estudante de Medicina
 Peso - 60.7 kg
 Altura - 170 cm

Bermacia 200mg 8/8 h

Tempo	ug/ml
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	0.0
23:15	6.3
23:30	6.6
24:00	7.7
01:00	6.5
03:00	5.2
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	3.8
07:15	10.4
07:30	11.0
08:00	12.9
09:00	10.5
11:00	9.9
15:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	5.8
15:15	*
15:30	*
16:00	*
17:00	*
19:00	5.6
23:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	*
23:15	*
23:30	*
24:00	*
01:00	*
03:00	*
07:00 - amostra basal seguida por Teofilina VO	1.6
07:15	*
07:30	*
08:00	*
09:00	*
11:00	*
15:00 - última amostra	*

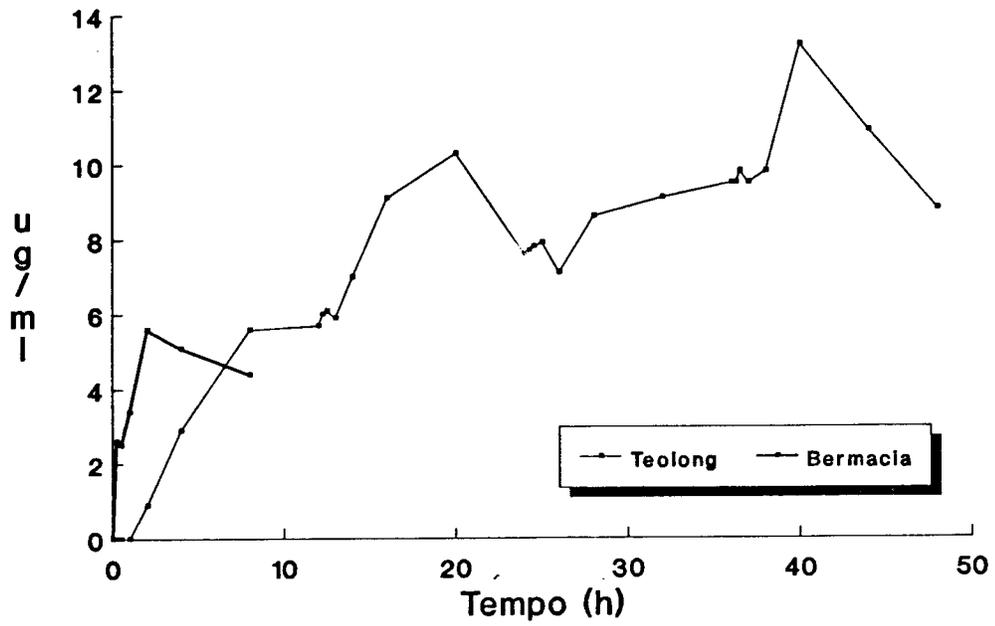
* Amostra não coletada

Vol. XI - R.M.

Teolong 300mg 12/12 h

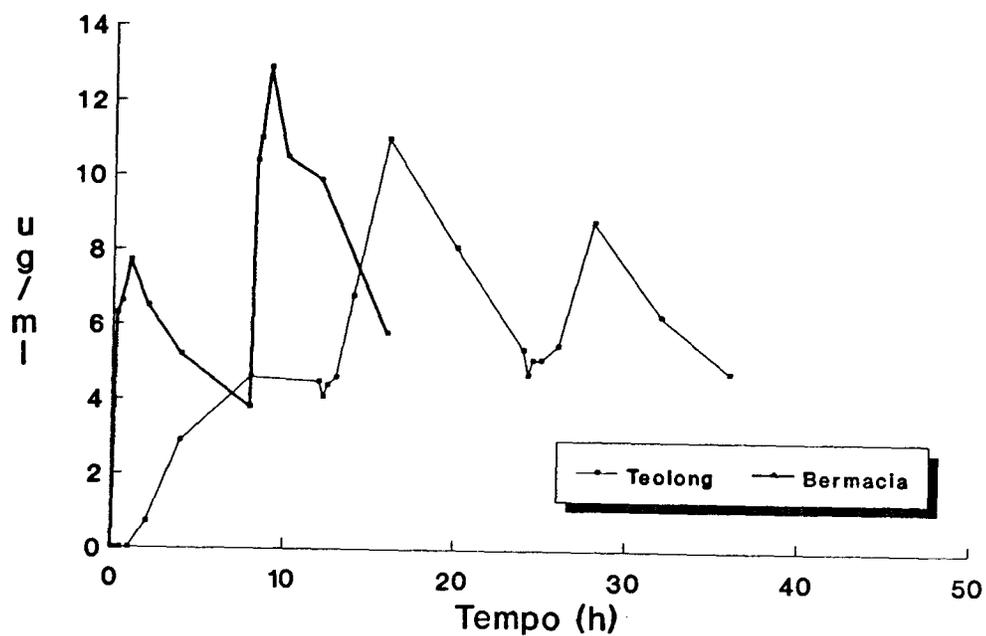
Tempo	ug/ml
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	0.0
20:15	0.0
20:30	0.0
21:00	0.0
22:00	1.1
24:00	6.5
04:00	6.3
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	5.2
08:15	6.0
08:30	6.6
09:00	7.6
10:00	8.2
12:00	9.0
16:00	8.1
20:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	7.2
20:15	6.9
20:30	6.5
21:00	6.6
22:00	6.7
24:00	9.7
04:00	10.2
08:00 - amostra basal seguida por Teolong VO	9.5
08:15	9.9
08:30	9.9
09:00	10.0
10:00	11.9
12:00	14.5
16:00	13.8
20:00	11.5
08:00 - última amostra	4.9

Vol. I - S.C.R.



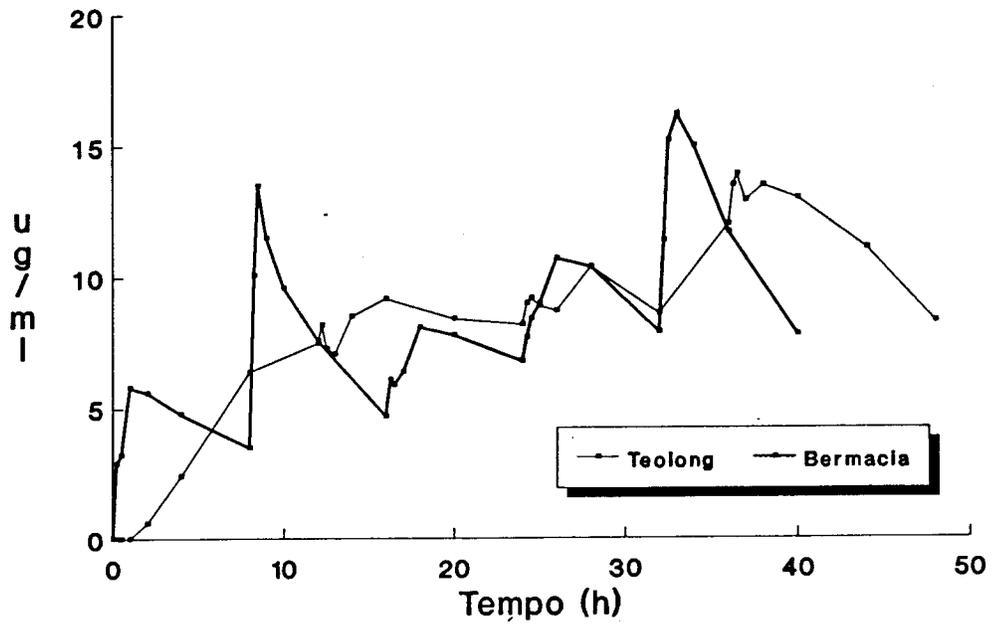
Vol. I - S.C.R.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	146.9	*
Cmax (ug/ml)	5.7	5.6
Tmax (h)	12	2

Vol. II - C.R.D.S.



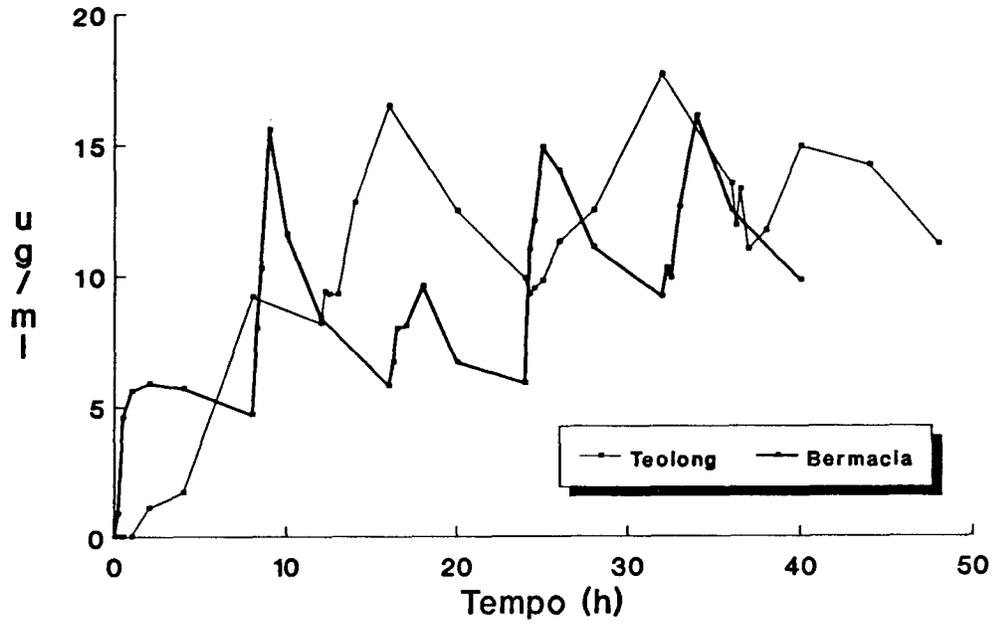
Vol. II - C.R.D.S.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	130.2	112.3
Cmax (ug/ml)	4.6	3.4
Tmax (h)	8	4

Vol. III - M.L.A.



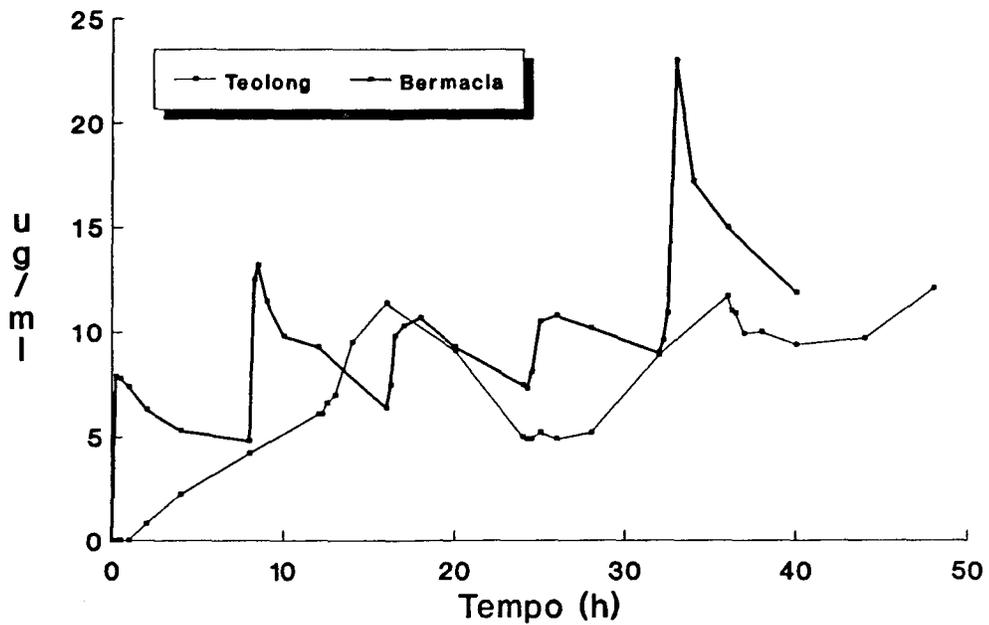
Vol. III - M.L.A.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	150.1	157.6
Cmax (ug/ml)	7.5	5.8
Tmax (h)	12	1

Vol. IV - C.S.



Vol. IV - C.S.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	212.2	171.6
Cmax (ug/ml)	9.2	5.9
Tmax (h)	8	2

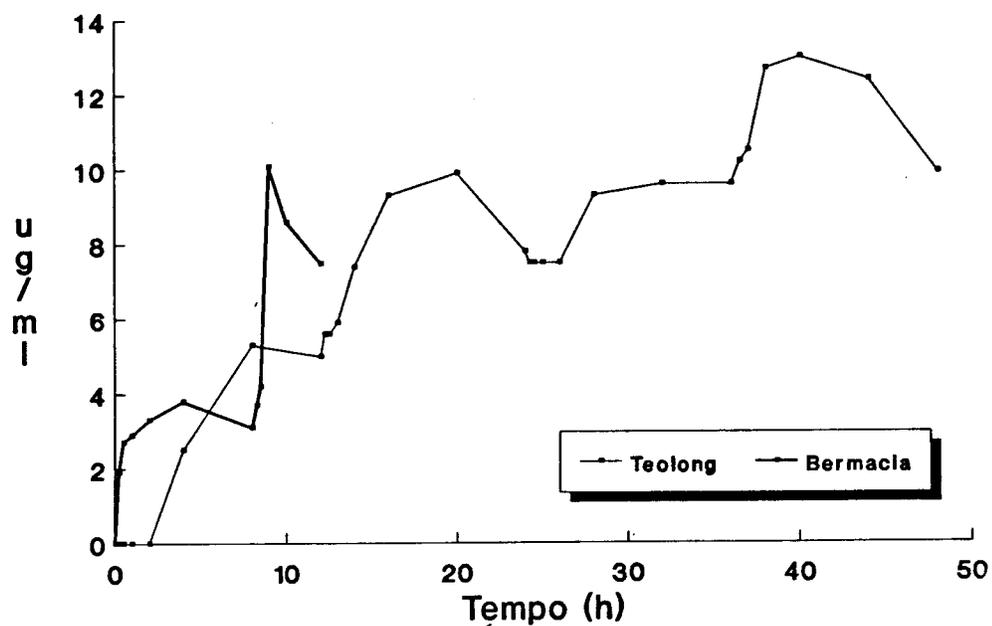
Vol. V - E.P.A.



Vol. V - E.P.A.

	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	141.6	191.1
Cmax (ug/ml)	6.1	7.9
Tmax (h)	12	0.25

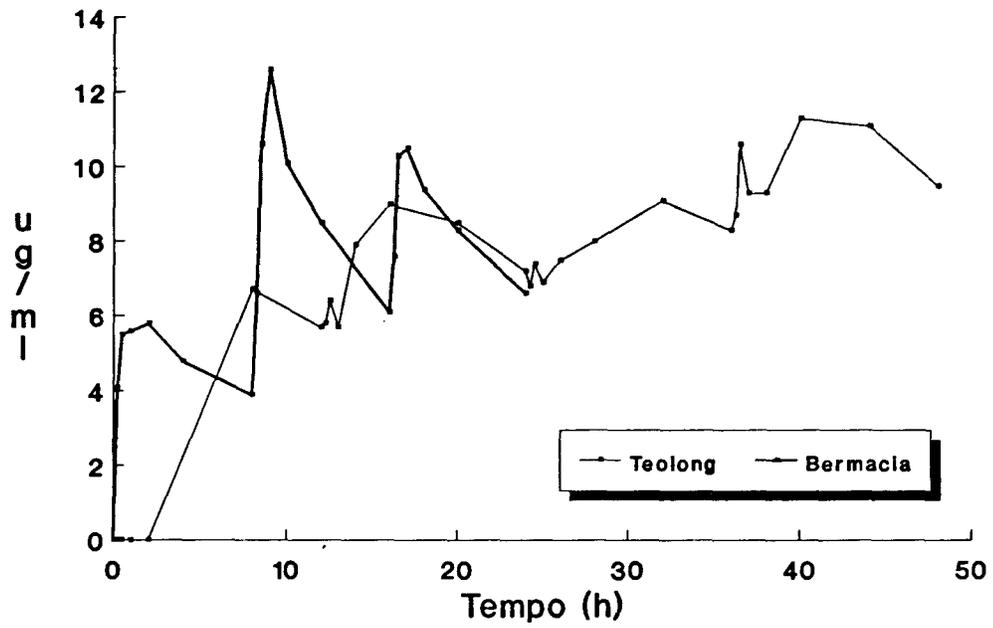
Vol. VI - R.A.M.



Vol. VI - R.A.M.

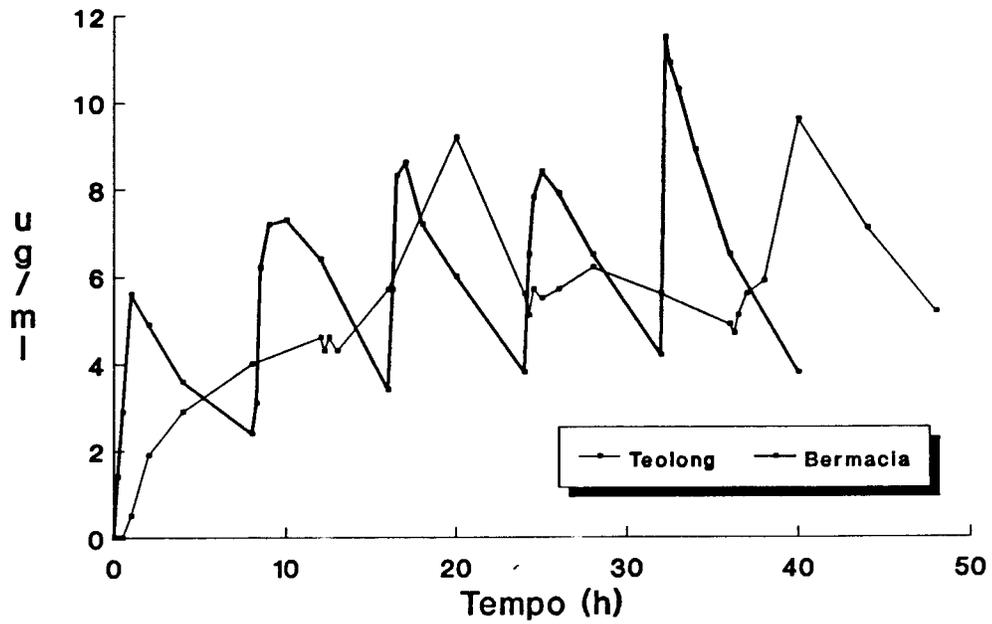
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	141.4	*
Cmax (ug/ml)	5.3	3.8
Tmax (h)	8	4

Vol. VII - E.S.M.



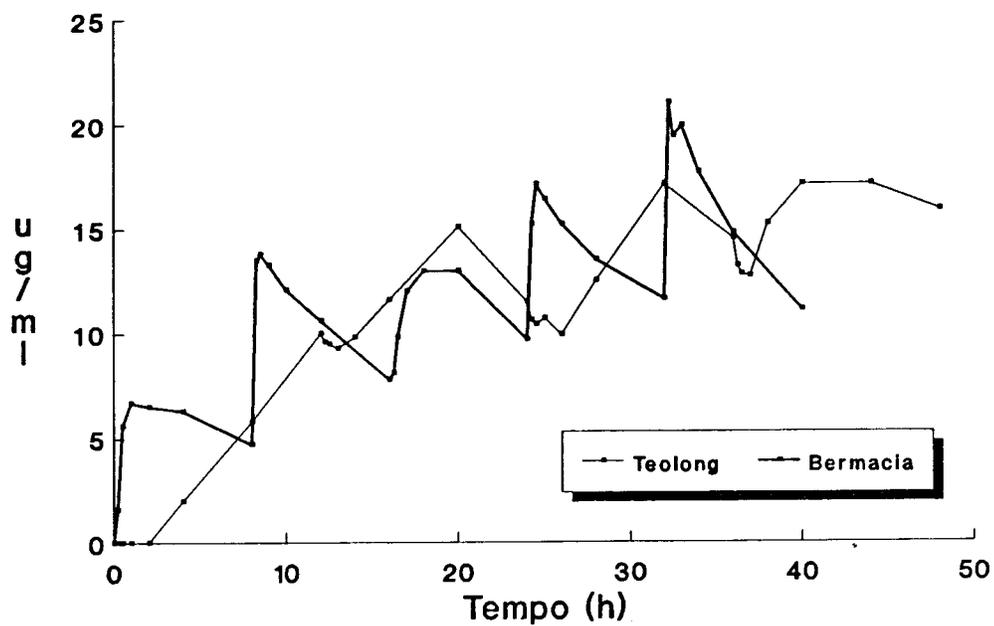
Vol. VII - E.S.M.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	140.9	173.2
Cmax (ug/ml)	6.7	5.8
Tmax (h)	8	2

Vol. VIII - L.S.A.C.



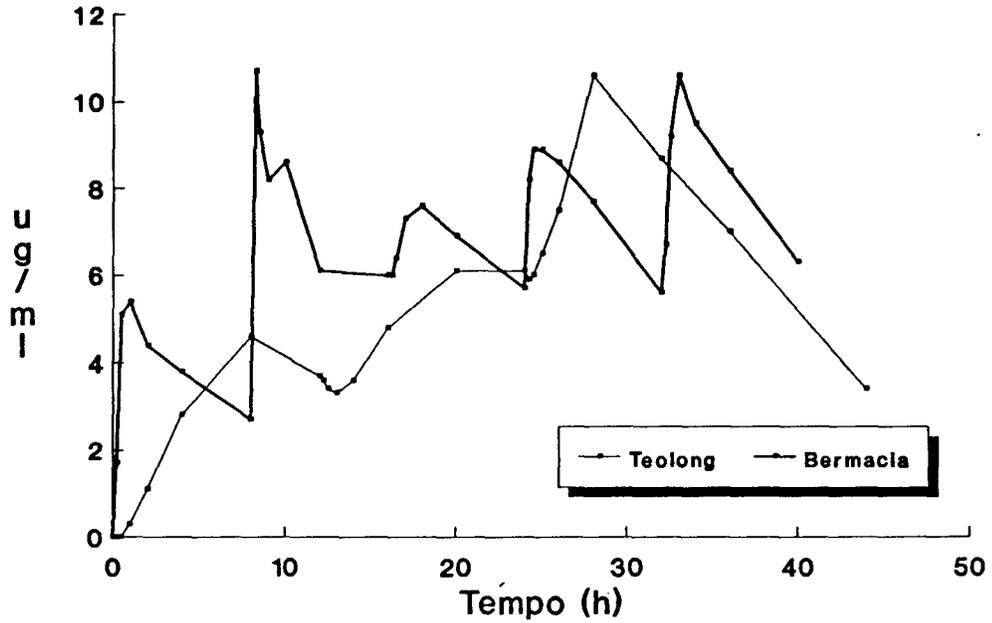
Vol. VIII - L.S.A.C.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	115.9	122.1
Cmax (ug/ml)	4.6	5.6
Tmax (h)	12	1

Vol. IX - A.T.M.



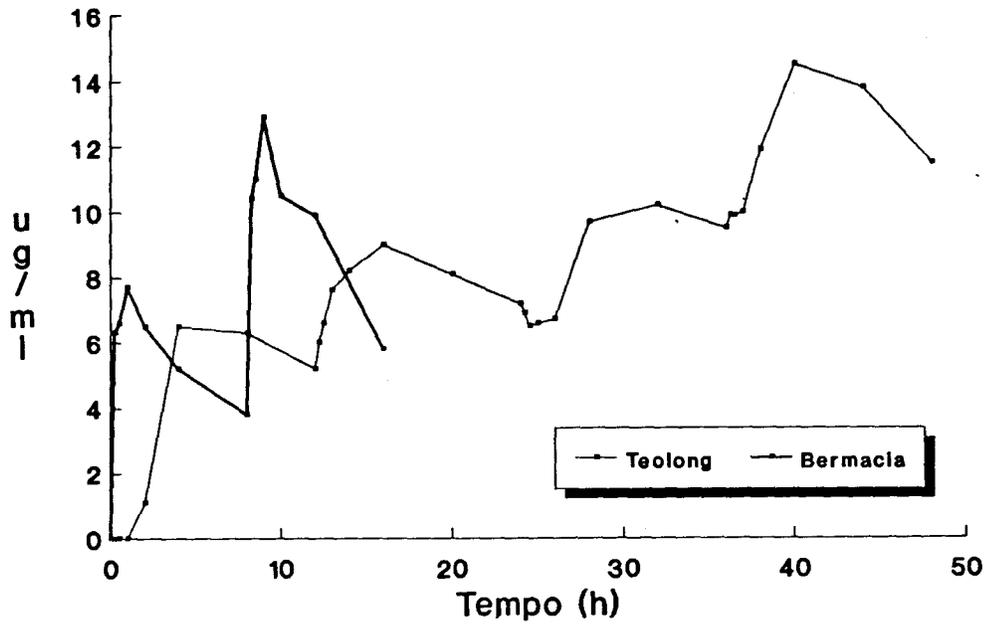
Vol. IX - A.T.M.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	196.2	223.8
Cmax (ug/ml)	10.0	6.7
Tmax (h)	12	1

Vol. X - M.N.V.



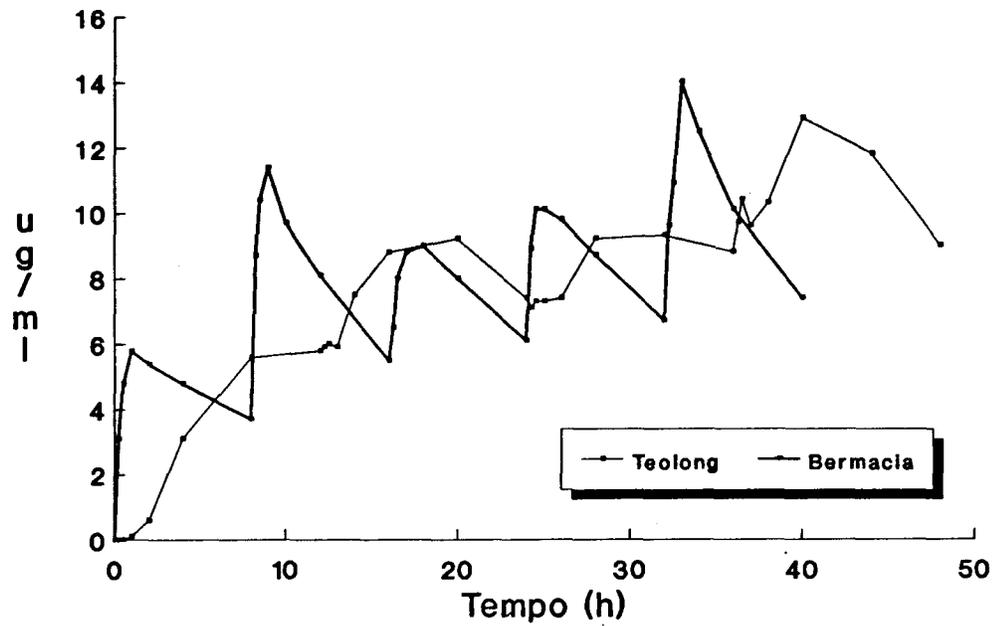
Vol. X - M.N.V.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	97.5	139.2
Cmax (ug/ml)	4.6	5.4
Tmax (h)	8	1

Vol. XI - R.M.



Vol. XI - R.M.		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	153.1	*
Cmax (ug/ml)	6.5	7.7
Tmax (h)	4	1

CONCENTRAÇÃO MÉDIA



CONCENTRAÇÃO MÉDIA		
	Teolong	Bermacia
AUC (0-24h)	147.9	161.39
Cmax (ug/ml)	6.44	5.8
Tmax (h)	9.45	1.53

4.3.5.4. Níveis Plasmáticos de Voluntários Adultos, sadios, peso entre 50 Kg e 92 Kg após ingestão de Xarope de Teofilina Bermácia, 30 ml, a cada 8 hs.

Tempo	média	erro padrão	desvio padrão	n
0	0	0	0	9
15 min.	3.1	0.8	2.5	9
30 min	4.8	0.6	2.0	9
1 h	5.8	0.5	1.6	9
2 hs	5.4	0.4	1.2	9
4 hs	4.8	0.3	1.0	9
8 hs	3.7	0.3	0.9	9
8:15 hs	8.8	1.2	3.7	9
8:30 hs	10.4	1.00	3.0	9
9 hs	11.4	0.9	2.6	9
10 hs	9.7	0.5	1.78	9
12 hs	8.1	0.6	1.7	9
16 hs	5.5	0.4	1.3	9
16:15 hs	6.5	0.4	1.2	8
16:30 hs	8.0	0.7	1.9	8
17 hs	8.8	0.8	2.2	8
18 hs	9.0	0.8	2.2	8
20 hs	8.0	0.8	2.3	8
24 hs	6.1	0.7	1.9	8
24:15 hs	8.9	1.2	3.1	7
24:30 hs	10.1	1.3	3.4	7
25 hs	10.1	1.0	2.5	6
26 hs	9.8	1.0	2.6	6
28 hs	8.6	0.9	2.2	6
32 hs	6.7	0.9	2.3	6
32:15 hs	9.7	0.8	1.9	6
32:30 hs	10.9	0.9	2.2	6
33 hs	14.0	2.0	4.9	6
34 hs	12.5	1.6	4.0	6
36 hs	10.0	1.4	3.6	6
40 hs	7.4	1.3	3.1	6

4.3.5.5. Níveis Plasmáticos após ingestão de Teolong 300 mg a cada 12 hs

Tempo	média	erro padrão	desvio padrão	n
0		0	0	10
15 min	0	0	0	10
30 min	0	0	0	10
1 h	0.1	0.1	0.2	10
2 hs	0.6	0.2	0.6	10
4 hs	3.1	0.5	1.4	8
8 hs	5.6	0.3	1.0	10
12 hs	5.8	0.6	1.8	10
12:15 hs	5.1	0.6	1.8	10
12:30 hs	6.0	0.5	1.7	10
13:00 hs	6.0	0.6	1.8	10
14:00 hs	7.4	0.6	1.7	9
16 hs	8.8	0.7	2.1	10
20 hs	9.2	0.7	2.4	10
24 hs	7.4	0.5	1.7	10
24:15 hs	7.1	0.6	1.8	10
24:30 hs	7.3	0.5	1.6	10
25 hs	7.2	0.5	1.6	10
26 hs	7.4	0.4	1.3	10
28 hs	9.2	0.5	1.7	10
32 hs	9.3	1.0	3.1	10
36 hs	8.9	0.9	3.0	10
36:15 hs	9.8	1.1	3.0	7
36:30 hs	10.3	0.9	2.6	8
37 hs	9.6	0.8	2.7	7
38 hs	10.3	1.0	2.6	7
40 hs	12.9	0.8	2.3	8
44 hs	11.8	1.0	2.8	8
48 hs	9.0	1.6	4.1	7

4.3.5.6. Concentração média nas primeiras 24 horas (AUC/24) :

	Teolong	Bermacia	média
1.	5.4	4.7	5.1
2.	6.3	6.6	6.5
3.	8.8	7.2	8.0
4.	5.9	8.0	6.9
5.	5.9	7.2	6.5
6.	4.8	5.1	5.0
7.	8.2	9.3	8.8
8.	4.1	5.8	4.9

4.3.5.7. Análise Estatística

Para a análise estatística comparou-se a AUC-24h de oito voluntários (vols. no. II, III, IV, V, VII, VIII, IX, X) os quais receberam ambas as formulações e tiveram amostras de sangue coletadas suficientes para a análise por HPLC.

Teolong vs Bermacia

Teste de Westlake (90% de intervalo de confiança)

95.1- 123.0%

Teste de Westlake (95% de intervalo de confiança)

91.6- 126.5%

Teste de Mandallaz & Mau (90% de intervalo de confiança)

95.4- 124.8%

Teste de Mandallaz & Mau (95% de intervalo de confiança)

Avaliação de Bioequivalência não paramétrica de Steinijs & Diletti sem considerar quaisquer efeitos de período

Média Geométrica dos índices individuais: 1.096647

90% de intervalo de confiança (Teolong vs Bermacia) = 95.2-127.6%

Ponto de estimativa (Teolong vs Bermacia) = 109.5%

Dois testes T monocaudais para os dados LN-transformados:

índice inferior- 0.8

índice superior- 1.2

$P(0.8 < r < 1.2) = 0.87590$

Equivalente para Rodda & Davis

Equivalente para Hauck & Anderson

4.3.5.8. Comentários

Considerando as orientações da FDA (Food & Drug Administration- U.S.A.) para estudos de bioequivalência, que citam que preparações que tenham até 20% de diferença em relação à formulação de referência para a AUC 0-24 hs devem ser consideradas bioequivalentes, os testes acima demonstram que o Teolong 300mg 12/12 hs é bioequivalente ao xarope Bermacia 200 mg 8/8 hs.

5. Discussão

5.1. A análise das amostras procedentes do Ambulatório de Pneumologia revelou alta porcentagem de pacientes com nível plasmático de teofilina abaixo da faixa terapêutica. Os seguintes fatores podem estar envolvidos:

a.idade: O clearance da teofilina diminui em pacientes idosos, gerando níveis plasmáticos mais altos. Portanto, os baixos níveis observados não podem ser explicados através desta variável.

b. horário de coleta: Como as coletas foram realizadas com os pacientes teoricamente em estado de equilíbrio, a variação do nível plasmático causada por esta variável é pequena, não justificando os resultados encontrados.

c.dose: Os pacientes receberam uma dose de teofilina em geral padrão (200mg 3x/dia), independente do peso corporal. A diferença entre o maior e o menor valor é da ordem de 2 vezes, portanto a oscilação do nível plasmático devida a padronização da dose também deve ser dessa ordem.

d. Tabagismo e fármacos associados: Tanto os tabagistas que consomem mais do que 10 cigarros por dia, como os usuários dos fármacos que influenciam o processo enzimático de metabolização da teofilina (vide pg. 11), têm a eliminação da mesma acelerada, em até 50%, com conseqüente menor meia vida. Este percentual pode explicar alguns dos pacientes com níveis plasmáticos entre 5 e 10 mg/l.

e.diferenças enzimáticas: como já foi visto, é possível que alguns pacientes tenham diferenças enzimáticas geneticamente determinadas que levam a uma metabolização mais rápida do fármaco. Porém é bastante improvável que o alto percentual de pacientes com baixo nível plasmático se explique dessa forma. Miller, analisando 79 indivíduos, encontrou quase igual frequência de alelos para metabolização rápida e lenta. Ou seja, o percentual de 85% de pacientes com nível plasmático abaixo da faixa terapêutica é demasiado alto para explicar-se por diferenças genéticas.

f. Absorção: a forma de apresentação (endovenosa, oral de liberação rápida, oral de liberação lenta) exerce um papel importante na biodisponibilidade e conseqüentemente nas medidas plasmáticas. O ensaio de bioequivalência (última amostra) esclarece que na fase do tratamento anterior ao estado de equilíbrio, a forma de apresentação torna-se importante. Portanto não se atribuem a forma de apresentação os baixos valores observados.

g. adesão: a não adesão do paciente à prescrição médica sempre deve ser considerada como de relevância, principalmente nas situações em que o medicamento tem de ser ingerido durante longos períodos de tempo e os sintomas para os quais foi prescrito não trazem risco imediato ou mesmo não estão presentes.

Foi incluída no questionário uma pergunta sobre a ingestão ou não do fármaco. Um pequeno percentual dos pacientes cujos níveis plasmáticos apresentaram-se abaixo da

faixa terapêutica afirmou não ter ingerido o fármaco regularmente, e os demais afirmaram tomar o fármaco conforme a prescrição médica. Tal fato mostrou-nos a necessidade de uma supervisão de um membro da equipe quanto a ingestão do fármaco no horário e dose corretos, quando necessitamos ter certeza da ingestão do fármaco.

Analisamos a seguir as amostras coletadas sob diferentes condições para auxiliar na determinação da importância que cada um dos fatores acima teve na dosagem plasmática:

5.2. Amostras procedentes de Enfermaria de Pneumologia

5.2.1. Via endovenosa

Estas foram constituídas por pacientes adultos, com quadro agudo de asma ou DPOC, que estavam em tratamento durante no mínimo 3 dias (tempo necessário para que o nível plasmático de teofilina atinja o "estado de equilíbrio" (steady-state). As principais diferenças em relação ao grupo anterior foram a via de administração, a certeza de aderência e uma faixa de variação de tempo entre coleta da amostra e última dose ingerida conhecida (entre uma e três horas). Tais diferenças levaram a um percentual bem maior de pacientes na faixa terapêutica.

5.2.2 Via oral

Ainda que tenha sido pequeno o número de pacientes de enfermaria com medicação via oral analisado (5), seus níveis plasmáticos indicam uma diferença significativa entre pacientes de ambulatório e enfermaria que receberam o medicamento por via oral. O grupo de ambulatório apresenta 37.5% dos pacientes entre 5 e 20 ug/ml e 62.5% entre 0 e 5 ug/ml e o de enfermaria, 80% e 20% respectivamente. Como os pacientes de ambos os grupos estão em estado de equilíbrio, a aderência parece ser o fator determinante de tal diferença.

5.3. Ambulatório de Alergia e Imunologia Infantil

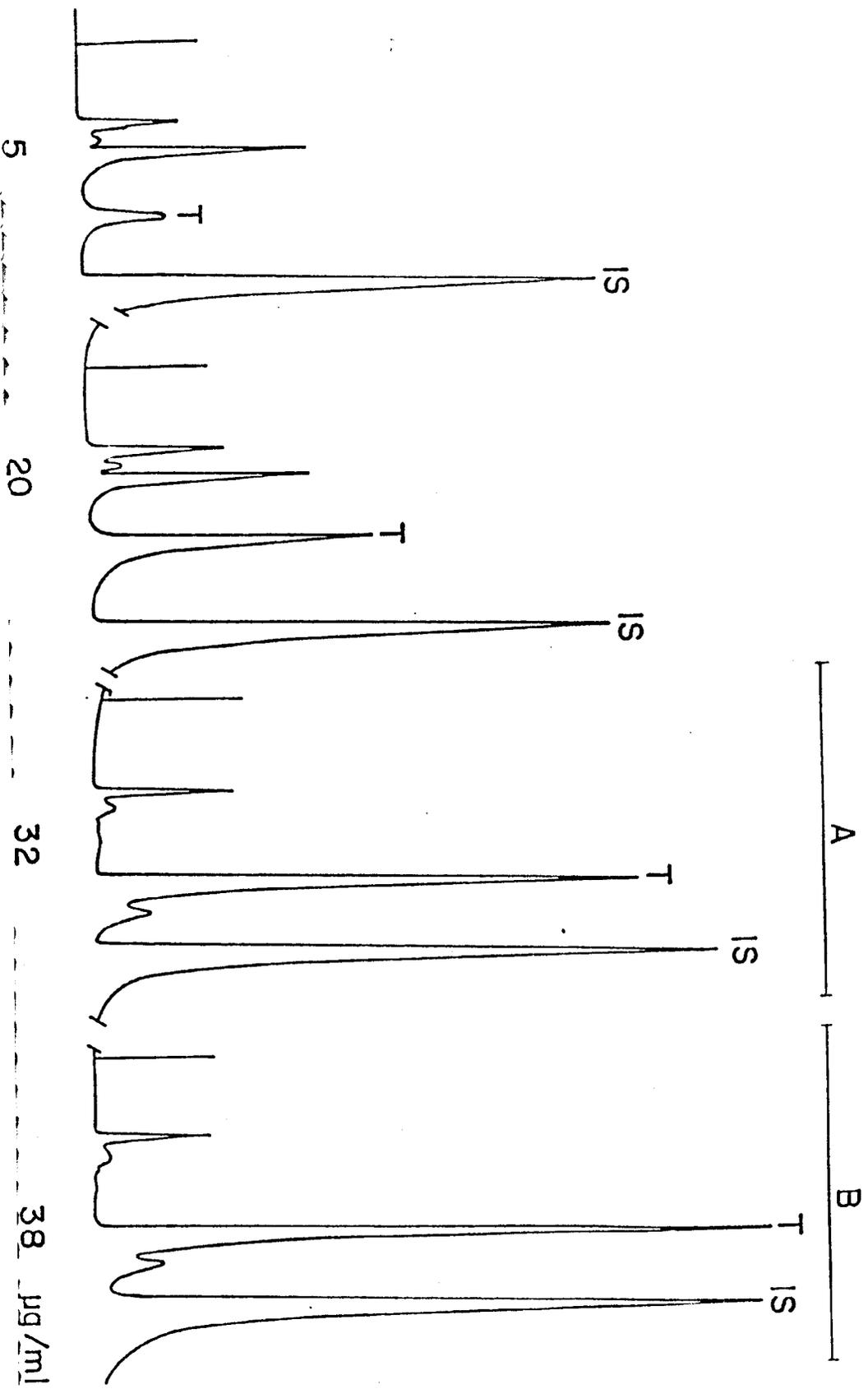
Finalmente, ao analisarmos o grupo de pacientes deste ambulatório, constatamos o mais elevado percentual de pacientes cujos níveis plasmáticos se encontram na faixa terapêutica. As diferenças entre este grupo de pacientes em relação aos demais consistem na faixa etária e no controle mais rigoroso de ingestão e coleta da amostra após 2 horas da ingestão do fármaco.

Estas amostras formam um subgrupo de um total de 30 análises. O controle por parte de um clínico na ingestão do fármaco e no horário de coleta deveu-se a uma suspeita de não ingestão do fármaco por ocasião da primeira bateria de análises, na qual todos os 6 pacientes tiveram níveis plasmáticos abaixo de 5ug/ml, indicativos de não aderência ao tratamento.

Observamos ainda a existência de um paciente do ambulatório de enfermaria que recebeu o medicamento por via E.V. com nível plasmático acima da faixa terapêutica, e um paciente do Ambulatório de Alergia, Imunologia e Pneumologia Infantil (Figura 6),

Cromatograma de Teofilina de um Paciente Intoxicado

FIG. 6



o que ressalta a importância da ampliação do conhecimento das diferenças enzimáticas e capacidade de metabolização de fármacos em geral na nossa população e, como consequência, a individualização da dose de teofilina em algumas circunstâncias.

5.4. Voluntários da Enfermaria de Farmacologia Clínica

Complementaram-se estes resultados através do ensaio clínico em um grupo de voluntários adultos e saudáveis, com fatores ambientais, ingestão de medicamentos, efeitos colaterais, etc., controlados.

Este grupo inicialmente constituído por 11 voluntários, teve 3 voluntários com intercorrências em uma das fases, o que obrigou-os a interrupção do ensaio.

Portanto, para efeito de análise e comparação farmacocinética, foram aproveitados os dados de 8 voluntários.

Estes demonstraram que ao longo de um período inicial de 24 horas há diferenças significativas de níveis plasmáticos entre as apresentações usual e lenta.

Indicam de forma clara, por exemplo, que para um paciente com os sintomas de asma já desencadeados, a forma de liberação lenta não é indicada, visto que a T_{max} é muito maior.

Porem a bioequivalência ao final das 24 horas, avaliada através da área sob a curva, mostrou-se igual para ambas as formas dos medicamentos (liberação usual e lenta), o que as iguala nos pacientes em "estado de equilíbrio" (após 5 meia-vidas).

Do grupo de 11 pacientes escolhidos ao acaso na população, cujos pré-requisitos foram somente bom estado de saúde, idade adulta, não serem tabagistas, todos apresentaram níveis plasmáticos na faixa terapêutica ou próximos a mesma.

Portanto, pelo menos em relação aqueles pacientes com níveis plasmáticos muito próximos de zero, a razão deve ser a não aderência ao tratamento. Os motivos desta não aderência possivelmente sejam os citados acima: longo tempo de tratamento, remissão parcial do quadro sintomático.

Tivemos oportunidade de comparar também através de HPLC, no mesmo período de tempo, uma amostra de 191 pacientes do ambulatório de Neurologia da UNICAMP que faziam uso de um ou mais dos seguintes anticonvulsivantes: Fenobarbital, Fenitoína, Carbamazepina (Hofstatter & De Nucci, 1990). Constatamos que a aderência ao tratamento é significativamente maior, o que talvez se explique pela maior motivação que os pacientes apresentam, gerada pelo receio de que uma crise venha a desencadear-se, mesmo que o estado geral seja aparentemente normal.

Quanto a diferença de biodisponibilidade encontrada entre os pacientes 4 (maior valor) e 10 (menor valor), da ordem de 2.2 vezes, para o Teolong, e entre os paciente 9 (maior valor) e 2 (menor valor), da ordem de 2 vezes, para o xarope Bermacia, sua interpretação deve ser cuidadosa. É possível atribuir tais números a uma diferença enzimática geneticamente determinada. Miller et al. (1985) encontraram uma variação interindividual, numa amostra de dez indivíduos, da ordem de duas vezes, o que está de

acordo com nossos números. Porém a amostra de voluntários é pequena para uma avaliação definitiva neste sentido. É necessário acumular ao longo de vários experimentos desta natureza um número de pacientes suficiente para representar satisfatoriamente uma população. A propósito, o custo de cada voluntário submetido a análise neste tipo de experimento, por ser bastante alto condiciona o tamanho da amostra.

5.5. Metodologia da Dosagem de HPLC

Como foi visto, dosaram-se as amostras através de duas técnicas de HPLC. A primeira destas mostrou-se adaptável para dosagem de cafeína, a qual é utilizada em alguns casos de apnéias de recém nascidos. Por ser de faixa terapêutica estreita, também deve ser monitorizada naqueles casos onde o risco de intoxicação aumenta.

A segunda técnica foi desenvolvida para permitir que, num mesmo conjunto cromatográfico e com a troca apenas da fase móvel e do comprimento de onda fosse possível a dosagem de anticonvulsivantes (Fenobarbital, Difenilhidantoína, Carbamazepina).

Segundo o controle de qualidade desenvolvido pelo Laboratório Centrale Analisi-Policlinico Careggi, Florença, Itália, que recebe amostras para comparação de aproximadamente 200 laboratórios do mercado comum europeu, outro método de dosagem muito utilizado no momento e o imunológico. Além do controle acima, o método foi submetido ao controle do laboratório BIORAD, que se fez a cada bateria de análises.

Oito amostras foram submetidas a análise também no laboratório Fleury (S.P.). Os resultados (pg. 34) mostram alta correlação entre os métodos.

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é considerada método de referência para dosagem de teofilina, e mostrou-se acessível para instituições hospitalares, com um custo por amostra relativamente baixo, tornando possível implantar um serviço de farmacologia clínica com monitorização de fármacos, o que já constitui rotina em muitos hospitais do hemisfério norte. Dentre o grande número de técnicas de dosagem de teofilina através de HPLC descritos na literatura foram escolhidas duas que se mostraram compatíveis com os serviços de rotina do HC da UNICAMP e da Unidade de Farmacologia Clínica.

Quanto aos objetivos propostos no capítulo introdutório, julgamos terem sido atingidos em sua essência, ou seja, embora as amostras não tenham permitido uma tipificação genética populacional, forneceram-nos um esboço inicial. Quanto a viabilidade e sensibilidade do método, o resultado também foi bastante promissor. Além disso, fomos aprimorando e detectando, ao longo das coletas de amostras e análises, os aspectos mais relevantes concernentes a fase de coleta das amostras (horários, supervisão da ingestão, etc) e a fase laboratorial (extração da amostra, cuidados com fase móvel, etc). O trabalho fornece portanto bons subsídios para análises futuras que venham realizar-se.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adebayo, G.I. (1988). Interaction between phenytoin and theophylline in healthy volunteers. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 15: 883-887

Atuk, N.O., Blaydes, M.C., Westervelt, F.B. and Wood, J.E. (1967). Effect of Aminophylline on Urinary Excretion of Epinefrine and Norepinephrine in Man. *Circulation* 35: 745-753

Bertelli, A., Bianchi, C. and Beani, L. (1973). Interaction between B-adrenergic stimulant and phosphodiesterase inhibiting drugs on the bronchial muscle. *Experientia* 29: 300-302

Bessler, H., Sirota, L., Gilgol, R., Dulitzky, F. and Djaldetti, M. (1988). In vivo and in vitro effects of Theophylline on the peripheral blood mononuclear cells from preterm infants. *Biol. Neonate* 54: 73-78

Birkett, D.J., Miners, J.O. and Attwood, J. (1983). Evidence for a dual action of sulphinpyrazone on drug metabolism in man. Theophylline-sulphinpyrazone interaction. *Brit. J. Clin. Pharmacol.* 15: 567-569

Bonatti, M.R., Latini, G., Marra, B.M. and Parini, R. (1981). Theophylline metabolism during the first month life and development. *Pediatr. Res* 15: 304-308

Brodie, B.B., Axelrod, J. and Reichenthal, J. (1952). Metabolism of theophylline in man. *J. Biol. Chem.* 194: 215-222

Butcher, R. W. and Sutherland, E.W. (1962). Adenosine 3,5-Phosphate in biological materials. *J. Biol. Chem.* 237: 1244-1250

Cornish, J.J. and Christman, A.A. (1957). The metabolism of theobromine, theophylline and caffeine in man. *J. Biol. Chem.* 228: 315-328

Cummins, L.H., Kozak, P.P. and Gilman, S.A. (1976): Theophylline determinations. *Ann. Allergy* 37: 450-451

Davis, R.L., Kelly, H.W., Quenzer, R.W., Standefer, J., Steinberg, B., Gallegos, J.(1989): Effect of Norfloxacin on theophylline metabolism. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33:212-214

Gin, A.S., Stringer, K.A., Welage, L.S., Wilton, J.H. and Mathews, G.E. (1989). The effect of verapamil on the pharmacokinetic disposition of theophylline in cigarette smokers. *J. Clin. Pharmacol.* 29: 728-732

Grygiel, J.J., Wing, L.M.H., Farkas, J. and Birkett, D.J. (1979). Effects of allopurinol on theophylline metabolism and clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 26: 660-667

Grygiel, J.J. and Birkett, D.J. (1980). Effect of age on patterns of theophylline metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 28: 456-462

Grygiel, J.J. and Birkett, D.J. (1981). Cigarette smoking and theophylline clearance and metabolism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 30: 491-496

Gutfeld, M.B., Welage, L.S., Walawander, C.A., Wilton, J.H. and Harrison, N.J. (1989). The influence of intravenous cimetidine dosage regimens on the disposition of theophylline. *J. Clin. Pharmacol.* 29: 665-669

Hauser, A.R., Lee, C., Teague, R.B. and Mullins, C. (1983): The effect of rifampicin on theophylline disposition. *Clin. Pharmacol. Ther.* 33: 254 C-9

Hendeles, L., Weinberger, M. and Bighley, L. (1978): Disposition of theophylline after a single intravenous infusion of aminophylline. *Am. Rev. Resp. Dis.* 118: 97-103

Hendeles, L. and Weinberger, M. (1983): Theophylline, A "state of the Art" Review. *Pharmacotherapy* 3:2-44

Herrmann, G.R., Aynesworth, M.B. and Martin, J. (1937). Successful treatment of persistent extreme dyspnea."status asthmaticus"- use of theophylline ethylene diamine (aminophylline USP) intravenously. *Lab. Clin Med.* 23: 135-148

Hirsh, S. (1922). Klinischer und Experimenteller Beitrag zur Kramnosender Wirkung der Purinderivate. *Wochenschr.* 1: 615-618

Hofstatter, E., De Nucci, G. (1990). Dosagem de Fenobarbital, Difenilhidantoina, Carbamazepina por cromatografia liquida de alta pressã, Anais da V Reunião anual da Federação das Sociedades de Biologia Experimental, Caxambu, MG

Jackson, J.E., Powell, J.R., Wandell, M., Bentley, J. and Dorr, R. (1980). Cimetidine-Theophylline interaction. *Pharmacologist* 22: 231

Jackson, J.E., Powell, J.R., Wandell, M., Bentley, J. and Dorr, R. (1981). Cimetidine decreases theophylline clearance. *Am. Rev. Resp. Dis.* 123: 615-617

Jenne, J.W., Wyze, E., Rood, F.S. and Macdonald, F.M. (1972). Pharmacokinetics of theophylline. *Clin. Pharmacol. Ther.* 3: 349-360

Jenne, J.W., Nagasawa, H.T. and Thompson, R.D. (1976). Relationship of urinary metabolites of theophylline to serum levels of theophylline. *Clin. Pharmacol. Ther.* 19: 375-381

Jonkman, J.H.G., Tang, D., Upton, R.A. and Riegelman, S. (1981). Measurement of excretion characteristics of theophylline and its major metabolites. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 20: 435-441

Jonkman, J.H.G. and Upton, R.A. (1984). Pharmacokinetic drug interactions with theophylline. *Clin. Pharmacok.* 9: 309-334

Jonkman, J.H.G., van der Boon, W.J.V. and de Noord, O.E. (1984). Chronopharmacokinetics of theophylline after sustained release and intravenous administration to adults. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 26: 215-222

Jonkman, J.H.G., Borgstrom, L., van der Boon, W.J.V. and de Noord, O.E. (1988). Theophylline-terbutaline, a steady state study on possible pharmacokinetic interactions with special reference to chronopharmacokinetic aspects. *Br.J.Clin.Pharmacol.* 26: 285-293

Jusko, W. J., Gardner, M.J., Mangione, A., Schentag, J.J., Koup, J.R. and Vance, J.W.(1979). Factors affecting theophylline clearances: age, tobacco, marijuana, cirrhosis, congestive heart failure, obesity, oral contraceptives, benzodiazepines, barbiturates and ethanol. *J. Pharmac. Scien.* 68:1358-1366

Kordash, T.R., van Dellen, R.G. and McCall, J.T.(1977). Theophylline concentrations in asthmatics patients. *JAMA* 238: 139-141

Landay, R.A., Gonzalez, M.A. and Taylor, J.C. (1978). Effect of phenobarbital on theophylline disposition. *J. Allergy Clin. Immunol.* 62: 27-29

Lohman, S.M. and Miech, R.P. (1976). Theophylline metabolism by the rat liver microsomal system. *J. Pharmac. Exp. Ther.* 196: 213-225

Manfredi, R.L. and Vesell, E.S. (1981). Inhibition of theophylline metabolism by long-term allopurinol administration. *Clin. Pharmacol. Ther.* 29: 224-229

Marquis, J.F., Carruthers, S.G., Spence, J.D., Brownstone, Y.S. and Toogood, J.H. (1982). Phenytoin-theophylline interaction. *N. Engl. J. Med.* 307: 1189-1190

Miller, C.A., Slusher, L.B. and Vesell, E.S. (1985). Polymorphism of Theophylline Metabolism in Man. *J. Clin. Invest.* 75:1415-1425

Miller, M.E., Oosgriff, J.M., Morken, D. and Kwong, T. (1983). The effect of dilantin on theophylline elimination. *Clin. Res.* 31:104A

Miller, M., Opheim, K.E., Raisys, V.A. and Motulsky, A.G. (1984). Theophylline metabolism: Variation and genetics. *Clin. Pharmacol. Ther.* 35:170-182

Nafziger, A.N., May, J.J. and Bertino, J.S. (1987). Inhibition of theophylline elimination by diltiazem therapy. *J.Clin. Pharmacol.* 27:862-865

Nicholson, D.P. and Chick, T.W. (1973). A reevaluation of parenteral aminophylline. *Am. Rev. Respir. Dis.* 108:241-247

Nielson, C.P., Crowley, J.J., Cusack, B.J. and Vestal, R.E. (1986). Therapeutic concentrations of theophylline and enprofylline potentiate catecholamine effects and inhibit leukocyte activation. *J.Allergy Clin.Immunol.* 78: 660-667

Nielson, C.P., Crowley, J.J., Morgan, M.E. and Vestal, R.E. (1988). Polymorphonuclear leukocyte inhibition by therapeutic concentrations of theophylline is mediated by cyclic-3',5'- adenosine monophosphate. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137(1):25-30

Ogilvie, R.I. (1978). Clinical pharmacokinetics of theophylline. *Clin. Pharmacokinet.* 3: 267-293

Ou, C.N. and Frawley, V.L. (1982). Theophylline, dyphylline, caffeine, salicylate, acetylsalicylate, procainamide e N-acetylprocainamide determined in serum with a single liquid-chromatografic assay. *Clin. Chem.* 28/10: 2157-2160

Penno, M.B. and Vesell, E.S. (1983). Monogenic control of variations in antipyrine metabolite formation. *J. Clin. Invest.* 71: 1698-1709

Pfeifer, H.J., Greenblatt, D.J. and Friedman, P.(1978). Effects of antibiotics on theophylline kinetics in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 23: 124-125

Piafsky, K.M., Sitar, D.S., Ragno, R.E. and Ogilvie, R.I. (1977). Theophylline kinetics in acute pulmonary edema. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1:310-317

Rall, T.W. (1982). Evolution of the mechanism of action of methylxanthines: from calcium mobilizers to antagonists of adenosine receptors. *Pharmacologist.* 24: 277-287

Reed, R.C. and Schwartz, H.J. (1983). Phenytoin-theophylline-quinidine interaction. *N. Engl. J. Med.* 308: 724-725

Reitberg, D.P., Bernhardt, H. and Schentag, J.J. (1981). Alteration of theophylline clearance and half-life by cimetidine in normal volunteers. *Ann. Int. Med.* 92: 582-585

Riegelman, S., Muir, K. and Upton, R. (1980). Factors affecting the pharmacokinetics of theophylline. *Eur. J. Respir. Dis.* 61 (109): 67-82

Rosenberry, K.R., Defusco, C.J., Mansmann, H.C. and Geady, S.J. (1983). Reduced theophylline half-life induced by carbamazepine therapy. *J. Pediatr.* 102: 472-474

Sano, M., Kawakatsu, K., Ohkita, C., Yamamoto, I., Takeyama, M., Yamashina, H. and Goto, M. (1988). Effects of enoxacin, ofloxacin and norfloxacin on theophylline disposition in humans. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 35:161-165

Schultze-Werninghaus, G. and Meier-Sydow (1982). The clinical and pharmacological history of theophylline: first report on the bronchospasmolytic action in man by S.R.Hirsch in Frankfurt(Main)1922. *Clin. Allergy* 12: 211-215

Stults, B.M., Johnson, J.F., Higbee, M.D. and Hardigan, K. (1983). Effect of erythromycin stearate on serum theophylline concentrations in patients with chronic obstructive lung disease. *South. Med. J.* 76:714-718

Tang-Liu, D.D.S., Williams, R.L. and Riegelman, S. (1982). Nonlinear theophylline elimination. *Clin. Pharmacol. Ther.* 31: 358-369

Teunissen, M. (1984). Factors and Conditions Affecting Antipyrine Clearance and Metabolic Formation, Ph.D. Thesis, University of Leiden, Holland. 1-215

Thompson, J.R., Burckart, G.J., Self, T.H., Brown, R.E. and Straughn, A.B. (1982). Isoniazid-induced alterations in theophylline pharmacokinetics. *Curr. Therap. Res.* 32: 921-925

Toback, J.W. and Gilman, M.E. (1983). Theophylline-Furosemide inactivation? *Pediatrics* 71: 140-141

Tornatore, K.M., Kanarkowsky, R., McCarthy, T.L., Gardner, M.J., Yurchak, A.M. and Jusko, W.J. (1982). Effect of chronic oral contraceptive steroids on theophylline disposition. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 23: 129-134

Tserng, K.Y., King, K.C. and Takiedinne, F.N. (1981). Theophylline metabolism in premature infants. *Clin. Pharmacol. Ther.* 29: 594-600

Tserng, K.Y., Takiedinne, F.N. and King, K.C. (1983). Developmental aspects of theophylline metabolism in premature infants. *Clin. Pharmacol. Ther.* 33: 522-528

Vesell, E.S. (1986). Polymorphisms of antipyrine and theophylline metabolism in man: molecular and clinical implications. *Xenobiotica* 16: 401-420.

Weidner, N., Dietzler, D.N., Laderson, J.H., Kessler, G., Larson, L., Smith, G.H., James, T. and Macdonald, J.M. (1980). A clinically applicable high-pressure liquid chromatographic method for measurement of serum theophylline with detailed evaluation of interferences. *A.J.C.P.* 73: 79-86

Weinberger, M., Hudgel, D., Spector, S. and Chidsey, C.(1976). Troleandomicin: an inhibitor of theophylline metabolism. *J. Allergy Clin. Immun.* 57: 262

Weinberger, M., Hudgel, D., Spector, S. and Chidsey, C.(1977). Inhibition of theophylline clearance by troleandomycin. *J. Allergy Clin. Immun.* 59: 228-231

Wolfe, J.D., Tashkin, D.P., Calvarese, B. and Simons, M. (1978). Bronchodilator effects of terbutaline alone and in combination in asthmatic patients. *New Engl. J. Med.* 298: 363-367

Livros

Guimarães, L.F.L., Collins, C.H.(1988)
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em "Introdução a Métodos Cromatográficos", Editora da Unicamp(Campinas) 177-243

Leone,N.(1989)

IL LABORATORIO DI FARMACOLOGIA E TOSSICOLOGIA CLINICA
CG Ed.Med Scient.(Torino) 26, 519-520

Ziment, I..(1978)

Respiratory Pharmacology and Therapeutics
W.B. Saunders Company (Philadelphia), 188-216

Vol. I - S.C.R.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	33	38
Creatinina (mg%)	1.0	0.75
TGO(U/l)	9	8
TGP (U/l)	7	6
Glicemia (mg%)	86	84
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.3	0.3
Indireta	0.3	0.3
Total	0.6	0.6
GB x 10 ³	8.4	7.7
GV x 10 ³	5.36	5.34
Hgb g/dL	16.1	15.9
Hct %	49.3	47.9
VCM	92	89.7
HCM	30.1	29.8
CHCM g/dL	32.7	33.2
Plaquetas 10 ³	288	282
Contagem Específica		
Segmentados	2	3
Neutrófilos	70	68
Eosinófilos	4	2
Basófilos	0	0
Linfócitos	19	25
Monócitos	5	2
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1025	1030
pH	5	5
Hemácias	500	500
Leucócitos	1,000	1,000
Bactérias	raros	raros
Células epiteliais	raros	raros

Vol. II - C.R.D.T.S.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	35	31
Creatinina (mg%)	0.9	1.00
TGO (U/l)	11	12
TGP (U/l)	16	21
Glicemia (mg%)	70	78
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.2	0.2
Indireta	0.7	0.5
Total	0.9	0.7
GB x 10 ³	6.0	6.3
GV x 10 ³	5.57	5.37
Hgb g/dL	16.3	15.3
Hct %	51.6	48.3
VCM	92.7	90.0
HCM	29.3	28.5
CHCM g/dL	31.6	31.6
Plaquetas 10 ³	16	209
Contagem Específica		
Segmentados	0	3
Neutrófilos	32	68
Eosinófilos	0	2
Basófilos	0	0
Linfócitos	63	25
Monócitos	4	2
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1025	1030
pH	5.5	5.0
Hemácias	1,500	1,000
Leucócitos	500	1,500
Bactérias	raros	raros
Células Epiteliais	raros	raros

Vol. III - M.L.A.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	28	24
Creatinina (mg%)	0.69	0.66
TGO (U/l)	9	8
TGP (U/l)	10	10
Glicemia (mg%)	89	98
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.1	0.1
Indireta	0.5	0.1
Total	0.6	0.2
GB x 10 ³	5.6	7.2
GV x 10 ³	3.96	4.41
Hgb g/dL	10.9	11.9
Hct %	34.1	38.1
VCM	85.9	86.2
HCM	27.4	27
CHCM g/dL	31.0	31.3
Plaquetas 10 ³	149	206
Contagem Específica		
Segmentados	0	2
Neutrófilos	51	57
Eosinófilos	0	1
Basófilos	1	1
Linfócitos	47	36
Monócitos	1	3
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1025	*
pH	7.0	*
Hemácias	500	*
Leucócitos	2,500	*
Bactérias	raros	*
Células epiteliais	raros	*

* dados não disponíveis

Vol. IV - C.S.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	24	*
Creatinina (mg%)	0.62	*
TGO (U/l)	7	*
TGP (U/l)	6	*
Glicemia (mg%)	75	*
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.2	*
Indireta	0.2	*
Total	0.4	*
GB x 10 ³	6.6	*
GV x 10 ³	3.89	*
Hgb g/dL	11.5	*
Hct %	36	*
VCM	92.7	*
HCM	29.6	*
CHCM g/dL	31.9	*
Plaquetas 10 ³	316	*
Contagem Específica		
Segmentados	0	*
Neutrófilos	62	*
Eosinófilos	4	*
Basófilos	0	*
Linfócitos	32	*
Monócitos	2	*
Plasmócitos	0	*
Urina Rotina		
Densidade	1030	*
pH	6.5	*
Hemácias	1,000	*
Leucócitos	2,000	*
Bactérias	raros	*
Células epiteliais	raros	*

* dados não disponíveis

Vol. V - E.P.A.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	27	*
Creatinina (mg%)	0.77	*
TGO (U/l)	10	*
TGP (U/l)	8	*
Glicemia (mg%)	82	*
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.4	*
Indireta	0.2	*
Total	0.6	*
GB x 10 ³	4.2	*
GV x 10 ³	4.68	*
Hgb g/dL	14.0	*
Hct %	42.7	*
VCM	91.4	*
HCM	30	*
CHCM g/dL	32.8	*
Plaquetas 10 ³	206	*
Contagem Específica		
Segmentados	2	*
Neutrófilos	40	*
Eosinófilos	9	*
Basófilos	0	*
Linfócitos	37	*
Monócitos	12	*
Plasmócitos	0	*
Urina Rotina		
Densidade	1025	*
pH	5.0	*
Hemácias	500	*
Leucócitos	3,500	*
Bactérias	regular	*
Células epiteliais	regular	*

* dados não disponíveis

Vol. VI - R.A.M.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	27	30
Creatinina (mg%)	0.9	1.0
TGO (U/l)	14	13
TGP (U/l)	34	19
Glicemia (mg%)	98	89
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.4	0.4
Indireta	0.2	0.2
Total	0.6	0.6
GB x 10 ³	7.6	7.0
GV x 10 ³	5.36	5.32
Hgb g/dL	13.9	15.1
Hct %	42.7	46.2
VCM	92	86.9
HCM	30.1	28.4
CHCM g/dL	32.7	32.7
Plaquetas 10 ³	288	276
Contagem Específica		
Segmentados	0	2
Neutrófilos	60	50
Eosinófilos	1	4
Basóilos	1	1
Linfócitos	37	32
Monócitos	1	11
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1025	1020
pH	5	6.5
Hemácias	500	600
Leucócitos	2,000	500
Bactérias	raros	raros
Células epiteliais	raros	raros

Vol. VII - E.S.M.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	33	33
Creatinina (mg%)	0.93	0.8
TGO (U/l)	5	7
TGP (U/l)	5	7
Glicemia (mg%)	89	93
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.2	0.3
Indireta	0.6	0.1
Total	0.8	0.4
GB x 10 ³	4.8	6.7
GV x 10 ³	5.33	5.05
Hgb g/dL	15.7	14.4
Hct %	47.9	42.5
VCM	89.8	90.2
HCM	29.6	28.6
CHCM g/dL	32.9	31.7
Plaquetas 10 ³	206	222
Específico		
Segmentados	6	16
Neutrófilos	33	44
Eosinófilos	7	2
Basófilos	0	0
Linfócitos	38	29
Monócitos	16	10
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1025	1020
pH	5	6.5
Hemácias	2,500	500
Leucócitos	5,000	1,000
Bactérias	raros	raros
Células epiteliais	raros	raros

Vol. VIII - L.S.A.C.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Ureia (mg%)	25	37
Creatinina (mg%)	0.87	0.75
TGO (U/l)	5	6
TGP (U/l)	5	5
Glicemia (mg%)	66	80
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.4	0.5
Indireta	0.8	0.8
Total	1.2	1.3
GB x 10 ³	8.2	8.5
GV x 10 ³	5.06	4.98
Hgb g/dL	15.7	16.0
Hct %	48.2	47.9
VCM	95.2	96.2
HCM	31.2	32.1
CHCM g/dL	32.7	33.4
Plaquetas 10 ³	483	398
Contagem Específica		
Segmentados	1	0
Neutrófilos	36	42
Eosinófilos	6	6
Basófilos	0	0
Linfócitos	53	44
Monócitos	4	8
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1030	1025
pH	5.5	7.5
Hemácias	2,000	500
Leucócitos	1,000	1,000
Bactérias	raros	raros
Células epiteliais	raros	raros

Vol. IX - A.T.M.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	22	29
Creatinina (mg%)	0.78	0.81
TGO (U/l)	11	8
TGP (U/l)	7	4
Glicemia (mg%)	80	81
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.2	0.2
Indireta	0.7	0.1
Total	0.9	0.3
GB x 10 ³	7.0	5.6
GV x 10 ³	4.88	5.13
Hgb g/dL	13.2	14.1
Hct %	41.5	43
VCM	85.1	83.9
HCM	27	27.6
CHCM g/dL	31.8	32.8
Plaquetas 10 ³	237	218
Contagem Específica		
Segmentados	0	1
Neutrófilos	70	63
Eosinófilos	1	0
Basófilos	1	0
Linfócitos	26	31
Monócitos	2	5
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1020	1015
pH	6	6.5
Hemácias	2,000	500
Leucócitos	5,000	2,000
Bactérias	raros	raros
Células epiteliais	raros	raros

Vol. X - M.N.V.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	30	30
Creatinina (mg%)	1.08	1.07
TGO (U/l)	13	11
TGP (U/l)	6	19
Glicemia (mg%)	94	80
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.4	0.8
Indireta	1.7	1.4
Total	2.1	2.2
GB x 10 ³	6.6	7.7
GV x 10 ³	5.43	5.29
Hgb g/dL	15.5	15.4
Hct %	48	47.1
VCM	88.3	89.1
HCM	28.5	29.2
CHCM g/dL	32.3	32.7
Plaquetas 10 ³	212	248
Contagem Específica		
Segmentados	2	1
Neutrófilos	44	63
Eosinófilos	4	1
Basófilos	0	0
Linfócitos	41	27
Monócitos	9	8
Plasmócitos	0	0
Urina Rotina		
Densidade	1010	1025
pH	5	5
Hemácias	500	1,000
Leucócitos	1,000	4,500
Bactérias	raros	raros
Células epiteliais	raros	raros

Vol. XI - R.M.

	Pré-estudo	Pós-estudo
Uréia (mg%)	34	*
Creatinina (mg%)	0.85	*
TGO (U/l)	8	9
TGP (U/l)	10	12
Glicemia (mg%)	93	84
Bilirrubinas (mg%):		
Direta	0.4	0.2
Indireta	1.4	1.3
Total	1.8	1.5
GB x 10 ³	6.1	*
GV x 10 ³	5.46	*
Hgb g/dL	16.5	*
Hct %	50.5	*
VCM	92.6	*
HCM	30.3	*
CHCM g/dL	32.7	*
Plaquetas 10 ³	288	*
Contagem Específica		
Segmentados	2	*
Neutrófilos	45	*
Eosinófilos	0	*
Basófilos	1	*
Linfócitos	49	*
Monócitos	3	*
Plasmócitos	0	*
Urina Rotina		
Densidade	1025	*
pH	6.5	*
Hemácias	1,000	*
Leucócitos	500	*
Bactérias	raros	*
Células epiteliais	raros	*

* dados não disponiveis