

Joana Rita Mota Moreira

Intoxicações por Paracetamol: Metabolismo, Mecanismos de Toxicidade e Novas Abordagens da Terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Alcino Jorge Lopes Leitão e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Joana Rita Mota Moreira

Intoxicações por Paracetamol: Metabolismo, Mecanismos de Toxicidade e Novas Abordagens da Terapêutica

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Alcino Jorge Lopes Leitão e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

O Tutor

(Professor Doutor Alcino Jorge Lopes Leitão)

A Aluna

(Joana Rita Mota Moreira)

Declaração

Eu, Joana Rita Mota Moreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2010147084, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 1 de julho de 2016.

Joana Rita Mota Moreira

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer ao Professor Alcino Jorge Leitão, por todo o apoio e orientação.

Quero agradecer também aos meus pais, por todo o esforço que eles fizeram para que eu pudesse ingressar no curso que queria e por todo amor e apoio incondicional que me deram ao longo destes anos.

À minha irmã, à Inês, à minha Madrinha, à minha Tia Paula e ao meu Tio Vítor por todo o amor e carinho.

À minha Tia Maria e aos meus primos pelo carinho.

Ao meu namorado, pelo amor e paciência durante este último ano.

Às amigas de sempre, por estarem sempre lá.

Às amigas da Faculdade, por serem para sempre.

À família realizada durante estes anos, por me mostrarem que não é preciso laços de sangue para nascerem laços de amor.

Aos professores da faculdade, pelo conhecimento e valores transmitidos.

“The capacity to learn is a gift. The ability to learn is a skill. The willingness to learn is a choice.”

(Brian Herbert)

Lista de Abreviaturas

ALT – Alanina transaminase

APAF-I – Factor Activante da Apoptose I

ATP – Adenosina Trifosfato

Cx - Conexina

CYP 450 – Citocromo P450

FDA – Food and Drug Administration

FHA – Falência Hepática Aguda

GDH – Glutamato desidrogenase

GSH – Glutationa

GSSG – Glutationa dissulfureto

MT – Mito-tempo

NAC – N-acetilcisteína

NACA – N-acetilcisteína amida

NAPQI – N-acetil-p-benzoquinona imina

RIPK-I – Receptor Interacting Protein Kinase I

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio

UDP – Uridina 5'-difosfato

Resumo

O paracetamol é o analgésico e antipirético mais utilizado no mundo inteiro. É um medicamento de venda livre e está disponível em várias formas farmacêuticas e dosagens farmacêuticas para as diferentes faixas etárias. Por vezes, é formulado com outros fármacos como o tramadol, para a dor moderada.

No entanto, após uma dose elevada ingerida, forma-se um metabolito tóxico capaz de despoletar *stress* oxidativo e levar à necrose dos tecidos, não só no fígado mas também no rim. O diagnóstico mais grave após uma intoxicação é a Falência Hepática Aguda, que pode levar à morte. Por outro lado, estudos recentes têm levado a crer que o paracetamol, em doses baixas, tem um efeito protector do cérebro, diminuindo o *stress* oxidativo.

O antídoto utilizado há mais de quatro décadas nas intoxicações por paracetamol é a N-acetilcisteína (NAC), precursor da molécula “destoxicante” do nosso organismo, a Glutathione, actuando no restabelecimento das suas reservas. A NAC também é capaz de repor os níveis energéticos celulares, servindo de precursor para o ciclo de Krebs.

Como a NAC tem uma biodisponibilidade baixa e como tal é necessário administrá-la em doses elevadas, muitas vezes ocorrem reações adversas. Com o objectivo de contornar estes casos, os investigadores têm-se dedicado a procurar alternativas. Uma delas seria a alteração ao protocolo da NAC instituído e outras passam pela procura de novos compostos para diminuir o dano hepático causado pela ingestão tóxica de paracetamol, como a N-acetilcisteína amida, o Mito-tempo e as Nanopartículas hidrofílicas de Fulereño poli-hidroxilado ($C_{60}(OH)_{10}$)/ 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina.

Palavras-chave: Paracetamol; hepatotoxicidade; nefrotoxicidade; intoxicação; dano hepático; *stress* oxidativo; mitocôndria; Falência Hepática Aguda; N-acetilcisteína.

Abstract

Acetaminophen is an analgesic and antipyretic used in many countries. It is an Over-The-Counter drug and it is available in many formulations and dosages for all ages. Sometimes, it is combined with other drugs, like tramadol for moderate pain.

In higher doses, the metabolism of acetaminophen forms a toxic metabolite, able to trigger oxidative stress and lead to cellular necrosis, in the liver and in the kidney. The poor diagnosis after an acetaminophen overdose is Acute Liver Failure, which can lead to death. However, recent studies had shown that acetaminophen in lower doses can produce a protective effect in the brain, leading to the decrease of oxidative stress.

The antidote used over more than forty years is N-acetylcysteine (NAC), precursor of the detoxifying molecule of your body, Glutathione, acting in the restoring of its stores. NAC is also capable of restoring the energetic levels in the cell, giving the amino acid excess to the Krebs cycle.

However, NAC has a very low biodisponibility and it has to be administered in higher doses, which leads to adverse reactions in patients. With the aim of avoid these adverse reactions, some investigators have searched for alternatives. Some of them study the alteration of the NAC protocol, which has shown very good results. In the other hand, others study new molecules like N-acetilcisteine amide, Mito-tempo and Nanoparticles hydrophilic like $C_{60}(OH)_{10}$ / 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin.

Keywords: Acetaminophen; hepatotoxicity, nephrotoxicity; overdose; hepatic injury; oxidative stress; mitochondria; Acute liver failure; N-acetylcysteine.

ÍNDICE

1. Introdução	1
2. Intoxicações por Paracetamol e Fatores de Risco	2
3. Metabolismo do Paracetamol	4
4. Mecanismo de Hepatotoxicidade	5
4.1 O papel da Conexina 43 no mecanismo de dano hepático por <i>overdose</i> de Paracetamol.....	7
5. Mecanismo de Nefrotoxicidade	8
6. Efeitos contraditórios do paracetamol no cérebro	9
7. Tratamento das Intoxicações por Paracetamol	10
8. Novas abordagens do Tratamento das Intoxicações por Paracetamol	11
8.1 Alterações no protocolo da NAC	11
8.2 Novos compostos como possíveis Alternativas Terapêuticas à NAC	13
8.2.1 N-acetilcisteína amida.....	13
8.2.2 Mito-tempo.....	14
8.2.3 Nanopartículas hidrofílicas - Fullereno poli-hidroxilado (C ₆₀ (OH) ₁₀)/ 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina.....	15
9. O papel do Farmacêutico nos casos de Intoxicação por Paracetamol	17
10. Conclusão	18
11. Bibliografia	20
12. Anexos	
Anexo 1 – Esquema do Metabolismo do Paracetamol	22
Anexo 2 – Esquema do Mecanismo de Hepatotoxicidade do Paracetamol	23

I. Introdução

O paracetamol (N-acetil-p-aminofenol ou acetaminofeno) é o analgésico e antipirético mais utilizado na actualidade. Foi sintetizado pela primeira vez em 1878, por Harmon Morse e a primeira vez em que se utilizou clinicamente foi em 1887, por Joseph von Mering. Nessa altura o analgésico de primeira escolha era a fenacetina, mas só nos anos 50 é que Brodie e Axelrod demonstraram que o paracetamol era o metabolito activo deste fármaco. Assim, o paracetamol substituiu a fenacetina no mercado dos Estados Unidos da América, porque esta demonstrou ser nefrotóxica. Também nos anos 80, o paracetamol tornou-se o analgésico e antipirético mais utilizado em crianças, porque se associou a toma de ácido acetilsalicílico à ocorrência do Síndrome de Reye em crianças. (Ghanem *et al.*, 2016)

O paracetamol é um inibidor selectivo da ciclo-oxigenase e sabe-se que ele tem capacidade analgésica porque é capaz de modular o sistema canabinóide endógeno. Por outro lado, este fármaco tem ação no centro da termoregulação do hipotálamo, pois é capaz de inibir o efeito dos pirogêneos e deste modo actuar no mecanismo da febre. No entanto possui um fraco poder anti-inflamatório. (Ghanem *et al.*, 2016; INFARMED, 2014a)

Além disso, o paracetamol está presente em diferentes dosagens e formas farmacêuticas, sendo a maioria medicamentos não sujeitos a Receita Médica. Por outro lado, também existem formulações de paracetamol com outros fármacos, como o tramadol.

Apesar de ser considerado um fármaco com uma boa margem terapêutica e seguro, o paracetamol é responsável por desencadear, em doses elevadas, Falência Hepática Aguda, devido à sua hepatotoxicidade. Este fenómeno ocorre porque o paracetamol é metabolizado pelas enzimas CYP450, formando um metabolito tóxico, o NAPQI. (Ghanem *et al.*, 2016)

Em meados dos anos 80, registaram-se os primeiros episódios de hepatotoxicidade e consequente Falência Hepática Aguda, com um desfecho fatal. (Ghanem *et al.*, 2016)

Como o paracetamol é um fármaco muito utilizado tanto em crianças como em adultos, torna-se imperativo para o farmacêutico não só conhecer o metabolismo e os mecanismos de toxicidade e mas também explorar novas abordagens da terapêutica no caso de intoxicações.

No decorrer desta monografia, serão abordados tópicos como o metabolismo deste fármaco, os seus mecanismos de toxicidade, o efeito protector no cérebro e ainda o tratamento actual e alguns potenciais novos fármacos no tratamento de Intoxicações por Paracetamol.

2. Intoxicação por Paracetamol e Fatores de Risco

O paracetamol é considerado um analgésico e antipirético seguro, sendo utilizado tanto em crianças como em adultos e idosos. Tem a vantagem de não apresentar tantos efeitos secundários como os Anti-Inflamatórios Não Esteróides (AINEs) e o ácido acetilsalicílico. Os seus efeitos adversos mais comuns são a sonolência ligeira e algumas perturbações gastrointestinais, como náuseas e vômitos. (INFARMED, 2014a)

É utilizado em gripes, febre, cefaleias e enxaquecas, odontalgias e otalgias, dismenorreia e ainda dores articulares e musculares. Também é utilizado no pós-operatório com frequência, principalmente em cirurgias de ambulatório. (INFARMED, 2014a)

As doses recomendadas para um adulto são entre 325-650 mg, de 6 em 6 horas, não devendo ultrapassar a 4 g por dia. Já para uma criança, a dose varia com o peso da mesma, mas deve ser entre 10-15 mg/kg de 6 em 6 horas, sendo a dose máxima diária recomendada entre 50 mg e 75 mg por kg de peso corporal. (Eugenio-Pérez, Montes de Oca-Solano e Pedraza-Chaverri, 2016)

Acima das doses anteriormente referidas, a vias da metabolização ficarão saturadas e irá formar-se uma grande quantidade de metabolito tóxico, devido ao esgotamento das reservas de Glutathione (GSH), ocorrendo assim a intoxicação por paracetamol. As intoxicações podem ser intencionais (com o objectivo de cometer suicídio) ou não intencionais, sendo que estas últimas ocorrem em cerca de 50% dos casos. (Lancaster, Hiatt e Zarrinpar, 2014)

Há ainda a ter em conta alguns fatores de risco que tornam alguns indivíduos com certos estados clínicos mais susceptíveis de desenvolverem hepatotoxicidade e/ou nefrotoxicidade devido à ingestão de uma dose excessiva de paracetamol nomeadamente: níveis de glutathione reduzidos, devido ao jejum, desnutrição e à doença hepática crónica e toma concomitante de paracetamol e fármacos indutores das enzimas CYP450, como a isoniazida, a rifampicina e o fenobarbital. Por fim há ainda mecanismos sobre os quais ainda existem algumas dúvidas, mas estudos realizados mostram que a toma de estatinas nos indivíduos do sexo masculino diminuiu a ocorrência de morte por Falência Hepática Aguda derivada do paracetamol, enquanto em elementos do sexo feminino que tomavam estatinas a incidência de morte foi maior. Neste mesmo estudo, em indivíduos com terapêutica com AINEs, fibratos e com historial de abuso de bebidas alcoólicas, a percentagem de morte também aumentou. (Lancaster *et al.*, 2014; Mazer e Perrone, 2008)

Quanto às manifestações clínicas, há autores que defendem que uma intoxicação por paracetamol pode ser dividida em 4 fases. A primeira fase é caracterizada por náuseas,

vômitos, mal-estar geral e ainda sudorese intensa. Já a segunda fase é marcada por dor no 1º quadrante direito, hepatomegalia, oligúria e um aumento das enzimas hepáticas. A terceira fase caracteriza-se não só pelo reaparecimento das perturbações gastrointestinais e mal-estar mas também pelos primeiros sinais de Falência Hepática como a icterícia, hipoglicémica, coagulopatia e ainda encefalopatia. Por último, a fase final determina se o organismo recupera ou se há progressão até à morte por Falência Hepática. (Ward *et al.*, 2001)

3. Metabolismo do Paracetamol

Após ser absorvido, o paracetamol sofre reações de biotransformação no fígado, nomeadamente de Fase I e de Fase II do metabolismo. A Fase III inclui o transporte dos metabolitos resultantes das fases anteriores.

As reações de Fase II, como a de Glucuronidação e a de Sulfatação, são predominantes no metabolismo do paracetamol. A Glucuronidação é catalisada pelas Uridina 5'-difosfato (UDP)-glucuronosil transferases, que transferem um grupo glucuronosil do UDP-ácido glucurónico para moléculas alvo, como o paracetamol, tornando-as mais hidrossolúveis. Por outro lado, a Sulfatação é catalisada por sulfotransferases, que transferem um grupo sulfó (proveniente do 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato) para um aceitador, como o paracetamol. Os produtos resultantes destas reações são directamente excretadas na urina. Há ainda uma pequena fracção de Paracetamol que é excretado na urina sem qualquer alteração. (Lancaster *et al.*, 2014; McGill e Jaeschke, 2014)

As reações de Fase I são normalmente mediadas pelo sistema enzimático denominado Citocromo P450, sendo este constituído por mono-oxigenases. Desta família de enzimas, a isoenzima CYP2E1 é a que tem uma acção mais notória na biotransformação do paracetamol, mediando a formação do metabolito tóxico, uma imina, a N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI). (Ogilvie, Rieder e Lim, 2012)

Em doses terapêuticas, a formação da NAPQI ocorre em baixa percentagem, sendo este electrófilo rapidamente conjugado pelo “captador”/scavenger de radicais livres, a Glutathione (GSH). O NAPQI liga-se ao grupo tiol da GSH, formando-se ácido mercaptúrico ou um conjugado de cisteína, que sofrem excreção renal. Esta reacção pode ocorrer espontaneamente ou por acção das Glutathione-S-transferases. (McGill e Jaeschke, 2014)

Em casos de ingestão de doses elevadas de paracetamol, ocorre uma saturação das reações de fase II e um esgotamento das reservas de GSH. Assim, o NAPQI acumula-se em grande quantidade no fígado, alterando a homeostase celular. No anexo I, encontra-se um esquema elucidativo do Metabolismo do Paracetamol. (Ghanem *et al.*, 2016; McGill e Jaeschke, 2014; Ogilvie *et al.*, 2012)

É ainda de salientar que o metabolismo do paracetamol varia consoante a idade. Os recém-nascidos e as crianças têm taxas superiores de Sulfatação em relação aos adultos, taxas inferiores de Glucuronidação e ainda uma imaturidade na isoenzima CYP2E1, responsável pela formação do NAPQI, o que leva a uma menor produção deste metabolito em crianças e conseqüentemente uma menor probabilidade de desenvolver hepatotoxicidade por excesso de paracetamol no organismo. (Ogilvie *et al.*, 2012)

4. Mecanismo de Hepatotoxicidade

Ao contrário da nefrototoxicidade, a hepatotoxicidade causada por níveis elevados de paracetamol tem sido discutida e estudada há várias décadas. Como o metabolito tóxico do paracetamol é formado por ação das enzimas CYP450, é a zona centrilobular (zona III) a mais afetada, precisamente devido à presença destas enzimas nesta zona. No entanto, se a quantidade de paracetamol for bastante elevada, os danos podem estender-se até as zonas I e II. (Ghanem *et al.*, 2016)

Numa situação de intoxicação por Paracetamol, há uma saturação das reações de Sulfatação e Glucuronidação, o que conduz a um excesso de NAPQI formado pela via de metabolismo da CYP450. Este excesso leva a um esgotamento das reservas de GSH, pois os níveis de GSH revelam-se insuficientes para eliminar essa quantidade elevada de NAPQI. Assim, esta imina tóxica, que é uma molécula de carácter electrófilo, encontra-se livre para reagir com nucleófilos, nomeadamente moléculas como DNA e proteínas celulares. (Ghanem *et al.*, 2016; Khayyat *et al.*, 2016)

Assim, o excesso de NAPQI reage com os grupos tiol no aminoácido cisteína presente nas proteínas celulares, principalmente proteínas mitocondriais. Esta ligação às proteínas mitocondriais leva à perda de função da mitocôndria. A disfunção mitocondrial não só leva à diminuição da produção de Adenosina Trifosfato (ATP) como também impede que a respiração celular ocorra, e promove a formação de espécies reactivas de oxigénio (ROS) e outras espécies reactivas na mitocôndria devido ao *stress* oxidativo, como o óxido nítrico (NO), que reage com o anião superóxido (O_2^-), originando o peroxinitrito. Este provoca danos no DNA mitocondrial e conduz à formação de aductos de nitrotirosina através da nitração das proteínas mitocondriais. (Ghanem *et al.*, 2016; Khayyat *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2016)

Como consequência da diminuição dos níveis de GSH e do *stress* oxidativo gerado na célula devido à formação de ROS e de peroxinitrito, há uma alteração da permeabilidade da membrana mitocondrial, a chamada transição de permeabilidade mitocondrial (MPT), que tem como consequência a perda do potencial de membrana e que leva à abertura dos poros na membrana mitocondrial. Este fenómeno ocorre porque o aumento de ROS dentro da célula desencadeia a activação da via das MAP *kinases* (*Mitogen Activated Protein Kinases*), que leva à fosforilação da JNK (c-Jun N-terminal *kinase*), que activa factores de transcrição e membros da família de proteínas Bcl-2 (como a BAX e BAK) para regular a apoptose. Assim, ocorre a translocação da proteína BAX, que se combina com a proteína BAK na membrana mitocondrial exterior, permitindo a formação dos poros e libertação de proteínas

intramembranares, como o citocromo C. (Ding *et al.*, 2016; Eugenio-Pérez *et al.*, 2016; Park *et al.*, 2016)

O citocromo C activa a caspase-9, directamente ou através do factor activante da apoptose (APAF-1), sendo este processo dependente de ATP. Esta ligação do APAF com a caspase-9 dá origem ao Apoptosoma. Assim, a caspase-9 activa outras caspases, nomeadamente a 3 e a 7, levando ao fenómeno de apoptose celular. (Ghanem *et al.*, 2016)

Na célula, há um distúrbio da homeostase do Ca^{2+} . Este sai da mitocôndria e acumula-se na célula, devido à inibição da bomba de Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase. Este aumento do Ca^{2+} pode despoletar a activação das *calpains*, que são capazes de levar à degradação de proteínas, nomeadamente de proteínas com função estrutural. Essa degradação leva à necrose dos hepatócitos, podendo estender-se às células vizinhas. Os níveis elevados do Ca^{2+} no núcleo celular levam à activação de uma enzima endonuclease dependente do Ca^{2+} e há estudos que indicam que esta enzima está envolvida na fragmentação do DNA, causada pela hepatotoxicidade do paracetamol. (Ghanem *et al.*, 2016)

É de referir também que existem evidências que nos levam acreditar que há uma outra via envolvida no mecanismo de morte celular provocado pelo paracetamol: a *necroptosis*. Neste processo está envolvido um sistema/complexo proteico, chamado de necroptosoma, que contém dois receptores que interagem com *kinases*, o *Receptor Interacting Protein Kinase 1* (RIPK-1) e o *Receptor Interacting Protein Kinase 3* (RIPK-3). Um inibidor do RIPK-1, a Necrostatina-1, mostrou, tanto *in vitro* como *in vivo*, ser capaz de proteger contra a hepatotoxicidade induzida pelo paracetamol, o que nos leva a concluir que o RIPK-1 está envolvido na hepatotoxicidade decorrente de casos de intoxicação por paracetamol. Quanto ao RIPK-3, os estudos realizados mostraram-se contraditórios. (Ghanem *et al.*, 2016; Yan *et al.*, 2016)

Por outro lado, há uma fase que se acredita que é independente do metabolismo e que está ligada ao sistema imunitário inato. Esta fase medeia um mecanismo de inflamação estéril. Com a necrose dos hepatócitos, são libertados vários componentes celulares, como fragmentos de DNA nuclear, DNA mitocondrial, ATP, proteínas de elevada mobilidade (*High mobility group box protein* - HMGB-1) e *heat shock proteins* (HSPs). Estes componentes, denominados de DAMPs (Padrão molecular associado ao dano), são capazes de desencadear inflamação, através da ligação a receptores de reconhecimento padrão, que levam à produção de citocinas pró-inflamatórias. Estas citocinas e as quemocinas vão atrair os monócitos e neutrófilos, contribuindo para uma maior extensão dos danos celulares. (Ding *et al.*, 2016; Ghanem *et al.*, 2016; Lancaster *et al.*, 2014)

No anexo 2, encontra-se um esquema elucidativo dos mecanismos de toxicidade hepática do paracetamol.

4.1 O papel da conexina 43 no mecanismo de dano hepático por overdose de Paracetamol

As junções *gap* têm como função regular os sinais entre as células, promovendo a troca de moléculas (pequenas e hidrofílicas) e iões entre as células vizinhas. A nível hepático, essas junções *gap* têm um papel crucial para algumas funções hepáticas como a secreção de biliar, a Glicogenólise, a biotransformação de xenobióticos e ainda a secreção de albumina. Estas são constituídas por um canal entre as células adjacentes, constituído por proteínas conexinas (Cx). Normalmente, os hepatócitos expressam a Cx32 numa quantidade substancial e a Cx26 em menores quantidades. Em situações de dano hepático, há uma maior produção da Cx43, em relação às outras duas Cx. Por sua vez, esta Cx aparece em zonas de necrose e inflamação, nomeadamente perto da caspase-3, que é mediadora da morte celular. (Maes *et al.*, 2016)

Maes *et al.* concluíram que a produção de Cx43 após o dano produzido pelo paracetamol é regulada transcricionalmente, sendo que numa situação normal os hepatócitos não produzem esta conexina. Assim, após uma dose tóxica do paracetamol, os hepatócitos produzem a Cx43, mas esta não consegue manter sozinha as junções *gap*. Estes investigadores realizaram um estudo em ratinhos com diferenças genéticas na expressão do gene que regula a produção de Cx43, em que um grupo era *wild type* (expressavam o gene) e o outro possuía uma deficiência genética no mesmo gene. Os ratinhos com deficiência no gene tinham níveis mais elevados de Alanina Transaminase (que indica dano hepático) e níveis mais elevados de IL-1 β e de TNF alfa, sendo estas substâncias pró-inflamatórias, o que indica a presença de uma inflamação mais extensa. Estes ratinhos também apresentavam um menor nível de GSH que os ratinhos que expressavam o gene, indicando um maior *stress* oxidativo. (Maes *et al.*, 2016)

Assim, é possível concluir que a presença da Cx43 está envolvida no dano hepático produzido pela dose tóxica de paracetamol em ratinhos. Esta atua nas junções *gap* hepáticas, diminuindo a inflamação dos hepatócitos e o *stress* oxidativo. No entanto, não é capaz de manter as junções *gap* sozinha. (Maes *et al.*, 2016)

5. Mecanismo de Nefrotoxicidade

Apesar de a hepatotoxicidade ser bastante mais frequente, a nefrotoxicidade (e como consequência a insuficiência renal) também ocorre em cerca de 1-2% dos doentes com uma overdose de paracetamol, sendo mais comum em crianças e adolescentes. (Mazer e Perrone, 2008)

Há muitas incertezas acerca dos mecanismos envolvidos na nefrotoxicidade por paracetamol, talvez porque a sua incidência é relativamente baixa. No entanto, há alguns mecanismos conhecidos, nomeadamente a ação das enzimas microssomais CYP-450, da Prostaglandina endoperoxidase Sintetase (PGES) e ainda da N-deacetilase. (Mazer e Perrone, 2008)

As enzimas CYP-450 estão presentes no córtex renal e a que está mais envolvida na biotransformação no rim é a CYP 2E1. Embora a glutathione se conjugue com o metabolito tóxico formado pelo paracetamol, os compostos formados dessa conjugação estão envolvidos na formação de compostos nefrotóxicos. É ainda desconhecido esse mecanismo, sendo que há duas possibilidades sustentadas pelos cientistas: o dano renal é causado pelo metabolito conjugado do paracetamol e da glutathione ou um dos seus metabolitos, ou formação dos metabolitos resultantes da conjugação leva ao esgotamento das reservas de glutathione, que por sua vez inibe a destoxificação dos compostos nefrotóxicos. (Mazer e Perrone, 2008)

O outro mecanismo proposto para a nefrotoxicidade está relacionado com a ação da enzima *Prostaglandina sintetase*, nomeadamente na medula renal, que forma NAPQI a partir do paracetamol. Esta imina tóxica liga-se covalentemente às proteínas celulares, levando à morte celular e consequentemente, à necrose dos tecidos. (Mazer e Perrone, 2008)

Por fim, o último mecanismo e aquele de que se sabe menos é o mecanismo mediado pela enzima *N-deacetilase*. Esta enzima actua em combinação com as enzimas CYP-450 e promove a desacetilação do paracetamol ou do NAPQI, formando-se o p-aminofenol. Este é transformado em radical livre, que se liga às proteínas celulares, desencadeando o mecanismo de morte celular. (Mazer e Perrone, 2008)

Normalmente, quando há uma dose elevada de paracetamol no organismo e afecta o rim, ocorre uma Necrose Tubular Aguda, nos quais os parâmetros urinários sofrem alterações, como o aparecimento de um sedimento de carácter granuloso na urina. É ainda de salientar que por vezes ocorre toxicidade renal e consequentemente insuficiência renal sem ocorrer hepatotoxicidade, o que nos leva a acreditar que são precisas doses menores de paracetamol para induzir a nefrotoxicidade. (Mazer e Perrone, 2008)

6. Efeitos contraditórios do paracetamol no cérebro

Os danos celulares hepáticos provocados pela dose excessiva de paracetamol podem levar à Falência Hepática Aguda (FHA), caracterizada pela perda de função hepática e por icterícia, coagulopatia e encefalopatia. A Encefalopatia Hepática é uma das consequências da FHA e pode ser dividida em 4 estádios, sendo o último o mais grave e que se caracteriza pelo estado de coma. (Lancaster *et al.*, 2014)

O mecanismo mais importante que está relacionado com a Encefalopatia é o mecanismo da amônia (NH_4^+), em que esta está em excesso na corrente sanguínea porque a função hepática encontra-se comprometida. Normalmente, o NH_4^+ está em equilíbrio químico com a sua forma não ionizada, o amoníaco (NH_3). Este facilmente atinge o Sistema Nervoso Central por difusão. Dentro dos astrócitos, há formação do Glutamato através da conjugação da NH_4^+ e do alfa-cetoglutarato, e após a adição de outra molécula de amônia e por ação da enzima glutamina sintetase, forma-se a glutamina. Nestas células, elevadas concentrações de glutamina provocam *stress* osmótico, levando a danos celulares. (Ghanem *et al.*, 2016)

No entanto, também se sabe que o paracetamol atravessa facilmente a barreira hemato-encefálica e que a isoforma CYP2E1 está presente no cérebro. Assim, podemos concluir que há metabolização do paracetamol em NAPQI no cérebro, mas não há estudos que suportem a hipótese de isto acontecer numa situação de FHA. (Ghanem *et al.*, 2016)

Por outro lado, vários estudos realizados têm vindo a demonstrar que o paracetamol em doses baixas tem um efeito protector dos tecidos, nomeadamente do tecido cerebral. Este efeito está relacionado com a prevenção da acumulação de ROS. (Ghanem *et al.*, 2016)

Um desses estudos mostrou que o paracetamol é capaz de reduzir o *stress* oxidativo provocado pelo peptídeo β amiloide (que está envolvido no mecanismo fisiopatológico da Doença de Alzheimer), diminuindo a peroxidação lipídica e a ocorrência de apoptose. Outro estudo que utilizou uma cultura de células endoteliais cerebrais também conseguiu mostrar uma menor inflamação como resposta ao *stress* oxidativo. Por outro lado, também há estudos que mostram que o efeito protector do paracetamol não ocorre só a nível do cérebro, pois a nível cardíaco também mostrou ter um efeito cardioprotector durante uma situação de isquémia. (Ghanem *et al.*, 2016)

Em conclusão, existem evidências de que o paracetamol tem efeitos protectores quando administrado em baixas doses, tanto a nível cerebral como a nível cardíaco. No entanto, posteriores estudos serão necessários para fundamentar e compreender melhor este mecanismo. (Ghanem *et al.*, 2016)

7. Tratamento das Intoxicações por Paracetamol

Normalmente as intoxicações por paracetamol são tratadas com a N-acetilcisteína (NAC), administrada por via intravenosa. A via oral não é utilizada frequentemente porque o doente intoxicado sofre, na maior parte das vezes, de perturbações gastrointestinais, o que vai dificultar a eficácia terapêutica da NAC.

Este antídoto é um precursor da GSH e quando administrado promove a síntese de GSH, levando ao restabelecimento das suas reservas, que numa situação de intoxicação por Paracetamol estão muito diminuídas. Com as reservas de GSH reestabelecidas, há captação dos radicais livres e ligação da GSH ao NAPQI, transformando em metabolitos não tóxicos como o ácido mercaptúrico, facilmente eliminados por via renal. Por outro lado, os aminoácidos em excesso (provenientes da NAC e que não foram necessários para a síntese de GSH) são utilizados como substratos para a produção de ATP, através do Ciclo de Krebs, restabelecendo os níveis de ATP nos hepatócitos. (Khayyat *et al.*, 2016)

Foi estabelecido um protocolo, o chamado “Protocolo de Prescott”, em que a dose de NAC administrada é dependente do peso corporal do doente. A dose inicial corresponde a 150 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta durante 15 minutos ou 1 hora, a segunda dose são 50 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta durante 4 horas e por fim a dose final corresponde a 100 mg/kg de peso corporal durante 16 horas. Os volumes de diluição variam de acordo com o peso corporal dividindo-se em 3 intervalos: peso inferior a 20 kgs, peso entre 20 kg e 40 kgs e peso superior a 40 kgs. O solvente mais utilizado é a dextrose a 5%, mas a NAC também é compatível com água para preparações injectáveis e com NaCl 0.45%. Este é o protocolo que está em vigor e que é utilizado na maioria dos hospitais. (Bateman, 2015; INFARMED, 2014b)

Antes do tratamento com a NAC e também durante o mesmo, é importante determinar a concentração sérica do paracetamol. Quando este valor está abaixo dos 100 mg/L, o paciente não deve realizar a terapêutica com NAC, pois não se encontra em risco. Este valor tem gerado alguma controvérsia, diferindo em alguns países; no entanto este é o mais aceite. (Bateman, 2015)

8. Novas abordagens do Tratamento das Intoxicações por Paracetamol

A NAC tem uma biodisponibilidade baixa porque o seu grupo carboxilo perde um próton em pH fisiológico e esta molécula fica com a carga negativa, dificultando a sua passagem nas membranas biológicas. Assim, é necessário administrar uma maior dose de NAC, o que também conduz ao aparecimento de efeitos secundários. Os efeitos secundários mais comuns são perturbações gastrointestinais, como náuseas e vômitos e reações anafiláticas. Estas incluem não só reações menos graves como o *rash* cutâneo, rubor, eritema e prurido como reações de maior gravidade como o aparecimento de angiodema, broncoespasmos e ainda hipotensão. Estas reações são mais comuns na primeira administração, que é administrada em menos tempo e com uma maior concentração de NAC. (Khayyat *et al.*, 2016; Wong e Graudins, 2016)

Por outro lado, a NAC deve ser administrada o mais cedo possível após a ingestão excessiva de paracetamol, com o intuito de alcançar uma melhor eficácia terapêutica. Contudo, a maioria dos doentes recorre mais tarde ao Serviço de Urgência, o que diminui a eficácia da NAC quando administrada. (Du, Farhood e Jaeschke, 2016)

Assim, os investigadores têm estudado estratégias para o tratamento das intoxicações por paracetamol com o objectivo de prevenir danos hepáticos, renais e cerebrais. Algumas dessas estratégias serão abordadas nesta monografia.

8.1 Alterações no protocolo da NAC

O “Protocolo de Prescott”, sugerido em 1977, foi alvo de revisão em 1985 pela *Food and Drug Administration* (FDA). Para a revisão das doses por kg de peso corporal do doente, foram realizados vários cálculos estequiométricos, nos quais se determinou que por cada mole de GSH diminuída correspondia uma mole de NAC necessária para restabelecer os níveis diminuídos. Nestes cálculos, os investigadores assumiram que a GSH é produzida a uma velocidade constante e que os seus níveis não sofrem variação interindividual. Como foi dito anteriormente, alguns doentes em certos estados clínicos podem ter os seus níveis de GSH diminuídos, por isso os níveis vão sofrer alguma variação. É de salientar ainda que este protocolo demora cerca de 20-25 horas. (Wong e Graudins, 2016)

Recentemente, alguns investigadores realizaram estudos com alterações ao Protocolo de Prescott, nomeadamente a redução das 3 administrações em apenas duas, com o intuito de diminuir a frequência dos efeitos adversos e incentivar a adesão à terapêutica, evitando interrupções.

No estudo de Bateman *et al.* o protocolo utilizado tinha uma dose inicial de 100 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta durante 2 horas e de seguida uma dose de 200 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta durante 10 horas, sendo a diluição realizada em 500 mL de dextrose a 5%. As perturbações gastrointestinais ocorreram em apenas 36% dos doentes em regime modificado de NAC enquanto 65% dos doentes com o protocolo *standard* sofreram destas reações. Quanto às reações anafiláticas graves, ocorreram em 5% dos doentes com o protocolo modificado com NAC e em 28% dos doentes com o protocolo de Prescott. Assim, conclui-se que o protocolo modificado não só diminui as reações adversas, mas também torna a administração mais simples, menos susceptível a erros e ainda diminui o tempo de permanência em ambiente hospitalar. (Bateman *et al.*, 2014)

Já no estudo de Isbister *et al.* foi utilizada uma dose inicial de 200 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta num período variável entre 4-9 horas dependendo do tempo passado desde a ingestão de paracetamol. Já a segunda dose foi de 100 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta durante 16 horas. O tratamento era interrompido sempre que a concentração sérica de paracetamol estava abaixo dos 100 mg/L. Neste estudo, a ocorrência de reações anafiláticas diminuiu, quando comparada com outros estudos. Isbister *et al.* também concluíram que intoxicações inferiores a 10 g de paracetamol raramente estavam associadas a concentrações de paracetamol acima do nível acima referido e por isso não foram consideradas graves. Também verificaram que nestes indivíduos as reações adversas eram mais frequentes, indicando que eles não necessitariam de terapêutica com NAC. (Isbister *et al.*, 2015)

Por fim, Wong and Graudins estabeleceram o seu protocolo tendo como dose inicial 200 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta durante 4 horas e a dose seguinte de 100 mg/kg de peso corporal em perfusão lenta durante 16 horas. Este estudo também evidenciou uma diminuição na ocorrência de reações anafiláticas quando comparada com o protocolo *standard*, nomeadamente 4,3% dos doentes do protocolo modificado sofreram reações anafiláticas vs 10% dos doentes do protocolo *standard* que sofreram estas reações. No entanto, a ocorrência de perturbações gastrointestinais e a prevalência de hepatotoxicidade foram muito semelhantes nos dois protocolos. (Wong e Graudins, 2015)

8.2 Novos compostos como possíveis Alternativas Terapêuticas à NAC

8.2.1 N-acetilcisteína amida

A N-acetilcisteína amida (NACA) tem uma grande semelhança molecular à NAC, actuando também como precursor da GSH e como captador de radicais livres. A diferença entre estas duas é a presença do grupo funcional amida na NACA em substituição do grupo carboxilo da NAC. A presença deste grupo confere à NACA uma maior facilidade de atravessar as membranas biológicas, devido a sua maior lipofilia. Assim, são necessárias doses menores de NACA, visto que esta possui uma melhor biodisponibilidade que a NAC. Como serão necessárias doses menores, é possível evitar algumas das reações adversas descritas anteriormente. (Khayyat *et al.*, 2016)

Khayyat *et al.* realizaram um estudo comparativo das actividades terapêuticas da NAC e da NACA em ratinhos. Este estudo dividiu-se em duas partes: uma parte onde era avaliada e comparada a taxa de sobrevivência dos ratinhos administrados com NAC e NACA e a outra parte onde era avaliada a actividade destas moléculas nos parâmetros enzimáticos e nos níveis de GSH. A concentração utilizada das duas moléculas (NACA e NAC) foi a mesma (106 mg/kg), sendo estas administradas ao seu grupo respectivo uma hora e meia após a administração da dose tóxica de paracetamol (500 mg/kg) e de 12 em 12 horas nas 72 horas seguintes na primeira parte das experiências, enquanto na segunda parte foi utilizada a mesma dose de NACA e NAC, que foi administrada uma hora e meia após a dose tóxica de paracetamol (400 mg/kg) e 4 horas após a administração de paracetamol os ratinhos foram sacrificados.

Na primeira parte das experiências, os ratinhos que foram administrados com NACA tiveram uma taxa de sobrevivência de 100%, enquanto apenas 60% dos ratinhos administrados com NAC sobreviveram. (Khayyat *et al.*, 2016)

Já na segunda parte das experiências, foram medidos vários parâmetros como os níveis intracelulares e mitocondriais de GSH e da sua forma oxidada (Glutathione Disulfido – GSSG), de Glutathione Redutase, Malondialdeído, Alanina transaminase (ALT) e por fim Glutamato desidrogenase (GDH). (Khayyat *et al.*, 2016)

Os níveis intracelulares e mitocondriais de GSH aumentaram 66,5% em relação ao controlo e os níveis de GSSG diminuíram no grupo de ratinhos aos quais foi administrado NACA, o que revela que a NACA tem um maior efeito antioxidante que a NAC, que não foi capaz de restabelecer os níveis de GSH nem de GSSG. O efeito da NACA na enzima Glutathione Redutase, que promove a transformação de GSSG em GSH, também foi positivo, conseguindo recuperar a actividade desta enzima, enquanto a NAC não foi capaz. Os níveis

de Malondialdeído, indicador da peroxidação lipídica (que está presente num caso de hepatotoxicidade por ingestão de paracetamol), diminuíram no grupo administrado com NACA, quando estes níveis não diminuíram no grupo da NAC. Como um aumento da ALT é indicador de dano hepático, este parâmetro foi medido e nos ratinhos tratados com NACA os níveis desta enzima sofreram uma redução, no entanto nos ratinhos tratados com NAC essa redução não foi significativa. Tal como a ALT, a GDH também é indicadora de dano hepático e os seus níveis diminuíram no grupo de ratinhos aos quais foi administrado NACA, mas no grupo que se administrou NAC este parâmetro não sofreu qualquer efeito.(Khayyat et al., 2016)

Este estudo conseguiu demonstrar que a NACA seria uma boa alternativa terapêutica à NAC e provou ter melhores resultados nos parâmetros avaliados. No entanto, mais estudos terão de ser realizados de modo a conseguir demonstrar a eficácia e segurança terapêutica em humanos.(Khayyat et al., 2016)

8.2.2 Mito-Tempo

O Mito-tempo (MT) é um antioxidante que tem como alvo a mitocôndria. Este composto é a combinação do antioxidante nitróxido piperidino (Tempo), que mimetiza a ação da Superóxido Dismutase (SOD) com o catião lipofílico trifenilfosfónio (TPP⁺), um catião capaz de acumular vários *folds* na mitocôndria através de um potencial de membrana, tornando o MT um composto com elevada actividade *scavenger* de radicais livres. (Du et al., 2016)

Na primeira parte do estudo de Du et al., foi testada a diferença terapêutica do MT e do TPP⁺, com o objectivo de comprovar que o MT tem potencial terapêutico nos fenómenos que ocorrem na mitocôndria após uma ingestão excessiva de paracetamol. Administrou-se 300 mg/kg de peso corporal de cada ratinho e uma hora e meia depois administrou-se o MT (10 mg/kg) ou 20 mg/kg) e o TPP⁺ (6.1 mg/kg ou 100 mg/kg). O TPP⁺ em dose superior (100 mg/kg) demonstrou ter diminuído a formação de aductos de nitrotirosina mas não teve qualquer efeito nos níveis de ALT em comparação ao grupo controlo administrado unicamente com paracetamol. Porém, o seu efeito terapêutico foi muito menor do que o demonstrado pelo MT. (Du et al., 2016)

Na segunda parte do estudo foi estudada a capacidade terapêutica do MT versus a da NAC (na dose de 500 mg/kg) e ainda capacidade dos dois compostos em simultâneo. (Du et al., 2016)

Ficou demonstrado que o MT não é capaz de prevenir a formação dos aductos de proteína nem restaurar os níveis de GSH, mesmo quando administrado uma hora e meia

após a ingestão tóxica de paracetamol, porque não previne a formação do NAPQI. (Du *et al.*, 2016)

Por outro lado, o MT foi capaz de prevenir a formação dos aductos de nitrotirosina nas áreas centrilobulares, que indica que este composto previne a formação de peroxinitrito e a fragmentação do DNA, mostrando que é capaz de inibir a translocação da BAX e evitar a libertação de proteínas mitocondriais. Este facto mostra que o MT consegue diminuir o stress oxidativo na mitocôndria e consequentemente previne a perda de função deste organelo porque entra por transporte activo, atingindo uma maior concentração e por sua vez uma melhor eficácia terapêutica. Assim, este composto conseguiu diminuir os valores de ALT e reduziu a necrose celular. (Du *et al.*, 2016)

Quanto à comparação com o efeito terapêutico da NAC, o MT mostrou ter uma eficácia terapêutica maior do que a NAC isolada e do que em combinação com a NAC. Curiosamente, o MT em combinação com a NAC, obteve melhores resultados do que a NAC isolada, levando a concluir que o MT pode potenciar o efeito da NAC. Estas diferenças são devido a estes dois compostos terem mecanismos de ação diferentes. A NAC, por sua vez, actua na síntese de GSH no citosol, que depois entra na mitocôndria onde vai captar os ROS e o peroxinitrito, enquanto o MT evita formação de peroxinitrito. (Du *et al.*, 2016)

Por fim, é possível concluir que o MT pode ser um potencial fármaco a ser utilizar em intoxicações por paracetamol, pois mostrou uma boa eficácia terapêutica em ratinhos no estudo de Du *et al.* e um efeito benéfico na mitocôndria. Contudo, mais estudos serão necessários para comprovar a sua eficácia em humanos.

8.2.3 Nanopartículas hidrofílicas - Fulereno poli-hidroxiado ($C_{60}(OH)_{10}$)/ 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina

Os Fullerenos são moléculas grandes e esféricas constituídas apenas por átomos de carbono, com propriedades antioxidantes e ainda capazes de captar radicais livres. No entanto, têm como desvantagem a sua fraca solubilidade em água. Mas os seus derivados poli-hidroxiados ($C_{60}(OH)_{10}$) já não apresentam esta desvantagem, tornando-os candidatos para combater o stress oxidativo e eliminar as espécies oxidantes. A sua formulação em nanopartículas com superfície de ciclodextrinas hidrofílicas (HP- β -CD) leva a uma melhor absorção e uma menor ocorrência de interações hidrofóbicas. (Umezaki *et al.*, 2015)

Umezaki *et al.* prepararam estas nanopartículas hidrofílicas $C_{60}(OH)_{10}$ com superfície de ciclodextrinas (HP- β -CD) e estudaram o seu efeito nos danos hepáticos produzidos pela ingestão excessiva de paracetamol em ratinhos. Administrou-se 400 mg/kg de paracetamol e meia hora após administrou-se a solução de nanopartículas $C_{60}(OH)_{10}$ / HP- β -CD em

concentrações (100 mg/kg e 200 mg/kg) e no outro grupo de ratinhos administrou-se NAC (200 mg/kg). Utilizou-se ainda uma solução de Fulereo poli-hidroxiado para testar o efeito do revestimento das ciclodextrinas. Foram medidos os valores das transaminases (Alanina Transaminase e Aspartato transaminase) e realizaram testes histológicos aos tecidos hepáticos depois de sacrificar os ratinhos, com o intuito de avaliar os danos hepáticos nos mesmos. (Umezaki *et al.*, 2015)

A solução de Fulereo poli-hidroxiado não mostrou qualquer impacto na redução dos níveis das transaminases, enquanto a solução de $C_{60}(OH)_{10}$ / HP- β -CD obteve uma significativa redução nesses níveis e ainda aumentou a taxa de sobrevivência, em comparação com o grupo de ratinhos ao qual apenas foi administrado paracetamol. Esta solução de $C_{60}(OH)_{10}$ / HP- β -CD também demonstrou ter um papel importante da diminuição dos aductos de nitrotirosina, que foi observado pela diminuição das manchas desses aductos (por uma técnica de imunohistoquímica) no tecido hepático 4 horas após a administração da dose tóxica de paracetamol. Estes Fulerenos têm a capacidade de entrar na mitocôndria, portanto é possível que tenham ação neste organelo e sejam capazes de diminuir o stress oxidativo através da captação de ROS e de peroxinitrito. (Umezaki *et al.*, 2015)

A nanopartícula $C_{60}(OH)_{10}$ / HP- β -CD mostrou no estudo ter um efeito terapêutico semelhante ao da NAC e apesar do mecanismo de ação ser diferente, acredita-se que utilizando-os em combinação poderia ser benéfico no tratamento destas intoxicações. (Umezaki *et al.*, 2015)

9. O papel do Farmacêutico nos casos de Intoxicação por Paracetamol

O Farmacêutico, enquanto profissional de saúde e especialista do medicamento, deve ter um papel ativo na prevenção e no diagnóstico de intoxicações por paracetamol.

O Farmacêutico, no âmbito da Farmácia Comunitária, deve comunicar aos utentes, de forma clara e de acordo com o tipo de utente, a doses terapêuticas do paracetamol, elucidando as doses máximas por dia, tanto para adulto como para lactentes e crianças. Caso esteja perante uma situação em que se suspeita de uma intoxicação por paracetamol, o Farmacêutico deve encaminhar o doente para o Serviço de Urgência. Deste modo, o doente será observado por um médico e quanto mais cedo for administrado o antídoto N-acetilcisteína, há uma maior possibilidade do doente recuperar sem lesões hepáticas graves.

Já o Farmacêutico Hospitalar, deve garantir, através da validação do perfil farmacoterapêutico do utente, que o protocolo de N-acetilcisteína está a ser realizado correctamente, respeitando a quantidade de fármaco, o solvente, os volumes de diluição e tempos de administração. Também pode, através da Visita Clínica, acompanhar de perto o doente, verificando, em conjunto com os médicos e os enfermeiros, as melhorias, o estado da função hepática e ainda, caso se trate de uma Ingestão Medicamentosa Voluntária, recorrer a um Psiquiatra. Através da Reconciliação Terapêutica, o Farmacêutico deve ainda comunicar-lhe a posologia correta do paracetamol, na tentativa de que a situação não se repita.

10. Conclusão

As intoxicações por paracetamol são, em muitos países, a causa principal de Falência Hepática Aguda. Isto torna este tema desafiante e com uma grande importância na sua abordagem.

Para melhor compreender o mecanismo de hepatotoxicidade, é necessário conhecer bem o metabolismo deste fármaco. Por ação das enzimas Citocromo P450 (CYP450), nomeadamente da CYP2E1, ocorre a formação do metabolito tóxico, o NAPQI, que em doses terapêuticas se conjuga com a Glutathione, formando-se o ácido mercaptúrico, que é rapidamente eliminado por via renal. Já em doses elevadas, há um esgotamento das reservas de Glutathione e o NAPQI acumula-se nos hepatócitos, sendo capaz de se ligar às proteínas mitocondriais, levando à disfunção mitocondrial. A célula deixa de produzir ATP e ocorre transição da permeabilidade mitocondrial, de seguida abertura dos poros que permite a libertação de proteínas intramembranares, como o citocromo C. Este vai ativar a caspase-9, que se liga ao APAF-1, desencadeando o fenómeno de apoptose celular.

Como ocorre a necrose dos hepatócitos, a função hepática irá ficar comprometida, levando a manifestações clínicas como a coagulopatia, icterícia, hepatomegalia sendo a mais grave a Encefalopatia Hepática, que pode levar ao coma e conseqüentemente à morte.

Também pode ocorrer Insuficiência Renal, embora este fenómeno ocorra em apenas 1-2% dos doentes. Também o mecanismo de nefrotoxicidade envolve o NAPQI, pois a enzima CYP2E1 também está presente no rim e o paracetamol também sofre metabolização neste órgão.

A NAC é o fármaco utilizado para as intoxicações por paracetamol. É administrada segundo um protocolo, o chamado Protocolo de Prescott. No entanto, este protocolo leva ao aparecimento de reações adversas como perturbações gastrointestinais e ainda mais grave, reações anafiláticas. Com o objectivo de contornar essas reações decorrentes do protocolo, alguns investigadores têm-se dedicado a estudar algumas alterações ao protocolo. Estes têm conseguido bons resultados e uma diminuição da percentagem de ocorrência das reações adversas.

Por outro lado, alguns investigadores também têm investido na descoberta de novos compostos com capacidade antioxidante que possam ser úteis no tratamento destas intoxicações.

A NACA é uma forma modificada da NAC, com maior capacidade lipofílica e conseqüentemente, melhor permeabilidade nas membranas, exigindo uma dose menor. Neste estudo, a NACA conseguiu aumentar a taxa de sobrevivência e diminuiu as enzimas

que indicam dano hepático, como a ALT e a GDH. Foram obtidos melhores resultados do que com a NAC.

Já o Mito-tempo é um antioxidante com capacidade de actuar na mitocôndria, com propriedades de *scavenger* de radicais livres. No estudo, este preveniu a formação de peroxinitrito, diminuindo a necrose celular. Também foi capaz de diminuir os níveis de ALT. Neste estudo também se conseguiram melhores resultados do que com a NAC.

As nanopartículas hidrofílicas $C_{60}(OH)_{10}$ / HP- β -CD foram formuladas de modo a tirar partido da ação antioxidante dos Fullerenos, com uma melhor solubilidade e melhor absorção. Esta solução obteve resultados equiparáveis à NAC, diminuindo os níveis de transaminases e a formação de aductos de tirosina e ainda um aumento na taxa de sobrevivência nos ratinhos.

Estes estudos tanto os de alteração ao Protocolo de Prescott como os dos compostos novos são bastante promissores. Todavia é necessário realizar mais estudos, principalmente nos dos novos compostos, visto que estes apenas foram testados em animais roedores. Só assim é possível comprovar a segurança e a eficácia terapêutica em humanos, para que sejam possíveis fármacos a utilizar no futuro no tratamento das Intoxicações por Paracetamol.

11. Bibliografia

BATEMAN, D.; DEAR, J.; THANACOODY, H. *et al.* (2014). - Reduction of adverse effects from intravenous acetylcysteine treatment for paracetamol poisoning: A randomised controlled trial. **The Lancet**. vol. 383: 697–704.

BATEMAN, D. N. (2015). - Changing the Management of Paracetamol Poisoning. **Clinical Therapeutics**. vol. 37 n° 9 : 2135–2141.

DING, Y.; LI, Q.; XU, Y. *et al.* (2016). - Attenuating Oxidative Stress by Paeonol Protected against Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity in Mice. **PLOS one**. vol. 11 n°5 : 1–14.

DU, K.; FARHOOD, A.; JAESCHKE, H. (2016). - Mitochondria- targeted antioxidant Mito-Tempo protects against acetaminophen hepatotoxicity. **Archives of Toxicology**. vol.90. DOI: 10.1007/s00204-016-1692-0.

EUGENIO-PÉREZ, D.; MONTES DE OCA-SOLANO, H. A.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. (2016). - Role of food-derived antioxidant agents against acetaminophen-induced hepatotoxicity. **Pharmaceutical Biology**. 1–13. DOI: 10.3109/13880209.2016.11150302.

GHANEM, C.; PÉREZ, M.; MANAUTOU, J.; MOTTINO, A. (2016). - Acetaminophen; From Liver To Brain: New Insights Into Drug Pharmacological Action and Toxicity. **Pharmacological Research**. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.02.020.

ISBISTER, G.; DOWNES, M.; MCNAMARA, K. *et al.* (2015). - A prospective observational study of a novel 2- phase infusion protocol for the administration of acetylcysteine in paracetamol poisoning. **Clinical Toxicology**. 1–7. DOI: 10.3109/15563650.2015.1115057.

KHAYYAT, A.; TOBWALA, S.; HART, M.; ERCAL, N. (2016). - N -acetylcysteine amide , a promising antidote for acetaminophen toxicity. **Toxicology Letters**. vol. 241: 133–142.

LANCASTER, E.; HIATT, J.; ZARRINPAR, A. (2014). - Acetaminophen hepatotoxicity: an updated review. **Archives of Toxicology**. vol. 89: 193–199.

MAES, M.; MCGILL, M.; SILVA, T. *et al.* (2016). - Involvement of connexin43 in acetaminophen-induced liver injury. **Molecular Basis of Disease**. 1–45. DOI: 10.1016/j.bbadis.2016.02.007.

MAZER, M.; PERRONE, J. (2008). - Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Journal of Medical Toxicology**. vol. 4: 2–6.

MCGILL, M. R.; JAESCHKE, H. (2014). - Metabolism and Disposition of Acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. **Pharmacological Research**.

1–23. DOI: 10.1007/s11095-013-1007-6.

OGILVIE, J. D.; RIEDER, M. J.; LIM, R. (2012). - Acetaminophen overdose in children. **Canadian Medical Association Journal**. vol. 184 n°3 : 1492–1496.

PARK, G.; MO, K.; CHOI, S.; OH, D. (2016). - Aconitum carmichaelii protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity via B-cell lymphoma-2 protein-mediated inhibition of mitochondrial dysfunction. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. vol. 42: 218–225.

Resumo das Características do Medicamento Ben-u-ron 500 mg. (2014). **INFARMED**.

Resumo das Características do Medicamento Fluimucil 200mg/mL concentrado para solução para perfusão. (2014). **INFARMED**.

UMEZAKI, Y.; IOHARA, D.; ANRAKU, M. *et al.* (2015). - Preparation of hydrophilic C₆₀(OH)₁₀ /2-hydroxypropyl-β-cyclodextrin nanoparticles for the treatment of a liver injury induced by an overdose of acetaminophen. **Biomaterials**. vol. 45: 115–123.

WARD, R.; BATES, B.; BENITZ, W. *et al.* (2001). - Acetaminophen Toxicity in Children. **American Academy of Pediatrics**. vol. 108: 1020–1024.

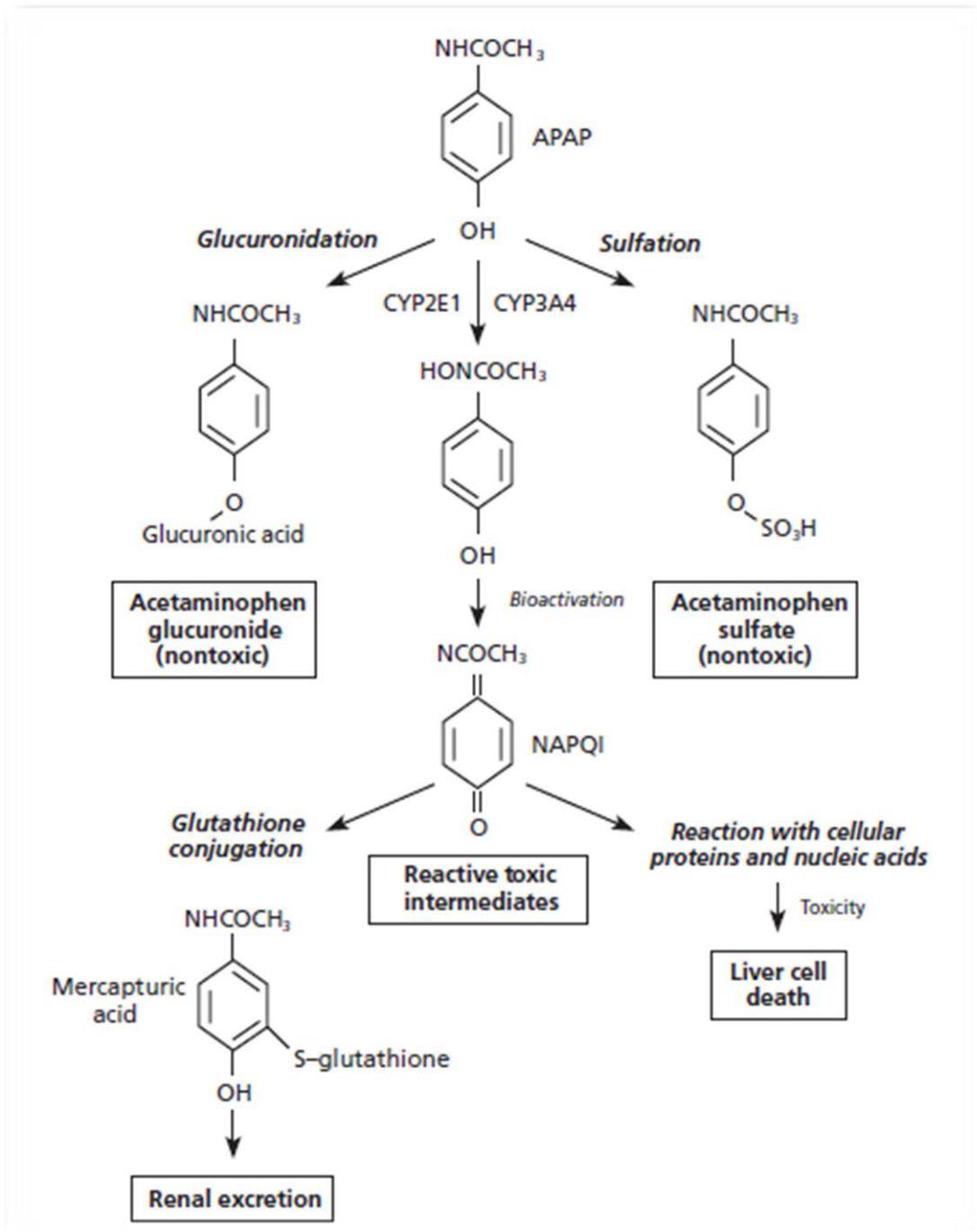
WONG, A.; GRAUDINS, A. (2015). - Simplification of the standard three-bag intravenous acetylcysteine regimen for paracetamol poisoning results in a lower incidence of adverse drug reactions. **Clinical Toxicology**. 1–5. DOI: 10.3109/15563650.2015.1115055.

WONG, A.; GRAUDINS, A. (2016). - N-acetylcysteine regimens for paracetamol overdose: Time for a change? **Emergency Medicine Australasia**. 1–3. DOI: 10.1111/1742-6723.12610.

YAN, T.; WANG, H.; ZHAO, M. *et al.* (2016). - Glycyrrhizin protects against acetaminophen-induced acute liver injury via alleviating TNFalpha mediated apoptosis. **Drug metabolism and disposition**. vol. 44: 720–731.

12. Anexos

Anexo I – Esquema do Metabolismo do Paracetamol (adaptado de OGILVIE; RIEDER e LIM. (2012). Acetaminophen overdose in children. **Canadian Medical Association Journal**.)



Anexo 2 – Esquema do Mecanismo de Hepatotoxicidade do Paracetamol (adaptado de GHANEM; PÉREZ; e MOTTINO. (2016). - Acetaminophen; From Liver To Brain: New Insights Into Drug Pharmacological Action and Toxicity. **Pharmacological Research**.)

