UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

Curso de Graduação em Física Médica

KAYQUE ROBERTO FRACAROLLI DE CAMARGO

Simplificação dos resultados no teste respiratório com aminopirina marcada com isótopo estável do ^{13}C para avaliação da cirrose hepática

Botucatu
2016

Kayque Roberto Fracarolli de Camargo

Simplificação dos resultados no teste respiratório com aminopirina marcada com isótopo estável do ^{13}C para avaliação da cirrose hepática

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

Orientador: Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa

Botucatu
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Camargo, Kayque Roberto Fracarolli de.
Simplificação dos resultados no teste respiratório com aminopirina marcada com isótopos estável do 13C para avaliação da cirrose hepática / Kayque Roberto Fracarolli de Camargo. - Botucatu, 2016

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Física Médica) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Vladimir Eliodoro Costa
Capes: 20900007

1. Fígado - Cirrose. 2. Isótopos estáveis. 3. Carbono 13. 4. Medicamentos - Administração.

Palavras-chave: Carbono 13; Cirrose hepática ; Isótopos estáveis ; Teste respiratório .

Agradecimentos

- Primeiramente agradeço a Deus por me proporcionar essa oportunidade, me rodeando de pessoas maravilhosas.
- Aos meus pais, pessoas que tanto amo e admiro, e que a gratidão não pode ser expressa em palavras.
- Aos meus familiares, pelo apoio e pela união que sempre estiveram pressentes nessa jornada.
- Ao Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa, agradeço pela orientação, a paciência e pela amizade construída nesse período.
- Ao Prof. Dr. Giovanni Faria Silva, agradeço por todo apoio, espaço cedido e disponibilidade, sem ele nada teria acontecido.
- A enfermeira Mari Nilce Perez, por toda atenção, ajuda e simpatia.
- Ao Centro de Isótopos, e todos os funcionários pelo convívio e amizade.
- A todos os professores que têm fundamental importância em minha formação, contribuindo de maneira direta e indireta no processo de aprendizagem.
- Aos amigos e irmãos da república RT, pelo companheirismo, pelos momentos inesquecíveis e risadas.

RESUMO

Para avaliação dos testes respiratórios utiliza-se o "delta over baseline-value" (DOB), que é expresso pela subtração do enriquecimento isotópico amostral ($\delta^{13}C‰_{amostra}$) pelo enriquecimento isotópico basal ($\delta^{13}C‰_{basal}$). Outro método de avaliação é o percentual de dose recuperada (PDR), que consiste em corrigir o teste para cada paciente, levando em consideração o peso, a altura, a quantidade de fármaco administrado, DOB, e a produção de CO2. Observou-se que os métodos de DOB e PDR se assemelham-se, podendo assim o DOB ser usado para avaliar o teste respiratório de aminopirina marcada no carbono 13 (^{13}C-ABT). O objetivo desse trabalho é demonstrar que em testes respiratórios com carbono 13, no qual a dose do fármaco não é única, pode-se utilizar a razão isotópica DOB sem a necessidade de aplicar o PDR. Utilizou-se para este estudo o ABT, para avaliação hepática de pacientes portadores de cirrose por HVC. O fármaco utilizado para o teste foi adquirido em pó e administrado via oral pelo paciente na quantidade de 2 mg/kg, diluída em 200 ml de água. Foram estudados 16 pacientes, do Ambulatório de Hepatites Virais de Botucatu, divididos em 2 grupos, controle e cirrótico child A. Para o teste foi realizado a coleta o sopro basal, e depois da ingestão do fármaco a coleta do sopro foi realizada a cada 2,5 minutos até meia hora, a cada 5 minutos até 1 hora, e a cada 10 minutos até 2 horas, totalizando 2 horas. Para a análise do sopro utilizou-se o ABCA-IRMS (Automated Breath Carbon Analyzer- Isotope-ratio mass spectrometry). Utilizou-se os gráficos da curva de turnover de ^{13}C em DOB e em PDR para comparar os resultados. Observou-se que não há diferença significativa nos dois diferentes métodos de avaliação, podendo concluir assim que o DOB é confiável para avaliação do teste de cirrose hepática.

Palavras-chave: carbono 13, isótopos estáveis, teste respiratório, cirrose hepática.

Abstract

For evaluation of respiratory tests it was used the "delta over baseline-value" (DOB), which is expressed by subtracting the sample isotopic enrichment ($\delta^{13}C$ ‰ sample) at baseline isotopic enrichment ($\delta^{13}C$‰ basal). Another evaluation method was the percentage of recovered dose (PDR), which is to correct the test for each patient, taking into consideration the weight, the height, the amount of drug administered, DOB, and the production of CO2. It was observed that the methods of DOB and PDR are resemble, so the DOB can be used to evaluate the aminopyrine breath test marked on carbon 13 (^{13}C-ABT). The aim of this study is to demonstrate that in breath tests with carbon 13, in which the dose of the drug is not unique, you can use the isotopic ratio DOB without the need to apply the PDR. It was used for this study ABT for liver evaluation of patients with cirrhosis due to HCV. The drug used for the test was purchased powder and administered orally by the patient in the amount of 2 mg / kg diluted in 200ml of water. We studied 16 patients, from Viral Hepatitis Clinic of Botucatu, divided into 2 groups, control and cirrhotic child A. For the test was performed to collect baseline breath, and after drug intake collection blow was performed every 2,5 minutes to half hour, every 5 minutes to 1 hour, and every 10 minutes up to 2 hours, a total of 2 hours. For the analysis of blowing was used the ABCA-IRMS (Automated Breath Carbon Analyzer- Isotope-ratio mass spectrometry). It was used those graphs ^{13}C turnover curve PDR and DOB to compare the results. There was no significant difference in the two different methods of assessment may conclude as soon as the DOB is reliable for assessment of liver cirrhosis test.

Keywords: carbon 13, stable isotopes, breath test, hepatical cirrhosis.

Sumário

1.Introdução **8**

2.Objetivo **11**

3.Metodologia **11**

3.1. Delineamento experimental **11**

3.2 Seleção dos voluntários **11**

3.3 Aplicação do ^{13}C-ABT **12**

3.4 Análise do sopro por espectrometria de massa de razão isotópica **12**

3.5 Análise dos resultados **12**

4.Resultados e Discussões **13**

5.Conclusão **17**

6.Referências Bibliográficas **17**

ANEXO I **20**

ANEXO II **23**

ANEXO III **24**

1.Introdução

Isótopos estáveis são elementos químicos com números de massa (A) diferentes e número atômico (Z) iguais. A diferença se encontra no número de nêutrons. Esses, por serem estáveis, não emitem radiação. Atualmente são aplicados nas diversas áreas do conhecimento, como nas ciências exatas, ciências biológicas e médicas. Na medicina os isótopos estáveis são usados no teste respiratório para medir a razão isotópica do carbono [1]. Os dois isótopos estáveis do carbono são: ^{12}C e o ^{13}C. Para quantifica-los usa-se a razão isotópica, que é definida pela razão isotópica do isótopo menos abundante em relação ao isótopo mais abundante ($^{13}C/^{12}C$) referentes em uma amostra [2].

O carbono ^{13}C é usado no teste respiratório em humanos, para avaliar a função hepática, usando a razão isotópica do carbono do sopro da respiração ($^{13}CO_2/^{12}CO_2$) do paciente antes e depois da ingestão de um substrato marcado com ^{13}C. O substrato ou fármaco marcado será metabolizado pelo organismo e expelido na forma de $^{13}CO_2$. Alguns testes verificam apenas a diferença entre o sopro basal e o sopro pós administração do fármaco, sendo chamados assim de teste estáticos (qualitativos). Outro método de avaliação é o teste dinâmico (quantitativo), o qual consiste em coletar o sopro no decorrer do tempo, formando uma curva que irá demonstrar o comportamento dos resultados [3].

Ultimamente vários estudos estão desenvolvendo métodos precisos e não invasivos para patologias gastrointestinais, para avaliação hepática o "^{13}C-*Liver Function Breath Test*" (^{13}C-LFBT) é utilizado [4]. O fígado desempenha um papel muito importante no organismo, ele é responsável pela metabolização de substâncias, muitas de suas atividades ainda não podem ser substituídas por tecnologias modernas. A insuficiência hepática é uma das consequências mais graves relacionada ao fígado, porém seu diagnóstico só ocorre quando a capacidade hepática já está muito comprometida. Por ser um órgão de função diversifica seu comprometimento gera consequências em diversos sistemas fisiológicos [5].

Pacientes com cirrose, infectados com Hepatite Viral C – HVC, tem maior probabilidade de desenvolver carcinoma hepatocelular – CHC. O risco cumulativo para que portadores de cirrose adquiram CHC, em cinco anos, é de 5 a 30%. O CHC é o segundo tipo de câncer que mais mata no mundo, e o quinto mais frequente em homens e o sétimo em mulheres, e sua principal causadora é a cirrose (cerca de 90% dos casos) [6].

O principal exame para o diagnóstico é a biopsia hepática percutânea, um método demorado, invasivo e que causa grande incômodo ao paciente. Para classificar o grau de doenças hepáticas crônicas e cirrose existe a classificação de Child-Pugh. Esta classificação relaciona cinco parâmetros, sendo eles: encefalopatia, ascite, bilirrubina sérica, albumina sérica, e tempo de protrombina (TP) normalizado através do INR (razão normalizada internacional). Os parâmetros e suas determinadas pontuações podem ser observados na tabela 1. [7]:

Tabela 1: Parâmetros e suas determinadas pontuações para a classificação Child-Pugh.

Parâmetros	**1 Ponto**	**2 Pontos**	**3 Pontos**
Encefalopatia	Ausente	Grau I, II	Grau III
Ascite	Ausente	Facilmente controlada	Refratária
Bilirrubina sérica (mg/dl)	<2	2-3	>3
Albumina sérica (g/dl)	>3.5	3.5 a 2.8	>2.8
TP(s)/INR	1 a 3 / <1,7	4-6 / 1,7 a 2,3	>6 / >2,3

A classificação Child-Pugh é a soma da pontuação dos parâmetros, e o resultado quantificado estará de acordo com o grau de comprometimento que o paciente se encontra. Existem três tipos de estágios diferentes de doenças crônicas e cirroses, sendo elas: A, em estágio inicial; B em estágio intermediário; C em estágio grave [8]. A classificação da pontuação do Child-Pugh segue os seguintes critérios: A (de 5 a 6 pontos); B (de 7 a 9 pontos); e C (10 a 15 pontos) [9].

O ^{13}C-LFBT pode ser avaliado em diversas regiões do hepatócito (microssomal, citosólica ou mitocondrial), para cada região existe um fármaco específico marcado com o ^{13}C. A região microssomal pode possibilitar analisar a função hepatocelular em fibrose e cirrose [10]. A aminopirina " ^{13}C-*Aminopyrine Breath Test*" (^{13}C-ABT) é um dos fármacos mais utilizados para a região microssomal que pode detectar alterações histológicas no fígado. Proporcionando a análise quantitativa da massa hepática funcional, para determinar a presença de cirrose [11].

A aminopirina marcada será metabolizada pelo fígado, através de dois processos de metabolização de N-desmetilação catalisadas pelas enzimas do citocromo P450. A primeira parte da reação é a N-desmetilação da aminopirina em metil-aminoantipirina e

formaldeído, em seguida metil-aminoantipirina sofrerá N-desmetilação formando aminoantipirina e formaldeído. Os formaldeídos gerados pela N-desmetilação são oxidados em ácido fórmico e bicarbonato, no qual o bicarbonato pode ser armazenado no organismo, ou eliminado na forma de gás carbônico através da expiração. Dessa forma, a saída de gás carbônico marcado com ^{13}C representa a atividade enzimática do citocromo P450 na função hepática microssomal [12].

O ^{13}C-ABT possui vantagens por não sofrer interferência de resultados em pacientes fumantes e não fumantes, além do fluxo sanguíneo não influenciar no resultado do teste, e pode ser usado para prognóstico de hepatite alcoólico e hepatite crônica. [13] O "*delta over baseline-value*" (DOB) é a relação entre a amostra enriquecida com o fármaco marcado, subtraído da amostra basal sem o fármaco marcado ($\delta\,^{13}C - \delta\,^{13}C_{basal}$), ele é usado para normalizar os dados [14].

O percentual de recuperação de dose (PDR) e o percentual de dose cumulativa (CPDR) são meios para avaliar o teste respiratório, corrigindo o teste para cada indivíduo, levando em consideração a altura, o peso e a produção de CO_2, que será calculado usando as seguintes equações [15]:

$$^{13}C_PDR = \left(DOB \times R_{PDB} \times 10^{-3} \times V_{CO_2} \Big/ \left({}^{m}/_{MW} \right) \times n \times \left({}^{E}/_{100} \right) \right) \times 10^{2} \quad (1)$$

$$CPDR = \int (PDR)\, dT \quad T{=}t \quad T{=}0 \qquad (2)$$

Onde: $DOB = \delta\,^{13}Camostra - \delta\,^{13}Cbasal$; R_{PDB} = 0.0112372; V_{CO2} = $300mmol/(BSA/h)$; BSA = 0,024265 × $W^{0,5378}$ × $H^{0,3964}$. O R_{PDB} corresponde a razão isotópica do padrão internacional (Pee Dee belemnite), V_{CO2} a produção de CO_2, m a quantidade de substrato administrado em mg, MW o peso molecular do substrato, n o número de átomos de ^{13}C na molécula do substrato, E o enriquecimento isotópico de ^{13}C, BSA é a área superficial corpórea, W o peso do paciente e H a altura do paciente [16].

O PDR descreve o valor do fármaco marcado na forma de $^{13}CO_2$ exalado pelo paciente, e o CPDR em um espaço de tempo determinado, apresenta a quantidade de fármaco metabolizado pelo o paciente [17]. Na literatura todos os trabalhos relacionados com o teste respiratório para avaliação hepática, são analisados usando PDR, mas nenhum utilizou apenas o DOB para analisar os resultados.

2.Objetivo

O objetivo desse trabalho é avaliar os resultados do teste respiratório com aminopirina marcada com isótopo estável do ^{13}C (^{13}C-ABT) para avaliação da cirrose hepática sem o cálculo do percentual de recuperação de dose (PDR).

3.Metodologia

3.1. Delineamento experimental

Para avaliar os resultados do ^{13}C-ABT com e sem o cálculo do PDR, foram convidados 16 pacientes do sexo masculino, sendo 8 sadios e 8 diagnosticados com cirrose hepática classificada em Child-Pugh A. Os critérios de seleção dos voluntários foram: idade entre 45-65 anos; não estar diagnosticado com carcinoma hepático nem insuficiência renal crônica. Os voluntários foram selecionados no ambulatório de hepatite virais do Hospital das Clínicas de Botucatu, e no mesmo local foram submetidos ao ^{13}C-ABT. O preparo do ^{13}C-ABT e a análise das amostras de sopro foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais em Ciências da Vida – CIE do IBB/UNESP. Todos os procedimentos experimentais do estudo foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa local da Faculdade de Medicina de Botucatu.

3.2 Seleção dos voluntários

Todos os pacientes atenderam aos seguintes critérios de seleção para que estivessem aptos a participar do ^{13}C-ABT:

1) ser voluntário e concordar em participar;
2) possuir entre 45 e 65 anos de idade;
3) estar em jejum mínimo de 12 horas;
4) não estar diagnosticado com carcinoma hepático;
5) não estar diagnosticado com insuficiência renal crônica.

Os pacientes foram abordados pela equipe e convidados a participar do ^{13}C-ABT, os pacientes aptos a participarem e que aceitaram realizar o teste compareceram no ambulatório de hepatite virais do Hospital das Clínicas de Botucatu no dia agendado de

sua consulta, em jejum de 12 horas, responderam um questionário completo sobre dados físicos e patológicos e o teste foi realizado. Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisas clínicas (CEP) da FMB-UNESP ao qual recebe o seguinte número do parecer 1.068.249.

3.3 Aplicação do ^{13}C-ABT

A aminopirina marcada com ^{13}C (^{13}C-*aminopyrine*) para o ^{13}C-ABT foi administrada via oral, sendo 2mg/kg de massa corporal do paciente misturados a 200 ml de água. O ^{13}C-ABT utilizou: o sopro do paciente (CO_2), substrato marcado, tubo de vidro para coleta do sopro, canudo descartável para coletar o sopro no tubo. A aplicação do teste consistiu em:

1. Coletar o sopro do paciente em um tubo (amostra basal);
2. Ingerir via oral do a solução com aninopirina marcado com ^{13}C, na quantidade de 2 mg/kg por massa corporal;
3. Iniciar a contagem;
4. A cada dois minutos e meio coletar o sopro do paciente até o tempo de 30 minutos, depois a cada 5 minutos até o tempo de 60 minutos, e por fim, a cada 10 minutos até o tempo de 120 minutos;

3.4 Análise do sopro por espectrometria de massa de razão isotópica

Nas amostras de sopro foram analisadas a razão isotópica ($^{13}CO_2$/ $^{12}CO_2$). Para análise das amostras utilizou-se um ABCA-IRMS (Automated Breath Carbon Analyzer-Isotope-ratio mass spectrometry) da marca Sercon e modelo ABCA-2, que está instalado e em operação no CIE do IBB/UNESP. Os resultados da razão isotópica foram fornecidos em δ^{13}C em ‰, que é o percentual da razão isotópica em função de uma razão isotópica padrão R_{std} conforme equação 3.

$$\delta^{13}C = \left(\frac{R_{amostra}}{R_{std}} - 1 \right) \cdot 1000 \qquad (3)$$

3.5 Análise dos resultados

Para analisar os resultados foram gerados gráficos usando o *delta over baseline-value* (DOB), e o percentual de recuperação de dose (PDR) conforme equações 1 e 2, para o grupo controle e cirrótico, cada um com 16 pacientes.

4.Resultados e Discussões

A tabela 2 mostra as características dos pacientes voluntários e selecionados para o estudo.

Tabela 2. Características dos pacientes. Massa, altura, IMC (índice de massa corporal) e dose administrada de aminopirina (2 miligramas por quilograma) de cada paciente, onde C são os pacientes controle e Cr os cirróticos.

Paciente	Massa (kg)	Altura (m)	IMC	Dose
C1	87	1,63	32,7	174
C2	70	1,68	24,8	140
C3	85	1,77	27,1	170
C4	107	1,8	33,0	214
C5	96	1,82	29,0	192
C6	95	1,93	25,5	190
C7	90	1,86	26,0	180
C8	117	1,8	36,1	234
Cr1	103	1,85	30,1	206
Cr2	90	1,76	29,1	180
Cr3	83	1,78	26,2	166
Cr4	71	1,71	24,3	142
Cr5	102	1,77	32,6	204
Cr6	90	1,71	30,8	180
Cr7	83	1,73	27,7	166
Cr8	89	1,75	29,1	178

A Figura 1 mostra as curvas médias do grupo controle (C) e do grupo cirrótico (Cr), com seus respectivos erros padrão, utilizando em (A) a razão isotópica DOB e em (B) o PDR.

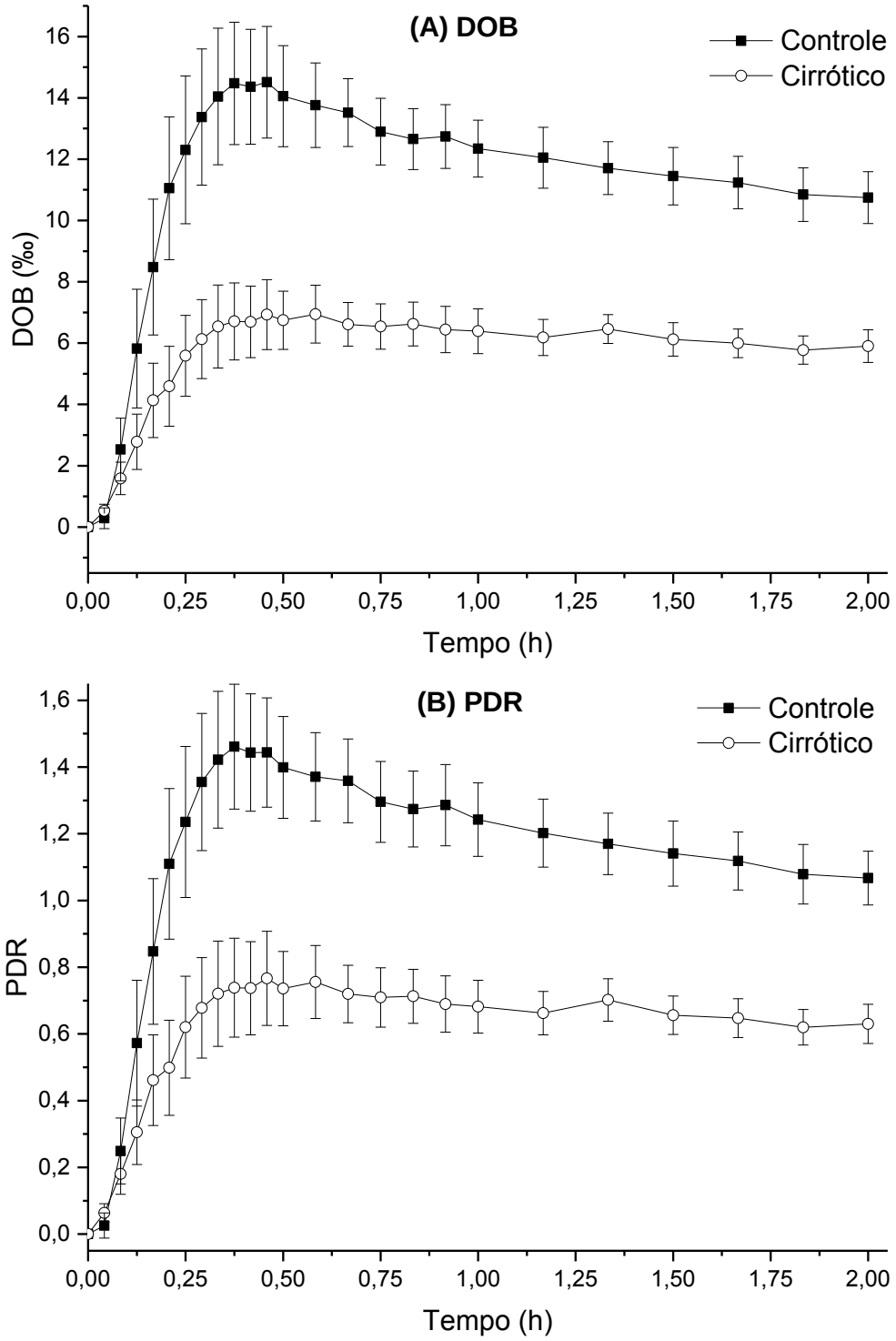

Figura 1: DOB e PDR para a média dos pacientes controle e cirróticos.

Podemos observar que tanto no resultado em DOB, quanto em PDR as curvas comportaram-se de forma semelhante, fornecendo uma análise que permite distinguir o grupo controle do cirrótico com um bom grau de confiabilidade.

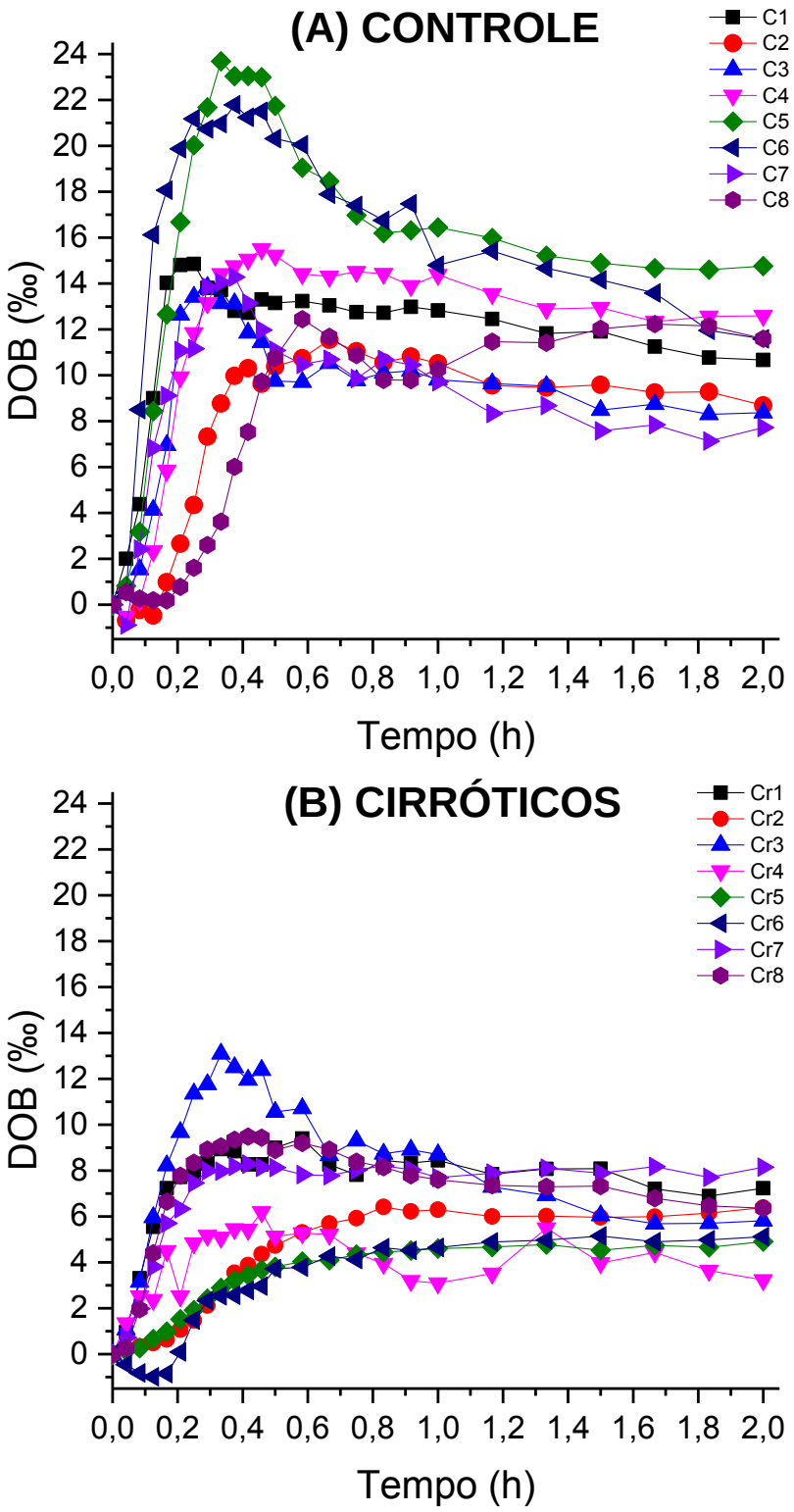

Figura 2: DOB para grupo controle (A), e grupo cirrótico (B).

A Figura 2 mostram as curvas individuais dos turnover da razão isotópica dos pacientes dadas em DOB, sendo os pacientes controle em (A), e os pacientes cirróticos em (B).

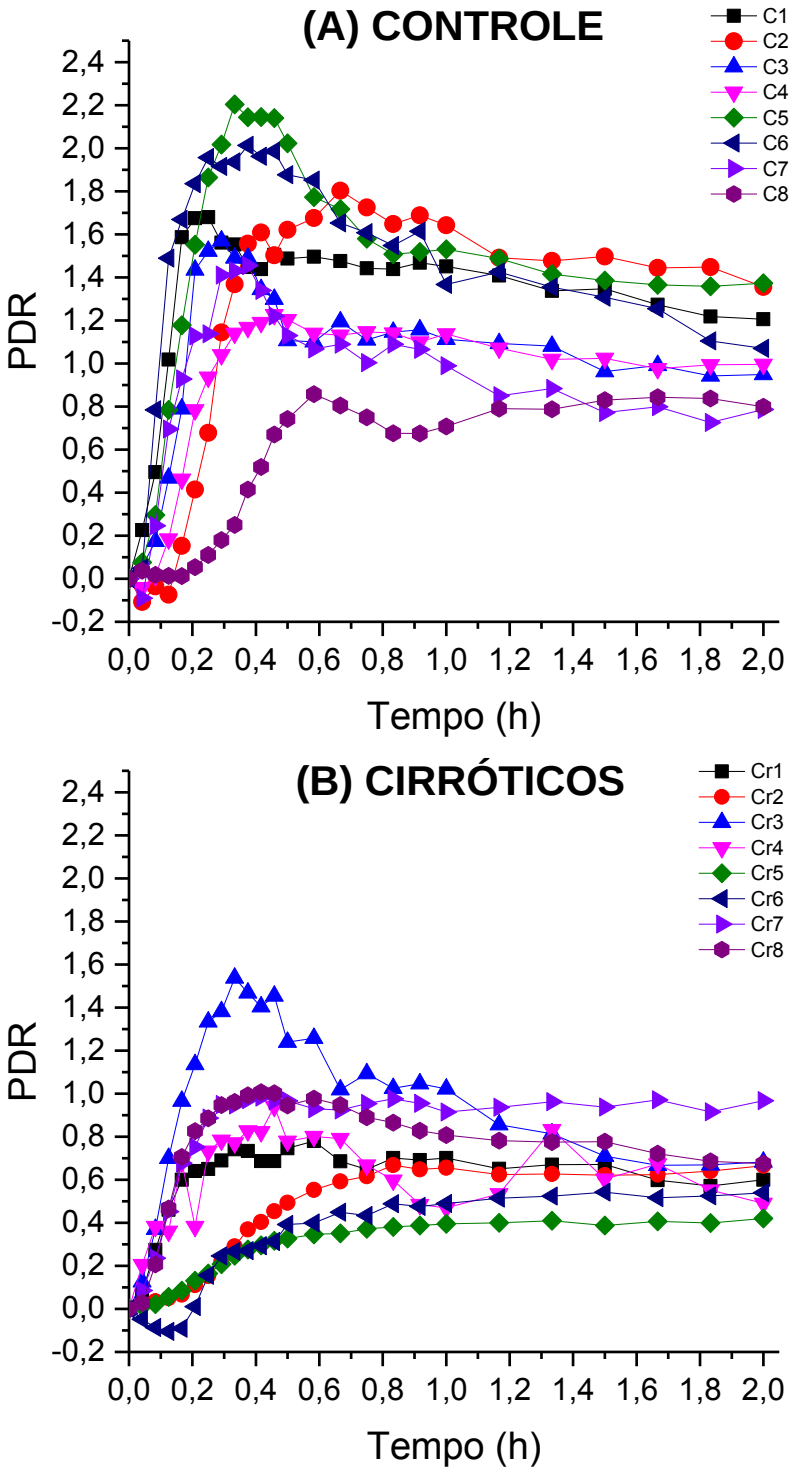

Figura 3: PDR para grupo controle (A), e grupo cirrótico (B).

Observamos que no grupo controle os valores concentram-se em uma faixa discreta em torno de 12 na razão isotópica DOB, enquanto o grupo cirrótico os valores ficaram em torno do valor 6.

A Figura 3 mostra 8 pacientes controle em (A) e 8 pacientes cirróticos em (B), utilizando o método de PDR para gerar os gráficos. Na figura 3 observamos no grupo controle valores mais dispersos com valores que variam de 1,6 a 1,2, enquanto que no grupo cirrótico os valores concentram-se próximos do valor de 0,6 PDR.

Comparando os resultados da razão isotópica do ^{13}C-ABT expressos em DOB e PDR, para pacientes, através da análise dos gráficos, ficou claro que o DOB e o PDR assemelham-se. Com a vantagem do DOB não ser necessário a aplicação de fórmulas elaboradas para corrigir o teste, onde se é usado apenas a subtração do sopro $\delta^{13}C_{amostra}$ (enriquecimento relativo da amostra em ‰) pelo $\delta^{13}C_{basal}$ (enriquecimento relativo do valor basal antes do paciente ingerir o substrato, em ‰). Portanto, a razão isotópica de DOB mostrou-se confiável, podendo ser utilizada para analisar os dados.

5.Conclusão

Concluímos que no teste respiratório com aminopirina marcada com isótopo estável do ^{13}C (^{13}C-ABT) para avaliação da cirrose hepática não é necessário o cálculo do percentual de recuperação de dose (PDR), podendo ser expresso em '*delta over-baseline*" (DOB).

6.Referências Bibliográficas

1. BRADEN, B. et al. 13C-breath tests: current state of the art and future directions. Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver, v. 39, n. 9, p. 795–805, set. 2007.

2. MUCCIO, Z.; JACKSON, G. P. Isotope Ratio Mass Spectrometry. The Analyst, v. 134, n. 2, p. 213–22, fev. 2009.

3. PIZZOFERRATO, M. et al. Specific 13C functional pathways as diagnostic targets in gastroenterology breath-tests: tricks for a correct interpretation. European review for medical and pharmacological sciences, v. 17 Suppl 2, n. Suppl 2, p. 45–50, 2013.

4. BRADEN, B. Methods and functions: Breath tests. Best practice & research. Clinical gastroenterology, v. 23, n. 3, p. 337–52, jan. 2009.

5. EVERSON, G. T. et al. Quantitative liver function tests improve the prediction of clinical outcomes in chronic hepatitis C: results from the Hepatitis C Antiviral Long-term Treatment Against Cirrhosis Trial. Hepatology (Baltimore, Md.), v. 55, p. 1019–29, 2012.

6. GOMES, M. A. et al. Carcinoma hepatocelular: epidemiologia, biologia, diagnóstico e terapias. Revista da Associacao Medica Brasileira, v. 59, n. 5, p. 514–524, 2013.

7. FORMAN, L. M.; LUCEY, M. R. Predicting the prognosis of chronic liver disease: an evolution from child to MELD. Mayo End-stage Liver Disease. Hepatology (Baltimore, Md.), v. 33, n. 2, p. 473–475, 2001.

8. ANGERMAYR, B. et al. Child-Pugh versus MELD score in predicting survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunt. Gut, v. 52, p. 879–885, 2003.

9. REUBEN, A. Child comes of age. Hepatology, v. 35, n. 1, p. 244–245, jan. 2002.

10. ARMUZZI, A. et al. Review article: breath testing for human liver function assessment. Alimentary pharmacology & therapeutics, v. 16, p. 1977–96, 2002.

11. AFOLABI, P. et al. Clinical utility of 13C-liver-function breath tests for assessment of hepatic function. Digestive Diseases and Sciences, v. 58, p. 33–41, 2013.

12. PIJLS, K. E. et al. Critical appraisal of 13C breath tests for microsomal liver function: Aminopyrine revisited. Liver International, v. 34, n. 5, p. 487–494, 2014.

13. AFOLABI, P. et al. Clinical utility of 13C-liver-function breath tests for assessment of hepatic function. Digestive Diseases and Sciences, v. 58, p. 33–41, 2013.

14. BRADEN, B. et al. 13C-breath tests: current state of the art and future directions. Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver, v. 39, n. 9, p. 795–805, set. 2007.

15. SOM, S. et al. Excretion kinetics of 13C-urea breath test: influences of endogenous CO2 production and dose recovery on the diagnostic accuracy of Helicobacter pylori infection. Analytical and Bioanalytical Chemistry, p. 5405–5412, 2014.

16. WU, I. C. et al. Metabolic analysis of 13C-labeled pyruvate for noninvasive assessment of mitochondrial function. Annals of the New York Academy of Sciences, v. 1201, p. 111– 120, 2010.

17. SOM, S. et al. Excretion kinetics of 13C-urea breath test: influences of endogenous CO2 production and dose recovery on the diagnostic accuracy of Helicobacter pylori infection. Analytical and Bioanalytical Chemistry, p. 5405–5412, 2014.

Anexos:

Anexo I

FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU -UNESP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Teste respiratório com isótopos estáveis do carbono para avaliação da função hepática nas fases da cirrose causada pela hepatite viral C

Pesquisador: Geraldo Gabriel Perez

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 43983015.2.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Física e Biofísica

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.068.249

Data da Relatoria: 19/05/2015

Apresentação do Projeto:

O teste respiratório com isótopos estáveis utilizando aminopirina marcada no carbono 13 (13C-ABT) é um método não invasivo que permite a avaliação quantitativa da massa hepática funcional. O objetivo deste estudo é estabelecer protocolos de aplicação deste teste para avaliação do estágio da cirrose hepática causada pela hepatite viral C (HVC). Será utilizado um espectrômetro de massa de razão isotópica automatizado (ABCA-IRMS) para análise do sopro dos pacientes, após a ingestão do substrato diluído, a cada 15 minutos, por 2 horas. Serão estudados 150 pacientes com cirrose hepática causada por HVC divididos em 3 grupos classificados por Child-pugh e um grupo de 50 pacientes saudáveis. Os sujeitos responderão também a um questionário sobre dados físicos e da doença. A análise dos dados consistirá na construção de curvas padrão com os intervalos de confiança, de acordo com sexo e classificação Childpugh A, B e C.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo é estabelecer protocolos de aplicação do teste da aminopirina marcada com carbono 13 (13CABT) para avaliação do estágio da cirrose hepática causada pela hepatite viral C (HVC).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são mínimos. Os benefícios incluem o maior conhecimento no uso de testes não

Endereço: Chácara Butignoli , s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 **E-mail:** capellup@fmb.unesp.br

Invasivos para o diagnóstico e acompanhamento de pacientes cirróticos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto atende aos requisitos das resoluções de pesquisa em seres humanos, está claro e bem redigido, e trata de tema pertinente. A linguagem do TCLE foi simplificada,conforme sugerido no último parecer. Os pesquisadores também incluíram o questionário que os pacientes preencherão. O cronograma é adequado, com início previsto em junho de 2015 e conclusão em 36 meses. O orçamento foi estimado em R$ 15.000,00, e não há informação quanto à fonte de financiamento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

No processo constam a declaração superintendente HC, do chefe departamento de Física e Clinica Médica, e do supervisor do centro de isótopos estáveis. A instituição proponente é o Instituto de Biociências de Botucatu (IBB).

Recomendações:

Não se aplica

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Parecer favorável à aprovação, sem necessidade de envio à CONEP.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP em reunião extraordinária de 19 de maio de 2.015, APROVOU o presente projeto sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP, no entanto, solicita aos pesquisadores que ao final da execução deste estudo seja enviado o respectivo "Relatório Final de Atividades" via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

Continuação do Parecer: 1.068.249

BOTUCATU, 19 de Maio de 2015

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli , s/n
Bairro: Rubião Junior **CEP:** 18.618-970
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 **E-mail:** capellup@fmb.unesp.br

Anexo II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(TERMINOLOGIA OBRIGATÓRIA EM ATENDIMENTO A RESOLUÇÃO 466/12-CNS-MS)

O sr(a) está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa chamada "Teste respiratório com isótopos estáveis do carbono para avaliação da função hepática nas fases da cirrose causada **pela hepatite viral C"**, que pretende estabelecer protocolos de aplicação do Teste respiratório para avaliação do estágio da cirrose hepática causada pela hepatite C.

O sr(a). foi selecionado(a) a participar dessa pesquisa por concordar em participar, possuir entre 45 e 65 anos de idade, estar em jejum mínimo de 12 horas, não estar diagnosticados com carcinoma hepático, não estar diagnosticado com insuficiência renal crônica e estar diagnosticado com cirrose hepática por hepatite C.

A pesquisa conta em coletar o sopro do paciente antes e depois de ingerir uma solução marcada com isótopo estável do Carbono. Após ingerir a solução o tempo será cronometrado, e a cada 15 minutos será coletado o sopro do paciente até alcançar o total de 120 minutos. Este procedimento não gera complicações como: dor, infecção e sangramento. O procedimento tem por finalidade comparar este teste com o exame convencional. Também será aplicado um questionário, com duração máxima de 15 minutos, nos pacientes para saber suas características.

O conhecimento dessas características permite estabelecer protocolos de aplicação do Teste respiratório para avaliação da função hepática em pacientes com cirrose hepática causada pela hepatite C.

Caso você não queira participar da pesquisa, é seu direito e isso não vai interferir com seu tratamento. Você poderá retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa sem nenhum prejuízo.

É garantido total sigilo do seu nome e resultado de exame ou doença, em relação aos dados relatados nesta pesquisa.

Você receberá uma via deste termo, e outra via será mantida em arquivo pelo pesquisador por cinco anos.

Qualquer dúvida adicional, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa, através do fone: (14) 3880-1608 / 1609.

CONCORDO EM PARTICIPAR DA PESQUISA

Nome:_____

Assinatura:_____

Pesquisador: Geraldo Gabriel Perez. Data: ____/____/____ Assinatura:_____

Orientador: Prof. Dr. Vladimir Eliodoro Costa. Via Parigi, 66, Botucatu, Fone:(14) 38800287 E-mail: vladimir@ibb.unesp.br.

Pesquisador: Geraldo Gabriel Perez. Av. Leonardo Villas Boas, 2834, Botucatu, Fone:(14) 981362601 E-mail: gabriel.perez1506@gmail.com

Anexo III

I – IDENTIFICAÇÃO

Nome:_____RG:_____

Data de Nascimento: _____/_____/_____ Sexo: M( ) F( )
Peso:_____Altura:_____

Etnia: [B] branco [A] amarelo [M] mulato [N] negro [O] outros _____

Endereço_____ nº_____ Bairro: _____
CEP:_____Cidade:_____Estado:_____

Telefone: (___) _____ Celular: (___) _____

e-mail:_____nº prontuário do HC:_____

II - QUESTIONÁRIO

Registro do Paciente no Estudo:_____

Data do questionário: _____/_____/_____. Data da coleta: _____/_____/_____ Horário:_____

Tomou alguma medicação no último mês (ex.: remédio para pressão, antibiótico, insulina, tranquilizantes, relaxantes musculares, aspirina, antiácidos, anti-histamínicos, sedativos etc.)?

Sim( ) Não( ).

Qual(is):_____

Frequência diária: _____Período: início (mês)_____fim(mês)_____

Possui HVC? Sim( ) Não( ).Não. Há quanto tempo?_____

Possui cirrose? Sim( ) Não( ).Há quanto tempo?_____

Classificação Child-Pugh: A( ) B( ) C( ). Data: _____/_____/_____

Classificação MELD:_____. Data: _____/_____/_____

Possui carcinoma hepático? ( ) Sim ( ) Não.

Possui insuficiência renal crônica? ( ) Sim ( ) Não

Possui alguma outra doença? ( ) Sim ( ) Não.
Qual(is):_____
_____
_____

Obs.:_____
_____
_____