



Edmundo José Leal de Andrade

**NATREMIA, ARGININA VASOPRESSINA, OCITOCINA, PEPTÍDEO
ATRIAL NATRIURÉTICO, ALDOSTERONA E CORTISOL EM
EPILÉPTICOS USANDO CARBAMAZEPINA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor.

Área de concentração: Neurociências

Orientadores: Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença
Prof. Dr. Lúcio Vilar

Recife
2012

Catálogo na fonte
Bibliotecária Andréa Marinho, CRB4-1667

- | | |
|-------|--|
| A553n | <p>Andrade, Edmundo José Leal de.
Natremia, arginina vasopressina, ocitocina, peptídeo atrial natriurético, aldosterona e cortisol em epiléticos usando carbamazepina / Edmundo José Leal de Andrade. – Recife: O autor, 2012.
81 folhas : il. ; 30 cm.</p> <p>Orientador: Marcelo Moraes Valença.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, 2012.
Inclui bibliografia, anexos e apêndice.</p> <p>1. Medicamentos. 2. Arginina Vasopressina. 3. Peptídeo Atrial Natriurético. 4. Ocitocina. 5. Carbamazepina. I. Valença, Marcelo Moraes (Orientador). II. Título.</p> <p>615.1 CDD (23.ed.)
102)</p> <p>UFPE (CCS2012-</p> |
|-------|--|

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Pró-Reitoria para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria
e Ciências do Comportamento

41ª DEFESA
DE TESE

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DO
DOUTORANDO EDMUNDO JOSÉ LEAL DE ANDRADE

No dia 28 de fevereiro de 2012, às 14h, no Auditório do 2º andar do Programa de Pós Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, os Professores: Daniella Araújo de Oliveira, Doutora Professora do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco; Josemberg Marins Campos, Doutor Professor do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco; Joaquim José de Souza Costa Neto, Doutor Professor do Departamento de Neuropsiquiatria da Universidade Federal de Pernambuco; Lúcio Vilar Rabelo Filho, Doutor Professor do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal de Pernambuco e Marcelo Moraes Valença, Doutor Professor do Departamento de Neuropsiquiatria da Universidade Federal de Pernambuco, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüiram o Doutorando, EDMUNDO JOSÉ LEAL DE ANDRADE sobre a sua Tese intitulada "NATREMIA, ARGININA VASOPRESSINA, OCITOCINA, PEPTÍDEO ATRIAL NATRIURÉTICO, ALDOSTERONA E CORTISOL EM EPILÉTICOS USANDO CARBAMAZEPINA" orientado pelo professor Dr. Marcelo Moraes Valença. Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do Doutorando, as seguintes menções foram publicamente fornecidas:

Profª. Drª. Daniella Araújo de Oliveira

Prof. Dr. Josemberg Marins Campos

Prof.Dr. Joaquim José de Souza Costa Neto

Prof. Dr. Lúcio Vilar Rabelo Filho

Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença

APROVADO
APROVADO
APROVADO
APROVADO
APROVADO

Profª. Drª. Daniella Araújo de Oliveira

Prof. Dr. Josemberg Marins Campos

Prof. Dr. Joaquim José de Souza Costa Neto

Prof. Dr. Lúcio Vilar Rabelo Filho

Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença
Presidente da Banca

Universidade Federal de Pernambuco

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Souza Ramos

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETOR SUPERINTENDENTE

Prof. George da Silva Telles

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE NEUROPSIQUIATRIA

Prof. Alex Caetano de Barros

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

COORDENADOR

Prof. Everton Botelho Sougey

VICE-COORDENADOR

Prof^a. Sandra Lopes de Souza

CORPO DOCENTE

Prof^a. Ângela Amâncio dos Santos
Prof^a. Belmira Lara da S. A. da Costa
Prof. Everton Botelho Sougey
Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva
Prof. Hildo Rocha Cirne de Azevedo Filho
Prof. João Ricardo Mendes de Oliveira
Prof. Lúcio Vilar Rabelo Filho
Prof. Luiz Ataíde Junior
Prof. Marcelo Cairrão Araújo Rodrigues
Prof. Marcelo Moraes Valença
Prof^a. Maria Lúcia de Bustamante Simas
Prof^a. Maria Lúcia Gurgel da Costa
Prof. Murilo Costa Lima
Prof. Otávio Gomes Lins
Prof. Othon Coelho Bastos Filho
Prof^a. Patrícia Maria Albuquerque de Farias
Prof. Raul Manhães de Castro
Prof^a. Sandra Lopes de Souza
Prof^a. Sílvia Regina de Arruda Moraes

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai *José*, minha mãe *Onélia*, meu irmão *Zanoni*, meu cunhado *Pascoal*, meu primo *Mário*, todos em memória, e à minha irmã *Nicélia* e aos meus filhos *Arthur*, *Ana Tereza* e *Nicélia*.

Dedico, também, em memória aos grandes professores de Propedêutica Clínica de nosso hospital – *Prof. Ernane Granville Costa*, *Eleazar Machado*, *Jorge Moraes*, *Nórlia Mattos*, *Antônio Zirpoli*, *Eduardo Maranhão*, *Asthianax Santos*, assim como ao *Prof. Santos Moura* e *José Amaral*, da Endocrinologia, *Wilson Farias*, de Neurologia, *Donald Huggins*, da DIP, *Alcides Ferreira Lima*, da Pneumologia e aos professores *Antônio Carlos Machado*, excelente endocrinologista e amigo, *Adamastor Lemos Neto* e *Antônio Luiz Peixoto* – excelentes nefrologistas, os três últimos prematuramente roubados do nosso convívio.

AGRADECIMENTOS

Aos pacientes – sem os quais, nada seria possível

Ao prof. Dr. Marcelo Moraes Valença, pela orientação da tese.

Ao prof. Dr. Lucio Vilar, pela orientação da tese.

Ao prof. Dr. Raul Manhães, pelo uso do laboratório da Nutrição.

Ao prof. Dr. José Antunes Rodrigues da Universidade de São Paulo, pela grande ajuda por dosar a OT, ANP e AVP.

Ao prof. José Edmilson Mazza do Departamento de Estatística da UFPE e Mestre em Estatística pela USP.

Ao prof. Dr. Gauss Cordeiro – chefe do Departamento de Estatística da UFPE e Doutor em Estatística pela Universidade de Londres – Inglaterra.

Ao Sr. Leandro de Oliveira Queiroz – excelente Técnico de Laboratório.

À Sra. Milene Mantovani Mata – funcionária do Laboratório de Neuroendocrinologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

Ao Dr. Luciano Almeida - Endocrinologista competente e diretor do CERPE.

Às minhas irmãs – Gersa, Dalva, Evanise, Célia, Gilcélia e Nicélia – pelo incentivo.

A minha filha Ana Tereza, pela digitação do trabalho.

A Srta. Márcia Virginio, pela diagramação do trabalho.

Às Sras. Zenaide Villarim, Ana Amélia Dias Fernandes e Maria Auxiliadora Albuquerque, pelo incentivo.

RESUMO

Andrade E JL. Natremia, arginina vasopressina, ocitocina, peptídeo atrial natriurético, aldosterona e cortisol em epiléticos usando carbamazepina. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco; 2012. 81p.

Objetivo – Verificar como se comportam a natremia e os níveis plasmáticos dos principais hormônios reguladores da homeostase hidrossalina, como a aldosterona, o cortisol, a arginina vasopressina, a ocitocina e o peptídeo atrial natriurético, alguns nunca antes avaliados, sob o efeito da carbamazepina. Procurar assinalar a frequência da possível hiponatremia e quais hormônios estariam envolvidos com a sua origem sob a ação da carbamazepina. **Sujeitos e Métodos:** Dezenove pacientes epiléticos do sexo masculino em uso de carbamazepina foram submetidos à avaliação bioquímica e hormonal e os dados obtidos comparados com aqueles de dezenove homens sãos. **Resultados:** O nível médio de sódio entre os controles foi de 139,05mEq/L com desvio padrão (SD) de 1,90 e nos pacientes de 140,47mEq/L, com um SD de 3,03, não apresentando diferença significativa (p de 0,116 pelo teste de Mann-Whitney). O nível plasmático da Arginina Vasopressina (AVP) entre os controles foi de 0,71pg/mL com um SD de 0,41 e nos pacientes de 0,82pg/mL com um SD de 0,45, também não apresentando diferença significativa (p de 0,443 pelo teste de Mann Whitney). Os outros hormônios também não mostraram diferença significativa entre os dois grupos. **Conclusão:** Não encontramos hiponatremia ou qualquer alteração hormonal nos pacientes em uso de carbamazepina comparados aos controles.

Descritores: Arginina Vasopressina, Peptídeo Atrial Natriurético, Ocitocina, Aldosterona, Cortisol, Carbamazepina, Natremia, Epiléticos.

ABSTRACT

Andrade EJJ. Natremia, arginine vasopressin, oxytocin, atrial natriuretic peptide, aldosterone and cortisol in epileptics taking carbamazepine. Doctoral Thesis, Universidade Federal de Pernambuco; 2012. 81p.

Objective – To verify the behavior of natremia and the plasma levels of the main hormones that regulate the hydrossaline homeostasis, like aldosterone, cortisol, arginine vasopressin, oxytocin and atrial natriuretic peptide, some of them never before evaluated, under the action of carbamazepine. To show the frequency of the possible hyponatremia and the hormones causing it, under the effect of carbamazepine. **Subjects and Methods:** Nineteen male epileptic patients taking carbamazepine underwent a biochemical and hormonal assessment and the data collected were compared to those from nineteen healthy men. **Results:** The plasma sodium level in the control group was 139.05mEq/L with a standard deviation (SD) of 1.90 and in the patient group was 140.47mEq/L with a SD of 3.03, without significant difference ($p=0.116$ by Mann – Whitney test). Plasma arginine vasopressin (AVP) level in the control group was 0.71pg/ml with a SD of 0.41 and in the patient group was 0.82pg/ml with a SD of 0.45, without significant difference again ($p=0.443$ by Mann – Whitney test). The other hormones did not show any statistical difference between both groups. **Conclusion:** We did not find hyponatremia or any hormonal change in the patients taking carbamazepine in comparison to the control group.

Keywords: Arginine Vasopressin, Atrial Natriuretic Peptide, Oxytocin, Aldosterone, Cortisol, Carbamazepine, Natremia, Epileptics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1	Média + desvio padrão da idade segundo o grupo.....	27
Gráfico 2	Média + desvio padrão do triglicerídeos segundo o grupo.....	29
Gráfico 3	Média + desvio padrão do sódio segundo o grupo.....	29
Gráfico 4	Média + desvio padrão da creatinina segundo o grupo.....	30
Gráfico 5	Média + desvio padrão do cortisol segundo o grupo.....	32
Gráfico 6	Média + desvio padrão da aldosterona segundo o grupo.....	32
Gráfico 7	Média + desvio padrão da AVP segundo o grupo.....	33
Gráfico 8	Média + desvio padrão da OT segundo o grupo.....	33
Gráfico 9	Média + desvio padrão do ANP segundo o grupo.....	34
Gráfico 10	Dados de AVP e triglicerídeos no grupo da carbamazepina.....	35
Gráfico 11	Dados de AVP e sódio no grupo da carbamazepina.....	35
Gráfico 12	Dados de AVP e creatinina no grupo da carbamazepina.....	35
Gráfico 13	Dados de AVP e triglicerídeos no grupo Controle.....	36
Gráfico 14	Dados de AVP e sódio no grupo Controle.....	36
Gráfico 15	Dados de AVP e creatinina no grupo Controle.....	36
Gráfico 16	Dados de AVP e cortisol no grupo da Carbamazepina.....	37
Gráfico 17	Dados de AVP e aldosterona no grupo da Carbamazepina.....	38
Gráfico 18	Dados de AVP e OT no grupo da Carbamazepina.....	38
Gráfico 19	Dados de AVP e ANP grupo da Carbamazepina.....	38
Gráfico 20	Dados de AVP e cortisol grupo Controle.....	39
Gráfico 21	Dados de AVP e aldosterona no grupo Controle.....	39
Gráfico 22	Dados de AVP e OT no grupo Controle.....	39
Gráfico 23	Dados de AVP e ANP no grupo Controle.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estatísticas da idade em anos dos pesquisados segundo o grupo.....	27
Tabela 2	Estatísticas das variáveis: triglicerídeos, sódio e creatinina, segundo o grupo.....	28
Tabela 3	Estatísticas das variáveis: cortisol, aldosterona, AVP, OT e ANP dos pesquisados segundo o grupo.....	31
Tabela 4	Correlação de Spearman entre AVP com as variáveis: triglicerídeos, sódio, creatinina, segundo o grupo.....	34
Tabela 5	Correlação de Spearman entre AVP com as variáveis: cortisol, aldosterona, OT e ANP, segundo grupo.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADH	– <i>antidiuretic hormone</i> – hormônio antidiurético
ANP	– <i>atrial natriuretic peptide</i> – peptídeo atrial natriurético
AVP	– <i>arginine vasopressin</i> – arginina vasopressina
C ₁₈	– carbono 18
CV	– coeficiente de variação
DIP	– doenças infecciosas e parasitárias
EDTA	– <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i> - ácido etilenodiaminotetracético
GPO	– glicerol fosfato oxidase
¹²⁵ I	– Iodo 125
M	– molar
mEq/L	– miliequivalente/Litro
mg/dl	– miligrama/decilitro
µg/dl	– micrograma/decilitro
µl	– microlitro
ng/dl	– nanograma/decilitro
OT	– <i>oxytocin</i> – ocitocina
PAP	– <i>phenol amino phenazona</i>
pg/ml	– picograma/mililitro
PMSF	– <i>phenylmethyl sulfonyl fluoride</i> - fluoreto de fenilmetil sulfonil
SD	– <i>standard deviation</i> – desvio padrão
UFPE	– Universidade Federal de Pernambuco.
USP	– Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO.....	12
1.1 Objetivos.....	12
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1 Introdução.....	13
2.2 Controle neuroendocrino do equilíbrio hidrossalino.....	13
2.3 Interação entre a carbamazepina e o controle neuroendocrino da natremia.....	18
3. MÉTODOS.....	22
3.1 População estudada.....	22
3.2 Delineamento do estudo.....	22
3.3 Critérios de inclusão.....	22
3.4 Dosagens laboratoriais.....	23
3.5 Dosagens bioquímicas.....	24
3.6 Dosagens hormonais.....	24
3.7 Processamento e análise dos dados.....	26
3.8 Aspectos éticos.....	26
4. RESULTADOS.....	27
5. DISCUSSÃO.....	41
6. CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
APÊNDICES.....	51
Apêndice A.....	51
Apêndice B.....	53
ANEXOS.....	71
Anexo A.....	71
Anexo B.....	72
Anexo C.....	79

1 APRESENTAÇÃO

Embora a maioria dos autores relatem que a hiponatremia provocada pela carbamazepina quando ocorre é leve, alguns referem que pode ser grave. Este trabalho é importante, pois procura verificar a frequência da possível alteração da natremia em nosso meio e os prováveis mecanismos envolvidos na regulação do sódio plasmático. Pela primeira vez, hormônios que participam na homeostase do equilíbrio hidrossalino, como o cortisol e a ocitocina, foram dosados sob o efeito da carbamazepina.

Lembramos também que o número de pacientes em uso da carbamazepina é muito vasto e a hiponatremia é um fator predisponente de crise epilética, de modo que uma tentativa em compreender e evitar tal distúrbio iatrogênico iria, evidentemente, favorecer a ação antiepilética da droga.

Por todas essas razões assinaladas, fica justificada a nossa pesquisa.

1.1 Objetivos

- Verificar como se comporta, em nosso meio, a natremia de pacientes epiléticos em uso da carbamazepina;
- Verificar como se comportam os níveis plasmáticos dos principais hormônios reguladores da homeostase hidrossalina, como a aldosterona, o cortisol, a arginina vasopressina, a ocitocina e o peptídeo atrial natriurético, sob o efeito da carbamazepina;
- Procurar assinalar a frequência da possível hiponatremia e quais hormônios estariam envolvidos com a sua origem sob a ação da carbamazepina.

Descreveremos 38 pacientes, dos quais 19 epiléticos adultos com idades variando entre 19 a 52 anos, com média de idade de 35,42 anos, diagnosticados, pelo menos há mais de dois anos, clinicamente e por eletroencefalografia, em uso de carbamazepina em dose terapêutica no mínimo há um ano, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. Todos os pacientes foram esclarecidos e assinaram o termo de consentimento por escrito, após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE (ANEXO A).

Conforme o Regulamento da Defesa e Normas de Apresentação do Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (ANEXO B), o paper da tese será enviado para submissão: Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Introdução

Em doses terapêuticas a carbamazepina pode causar hiponatremia (LAHR, 1985). Alguns relatos sugerem que distúrbios eletrolíticos, incluindo do sódio, são comuns (STEPHENS et al, 1977), enquanto outros sugerem que são raros (HELIN et al, 1977). Intoxicação hídrica é um efeito colateral clinicamente importante da carbamazepina, visto que a epilepsia, onde com frequência a droga é utilizada, pode ser agravada por retenção hídrica. Tem sido sugerido que o medicamento age estimulando a liberação do hormônio antidiurético (HAD) ou arginina vasopressina (AVP) da neurohipófise (ASHTON et al, 1977). Já os estudos de Stephens e cols, mostraram que a concentração da AVP caiu enquanto seus pacientes faziam uso da carbamazepina, indicando que o mecanismo não deve ser a secreção da AVP. Ele sugere que a propriedade de reter água da carbamazepina seja um efeito fisiológico da droga, mediado por uma sensibilidade renal aumentada às concentrações plasmáticas normais da AVP (STEPHENS; COE; BAYLIS, 1978).

Esses fatos tem motivado a busca de um melhor entendimento sobre o controle neuroendócrino do equilíbrio hidrossalino.

2.2 Controle neuroendócrino do equilíbrio hidrossalino

Uma regulação precisa da homeostase hidrossalina, com manutenção do volume e da osmolalidade dos líquidos corporais, é de fundamental importância para a manutenção da vida. O cloreto de sódio representa um constituinte essencial do compartimento extracelular e é um dos mais importantes fatores determinantes da osmolalidade plasmática, bem como da manutenção do volume do líquido extracelular. Nos vertebrados, a manutenção da osmolalidade plasmática e do volume extracelular ocorre primariamente pela regulação da ingestão e excreção renal de água e eletrólitos. A regulação neuro-hormonal desse mecanismo complexo de controle envolve principalmente estruturas do sistema nervoso central e autonômico, rins e coração.

Sódio-osmorreceptores (osmolalidade plasmática e concentração de sódio) e receptores de pressão e volume recebem esses estímulos representativos da dinâmica osmótico-eletrolítica momento a momento e emitem informações para áreas específicas do sistema nervoso central – órgão vascular da lâmina terminal (OVLT), área pré-óptica

mediana, órgão subfornical, que interagem com outros núcleos encefálicos (paraventricular, supraóptico, dorsal da *raphé*, parabraquial lateral, *locus ceruleus*, etc.) também responsáveis pela regulação do equilíbrio hidroeletrolítico. Essas estruturas, quando estimuladas, geram respostas que: (a) induzem sede, apetite para alimentos salgados, ou ambos; (b) alteração da atividade simpática; (c) ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, e (d) secreção de arginina-vaso-pressina (AVP) e ocitocina da neuro-hipófise e do peptídeo atrial natriurético (ANP) do coração (de BOLD et al, 1981; FRANCI et al, 1983; BOURQUE; OLIET; RICHARD, 1994; BASTOS et al, 2001; McCANN et al, 2003).

Scharrer e Scharrer (1940), demonstraram a síntese de peptídeos em neurônios dos núcleos supraópticos e paraventricular, que eram transportados e armazenados em terminais neuronais na neuro-hipófise, local onde eram liberados na circulação sistêmica. A identificação desses peptídeos – AVP e a ocitocina – rendeu o *Prêmio Nobel a du Vigneaud* (apud MOREIRA et al, 2005).

A AVP e sua proteína carreadora, a neurofisina II (NPII), são derivadas de um precursor comum (pré-pró-vasopressina) que contém três regiões peptídicas: um peptídeo sinalizador e a AVP na posição terminal NH₂, uma região NPII central e uma glicoproteína, denominada copeptina, na posição terminal COOH (VILAR et al, 2001; MATOUSSI et al, 2008). Cada região da proteína, precursora, por sua vez, é codificada por um dos três éxons do gene do precursor da AVP que, em humanos, está localizado no cromossomo 20p13. Na etapa seguinte da síntese da AVP, é gerado o pró-hormônio (pró-vasopressina) pela retirada do peptídeo sinalizador da pré-pró-vasopressina, ainda nos ribossomos dos neurônios dos núcleos paraventriculares (PVN) e supraópticos (SON). A pró-vasopressina é então transportada dentro de grânulos neurosecretórios, através do trato supraoptico-hipofisário, onde sofre a ação sucessiva de endopeptidases (clivagem entre os aminoácidos 1 e 2; 12 e 13; 106 e 107), exopeptidases (remoção dos aminoácidos 11,12 e 106), monooxigenases (hidroxilação da glicina na posição 10) e liases (formação de glicinamida na posição 9), dando origem a três polipeptídeos: a vasopressina (resíduos 1,9), a vasopressina-neurofisina II (VP-NPII)- (resíduos 13-105) e um glicopeptídeo chamado copeptina (resíduos 107 e 145) (VILAR et al, 2001).

Esses polipeptídeos vão ser armazenados na neurohipófise, sendo posteriormente liberados na circulação sob um estímulo excitatório (NAVES et al, 2003; REEVES; BICHET; ANDREOLLI, 2003). O outro hormônio sintetizado nos PVN e SON hipotalâmicos e também armazenado na neurohipófise é a ocitocina, cuja neurofisina é a NP-1 (VILAR et al, 2001).

O sistema hipotálamo-neurohipofisário está localizado na porção medial do hipotálamo anterior e é constituído pelos núcleos paraventriculares e supraópticos, locais onde estão presentes os pericários dos neurônios magnocelulares responsáveis pela síntese e liberação da AVP e da ocitocina. No núcleo paraventricular há uma predominância de neurônios-ocitocina e, ao contrário, no núcleo supraóptico, haveria relativamente uma maior quantidade de neurônios produtores de AVP. Os axônios desses neurônios formam o trato hipotálamo-hipofisário que termina em vasos do sistema porta na neurohipófise (VALENÇA et al, 2002; VALENÇA; MARTINS, 2005). Alguns desses terminais chegam também aos vasos porta da eminência mediana do hipotálamo médio-basal, possivelmente liberando AVP e ocitocina (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2004).

Nos núcleos paraventricular, pré-óptico e periventricular, na eminência mediana e no OVLT também há neurônios produtores de ANP (GUTKOWSKA et al, 1997; ANTUNES-RODRIGUES et al, 2004).

A liberação de AVP e ocitocina é regulada por inúmeros neurotransmissores (FREGONEZE et al, 1988), incluindo impulsos sinápticos excitatórios glutamérgicos e inibitórios gabaérgicos (STERN; LUDWING, 2001). Acetilcolina pode também excitar neurônios do núcleo supraóptico (LI; PAN, 2001). Por outro lado, o óxido nítrico possui um papel importante no controle da secreção da ocitocina, AVP e ANP (VENTURA et al, 2002).

A liberação da AVP e da ocitocina não ocorre apenas nos terminais axonais desses neurônios, mas também, nos seus dendritos no hipotálamo, com a finalidade de regular seus próprios impulsos sinápticos (AVP e ocitocina), em parte por atuar sobre autorreceptores envolvidos no influxo de Ca^{2+} (HIRASAWA et al, 2003; BHUMBRA; DYBALL, 2004; ITOI et al, 2004; SABATIER; SHIBUYA; DAYANITHI, 2004).

Ambos os hormônios secretados pela neurohipófise possuem a constituição de nonapeptídeo de estrutura homóloga, diferindo apenas nas posições 3 e 8, nas suas sequências de aminoácidos (ELIAS et al, 2001).

Porém, mesmo com uma constituição semelhante, esses hormônios apresentam diversas funções distintas. A ocitocina tem como função clássica promover a ejeção de leite das glândulas mamárias na lactação, a contração uterina (no momento do parto), além de estar envolvida no relaxamento vascular e cardíaco e na homeostase hidromineral (ELIAS et al, 2001). Já no tecido cardíaco, os receptores da ocitocina são mediadores de sua ação sobre a liberação de um importante hormônio cardíaco, o ANP, o qual tem uma ação vasodilatadora (FAVARETTO et al, 1997; GUTKOWSKA et al, 1997). Por sua vez, a AVP, conhecida também como hormônio antidiurético, atua retendo a água corporal e, assim, regulando a

tonicidade dos líquidos corporais, além de apresentar ação termorregulatória (VALENÇA et al, 2002).

Ocitocina e AVP são secretadas simultaneamente em resposta à hiperosmolalidade e hipovolemia e, quando administradas sistemicamente, elas induzem natriurese. A ocitocina, por outro lado, é um hormônio natriurético mais potente que a AVP (SOARES et al, 1999). Como a administração sistêmica da ocitocina aumenta acentuadamente as concentrações de ANP no plasma, o efeito natriurético e caliurético da mesma ocorre por um mecanismo duplo: estimulação direta renal e liberação atrial de ANP (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2005). A secreção da AVP é controlada por alterações na osmolalidade plasmática (controle osmótico) e volume ou pressão sanguíneos, enquanto a secreção de ocitocina é particularmente regulada por impulsos aferentes gerados pela contração uterina por ocasião do parto e sucção do mamilo durante a amamentação (VALENÇA et al, 2002).

As ações da AVP são mediadas por três subtipos de receptores: V1, V2 e V3. O primeiro está envolvido no controle da pressão arterial, os receptores V2 são responsáveis pelo efeito antidiurético da AVP nos rins (ELIAS et al, 2001). Os receptores V3 na hipófise contribuem para a liberação do ACTH potencializando a ação do CRH (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2005).

O receptor da ocitocina apresenta alta homologia em diferentes espécies e está expresso em diversos tecidos, como útero, glândula mamária, hipófise, cérebro, rim, timo, gônadas e coração (GUTKOWSKA et al, 1997).

Em resposta à hiperosmolalidade plasmática, a ocitocina é secretada e, por sua vez, induz a liberação do ANP pelo átrio (CHRIGUER et al, 2001). Além disso, os neurônios osmorreceptores também estimulam a sede (o limiar nos seres humanos é de 290-295 mOsm/kg). A liberação de AVP também é estimulada por redução de 5-10% no volume sanguíneo circulante total, no débito cardíaco, ou na pressão arterial (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2004).

A hipovolemia também estimula a produção de renina e de angiotensina. A angiotensina II e o ANP representam importantes e opostos papéis no controle da ingestão de água e sal, com a angiotensina II promovendo a ingestão de ambos e o ANP inibindo (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2005).

A privação de água por 24 horas resulta na expressão da proteína c-Fos no núcleo paraventricular e núcleo supraóptico. Expressão momentânea de proteína c-Fos foi também detectada em neurônios magnocelulares dos núcleos supraóptico e paraventricular em hipotálamo de rato, após injeção de solução salina hipertônica (VALENÇA et al, 2002).

Durante a expansão volêmica (*blood volume expansion*, BVE) hipertônica, hormônios neuro-hipofisários e o ANP são secretados para corrigir as mudanças induzidas no volume sanguíneo e na osmolalidade (VENTURA et al, 2002). A secreção de AVP nessa situação particular depende da síntese de óxido nítrico (GIUSTI-PAIVA et al, 2002), ou seja, fica claro a participação de vários mecanismos no controle dessa função.

O reflexo nasofaringiano influencia diretamente a secreção da AVP. Quando se ingere água, uma rápida supressão da liberação do hormônio é observada, mesmo antes da absorção da água ou de qualquer queda na osmolalidade plasmática (VILAR et al, 2001; NAVES et al, 2003).

Já foi dito nesta revisão que o principal efeito renal da AVP é aumentar a permeabilidade à água na membrana luminal do epitélio dos ductos coletores. Na ausência da AVP, a permeabilidade do epitélio é muito baixa e a absorção de água diminui, surgindo poliúria. Os efeitos renais da AVP ocorrem através de sua ligação aos receptores V2 o que causa ativação de proteínas G (REEVES; BICHET; ANDREOLLI, 2003). Essa ação estimula aumento da atividade da adenilatociclase, propiciando formação do AMP cíclico (cAMP), que ativa uma proteína quinase A. O aumento da concentração intracelular do cAMP induz a expressão na membrana celular de canais protéicos de água, denominados aquaporinas (AQP), permitindo assim o transporte transcelular de água (KNIEPER et al, 1994).

Treze tipos de AQP já foram identificados, dos quais pelo menos seis são encontrados nos rins – quadro a seguir (TAKATA; MATSUZAKI; TAJIKA, 2004; KWON et al, 2009; ISHIBASHI, 2009). O transporte transepitelial de água é assegurado no polo luminal pela AQP₂ e no polo baso-lateral pela AQP₃ e AQP₄. Diminuição da expressão da aquaporina₂ provoca poliúria e, em situações de retenção hídrica, os níveis de aquaporina₂ estão aumentados. O papel das aquaporinas 10,11 e 12 ainda não está bem estabelecido (ISHIBASHI, 2009).

O efeito da AVP sobre a concentração urinária é inibido pela prostaglandina E₂ (PGE₂) e bradicinina e potencializado pela indometacina que bloqueia a síntese de PGE₂ e limita a degradação do cAMP pelas fosfodiesterases (FOUQUERAY; PAILLARD; BAUD, 1998).

Quadro 1. Principais Aquaporinas (AQP): Tipos e Locais de Expressão

Tipos	Locais de Expressão
AQP ₁	Vasos sanguíneos, túbulos proximais, olho, ouvido.
AQP ₂	Túbulos coletores renais.
AQP ₃	Túbulos coletores renais, epiderme, trato urinário, respiratório e digestivo.
AQP ₄	Astrócitos cerebrais, olho, ouvido, músculo esquelético, células parietais do estômago, ductos coletores renais.
AQP ₅	Glândulas salivares, lacrimais, sudoríparas, olho e ouvido
AQP ₆	Ductos coletores renais
AQP ₇	Adipócitos, testículos e rins
AQP ₉	Fígado e leucócitos
AQP ₁₀	Intestino

(TAKATA; MATSUZAKI; TAJIKA, 2004; KWON et al, 2009; ISHIBASHI, 2009).

2.3 Interação entre a carbamazepina e o controle neuroendócrino da natremia

Um problema intrigante na prática clínica é o fato de alguns pacientes desenvolverem hiponatremia iatrogênica pelo uso de certas substâncias usadas no tratamento de doenças da esfera neurológica/neurocirúrgica. Isso é particularmente frequente nos indivíduos que fazem uso de carbamazepina (C₁₅H₁₂N₂O; 5-carbamoyl-5H-dibenzo (b,f) azepine ou 5H-dibenzo (b,f) azepine-5-carboxamida, peso molecular 236,26), que é um derivado iminostilbeno com uma estrutura tricíclica (VAN AMELSVOCRT et al, 1994).

Cerca de 1% da população sofre de epilepsia e um dos fármacos antiepiléticos de uso comum, se não o mais utilizado, é a carbamazepina (KARCESKI; MORELL; CARPENTER, 2005). A carbamazepina é também prescrita para o tratamento de dores de início agudo ou crônico (por exemplo, neuralgia do trigêmeo) (WIFFEN; MCQUAY; MOORE, 2005), no controle da poliúria do *diabetes insipidus* e em doenças psiquiátricas (*p.ex.*, distúrbio bipolar, quadros psicóticos e no controle da agressividade) (MUZINA; CALABRESE, 2005). Dentre os efeitos colaterais da carbamazepina destacam-se retenção hídrica, hiponatremia e diminuição da osmolalidade plasmática, com casos isolados de intoxicação hídrica associada com letargia, vômitos, cefaleia, confusão mental, crises epiléticas e outras anormalidades neurológicas. Apesar da diminuição na concentração plasmática do sódio ser um achado frequente, a maioria dos pacientes não apresenta sintomatologia importante (GADELMAN, 1994). Diminuições nos valores séricos do cálcio e do cloro foram também relatadas com o uso da carbamazepina (THOMAS et al, 1978; GOLD et al, 1983; CHAN, 1997).

Acredita-se que a carbamazepina pode exercer seu efeito sobre a secreção da AVP, promovendo uma secreção inapropriada da AVP (SMITH; ESPIR; BAYLIS, 1977). Isso, por sua vez, ocasionaria retenção hídrica e hiponatremia. Porém, o mecanismo pelo qual a carbamazepina predispõe à hiponatremia continua obscuro. Alguns autores acreditam que a carbamazepina aumentaria a responsividade renal à AVP. Gold et al, (1983) avaliaram a secreção de AVP durante infusão hipertônica de salina (5%) em sete pacientes com desordem maníaco-depressiva. Após 3-5 semanas de tratamento com carbamazepina, verificaram que esse fármaco reduziu significativamente a resposta ao estímulo osmótico observado para a AVP plasmática. Porém, esse tratamento não alterou o valor basal da AVP, nem a concentração do peptídeo no líquido cérebro-espinhal.

Stephens et al, (1978). estudando 12 pacientes tratados com doses terapêuticas de carbamazepina, observaram que dez deles tinham um metabolismo líquido anormal, com uma diminuição na capacidade de excretar água, apesar de ter havido uma diminuição na concentração da AVP durante o tratamento com carbamazepina. Esse achado sugeriu que a propriedade de reter água da carbamazepina poderia ser decorrente do aumento da sensibilidade renal ao AVP (CHAN, 1997). Outros autores propõem que a carbamazepina modificaria o limiar dos osmorreceptores hipotalâmicos que regulariam a secreção da AVP (THOMAS et al, 1978).

O mecanismo de ação da carbamazepina sobre o SNC ainda não é totalmente conhecido. Parece que este fármaco atua bloqueando canais de sódio voltagem-dependentes, tanto aqueles de localização pré-sináptica, quanto os de posicionamento pós-sináptico (CZAPINSKI; BLASZCYK; CZUCZWAR, 2005). No neurônio pós-sináptico esse bloqueio limita a tendência a potenciais de ação sustentados, repetitivos, de alta frequência. No terminal pré-sináptico o bloqueio de canais de sódio reduz a entrada de cálcio nos terminais e, assim, reduz a quantidade de neurotransmissores liberados. A carbamazepina, ao bloquear o canal de sódio, reduz a propagação de impulsos anormais no córtex cerebral, inibindo a geração de potenciais de ação repetitivos na zona epiletogênica. A meia-vida da carbamazepina é da ordem de 12 horas e, como essa substância também tem a potencialidade de autoindução do sistema enzimático responsável por seu metabolismo, sua meia-vida pode diminuir após as primeiras semanas de tratamento. Seu local primário de metabolismo é o fígado e o seu metabolito carbamazepina-10,11-epoxide é também ativo. A concentração sanguínea eficaz como droga antiepilética é em torno de 3µg/mL; efeitos adversos são esperados se os níveis de carbamazepina são maiores que 10µg/mL (CZAPINSKI; BLASZCYK; CZUCZWAR, 2005).

A oxcarbazepina (10,11-hidro-10-oxo-5H-dibenz(b,f) azepine-5-carboxamide; peso molecular 252,27) é um análogo da carbamazepina com propriedades antiepiléticas semelhantes. Recentemente, Sachdeo e cols. postularam uma ação direta da oxcarbazepina sobre os túbulos renais (SACHDEO et al, 2002). Pacientes epiléticos tratados com oxcarbazepina apresentavam uma redução do sódio sérico e no *clearance* da água livre após um teste de sobrecarga hídrica, sem, portanto, haver um aumento concomitante da AVP, indicando que a hiponatremia não é secundária a uma síndrome de secreção inapropriada da AVP. Por outro lado, Isojarvi e cols. observaram que a oxcarbazepina causou hiponatremia com diminuição dos níveis plasmáticos de ANP(NT-proANP) (ISOJARVI et al, 2001).

Experimentos realizados com fragmentos hipotalâmicos *in vitro* demonstraram que a carbamazepina era capaz de alterar a secreção do hormônio liberador do ACTH (CRH) (KLING et al, 1994), indicando que esse fármaco pode exercer efeitos sobre a liberação axonal de neuro-hormônios.

A compreensão do mecanismo pelo qual a carbamazepina ou a oxcarbazepina induziriam a hiponatremia pode ter implicações clínico-terapêuticas, com o desenvolvimento de novas estratégias para evitar esse distúrbio hidrossalino. Outras alterações endócrinas podem também ocorrer com o uso da carbamazepina ou da oxcarbazepina, como diminuição dos hormônios tireoidianos, esteroides gonadais, aceleração da osteoporose, dislipidemia e aumento do peso corporal. A interferência sobre a secreção da testosterona e dos hormônios tireoidianos parece ser menor com uso da oxcarbazepina (SCHMIDT; ELGER, 2004; PACK, 2005).

Recente evidência sugere que o mecanismo de ação da oxcarbazepina é diferente daquele exercido pela carbamazepina, apesar da semelhança química-estrutural. A oxcarbazepina parece também influenciar o funcionamento de tipos diferentes de canais de cálcio e, ao contrário da carbamazepina que é oxidada pelo sistema ribossomo P-450, a oxcarbazepina sofre metabolismo redutivo para formar um derivado monoidroxil que é glucuronidado e excretado na urina. Os efeitos colaterais são menores com a oxcarbazepina e isso lhe confere uma posição de destaque quando na escolha entre essas duas drogas antiepiléticas na prescrição para um paciente com determinados subtipos de epilepsia (SCHMIDT; ELGER, 2004).

Curiosamente não encontramos estudos investigando possíveis ações da carbamazepina e da oxcarbazepina sobre as secreções *in vitro* da AVP, ocitocina e ANP do hipotálamo e da neurohipófise ou do ANP liberado do átrio; apesar do efeito hiponatrêmico provocado pela carbamazepina ser conhecido há décadas.

Finalmente, estudo recente realizado no Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo mostrou que a carbamazepina pode induzir a absorção de água pelos rins, pelo aumento da expressão da aquaporina₂, contrapondo-se a opinião mais vigente, mesmo atualmente, de que a hiponatremia se deve mais frequentemente à síndrome de secreção inapropriada do hormônio antidiurético (ASHTON et al, 1977). Nesse estudo, conduzido por de Bragança, Moyses & Magaldi, (2010) os resultados revelaram que a carbamazepina foi capaz de estimular o complexo proteína G- receptor V2 da vassopressina, aumentando a absorção de água. A expressão da aquaporina₂ estava aumentada no ducto coletor da medula interna dos ratos submetidos ao estudo (de BRAGANÇA; MOYSES, MAGALDI, 2010).

3 MÉTODOS

Após o consentimento, por escrito, dos indivíduos envolvidos no trabalho, após esclarecimentos prestados e da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, no período compreendido entre janeiro de 2010 e junho de 2011, foi coletado o sangue de 44 homens para a realização do Trabalho. Seis das 44 coletas foram descartadas por conta de perda do material no freezer.

As coletas foram realizadas com os pacientes em jejum de 12 horas, entre 8:00 e 8:30 da manhã, após 30 minutos de descanso, com os pacientes em posição supina.

3.1 População estudada

Foram formados 2 grupos de indivíduos:

O primeiro grupo foi constituído por 19 pacientes epiléticos adultos diagnosticados, pelo menos há mais de 2 anos, (mínimo de 3 anos de diagnóstico e máximo de 28 anos), recrutados de forma randomizada no ambulatório de Neurologia do Hospital das Clínicas da UFPE e em uso de carbamazepina em dose terapêutica, no mínimo há um ano, com idade mínima de 19 anos (2 indivíduos) e máxima de 52 anos (também 2 indivíduos). A média da idade foi de $35,42 \pm 10,67$ anos.

O segundo grupo foi o controle, também com 19 indivíduos adultos, sadios, recrutados de forma randomizada, sem usar qualquer medicamento. A idade mínima neste grupo foi de 19 anos (1 indivíduo) e a máxima de 55 anos, também um indivíduo. A média da idade do grupo controle foi de $30,63 \pm 9,23$ anos.

3.2 Delineamento do estudo

Clínico, Observacional transversal.

3.3 Critérios de inclusão

Só foram incluídos no primeiro grupo, os pacientes em uso apenas de carbamazepina e de nenhum outro fármaco. Apenas pacientes do sexo masculino foram estudados e a idade limite fixada foi de 55 anos.

O grupo controle foi pareado de forma equivalente ao primeiro grupo, com 19 homens sãos e sem usar qualquer medicamento, como já foi dito anteriormente. A idade limite fixada também foi de 55 anos.

Os motivos para exclusão dos pacientes foram: tomar outro medicamento além da carbamazepina, sexo feminino e idade superior a 55 anos.

A razão para o uso apenas da carbamazepina no primeiro grupo é evitar qualquer possível modificação dos parâmetros analisados por efeito de uma segunda droga. O motivo da não inclusão de mulheres no estudo foi com o objetivo de evitar possíveis alterações dos dados obtidos por conta das modificações hormonais do ciclo menstrual. A idade limite fixada em 55 anos foi para evitar alterações dos dados obtidos por conta do envelhecimento.

3.4 Dosagens laboratoriais

Foram dosados o sódio, os triglicerídeos, a creatinina, o cortisol, a aldosterona, a AVP, ANP, e a OT dos indivíduos participantes do estudo.

Os triglicerídeos foram dosados porque quando muito elevados tornam os níveis plasmáticos do sódio enganosamente baixos, situação conhecida como pseudo-hiponatremia (WEISBERG, 1989).

O motivo da dosagem da creatinina, decorreu do fato dos pacientes com insuficiência renal ter a natremia alterada por conta da própria incompetência funcional renal, independentemente de qualquer possível participação da carbamazepina.

Com relação ao cortisol, sabe-se que ele participa do controle da natremia, retraindo o sódio ao nível dos ductos coletores renais (STEWART, KROZOWSKI, 1999), daí a importância da sua determinação.

Do mesmo modo, a aldosterona também é muito importante na regulação da natremia, promovendo a reabsorção do sódio ao nível dos ductos coletores (FARMAN; BONVALET, 1983).

Da mesma maneira, são evidentes as razões para a dosagem do ANP e da AVP, que são hormônios implicados na regulação do metabolismo hidrossalino, como vimos na introdução.

Já com relação à ocitocina, que também atua na regulação do sódio plasmático, não encontramos na literatura médica qualquer trabalho relacionando a ação da carbamazepina com os seus níveis plasmáticos, ou seja, estudando a ação da droga sobre a sua secreção, de modo que sua dosagem foi incluída no nosso estudo.

3.5 Dosagens bioquímicas

Sódio: dosado pelo método do eletrodo íon-seletivo. Referencial para adulto – 136 – 145mEq/L.

Triglicerídeos: dosados pelo método GPO – PAP. Referencial – desejável - <150mg/dl

Creatinina: dosada pelo método Jaffe Cinético. Referencial para homem 0,7 – 1,3mg/dl.

3.6 Dosagens hormonais

Cortisol	
	Kit IMMULITE 2000 SIEMENS
Metodologia	Quimiluminescência
Linearidade	até 50 µg/dl
Limite de Detecção	0,2 até 50 µg/dl
CV interensaio	7,8%
Reação	O procedimento automatizado Immulite 2000 é um imunoensaio competitivo de fase sólida, quimiluminescente, com anticorpos específicos do Cortisol imobilizados na superfície de pérolas. O Cortisol marcado com a enzima, compete durante um período de tempo fixo com o Cortisol da amostra do paciente por locais de fixação de anticorpos. A reação é submetida a processos de lavagem e centrifugação de forma a separar o Cortisol livre, e em seguida é adicionado o substrato quimiluminescente para leitura final no luminômetro. A quantidade de Cortisol presente na amostra do paciente é determinada a partir de uma curva de calibração.
Referencial	5 a 25µg/dl

Aldosterona	
	Kit COAT-A-COUNT SIEMENS
Metodologia	Radioimunoensaio
Linearidade	até 1200 pg/mL
Limite de Detecção	0 pg/mL a 1200 pg/mL
CV interensaio	16,3 %
Reação	O procedimento Coat-A-Count é um radioimunoensaio de fase sólida baseado em anticorpos específicos da aldosterona imobilizados na parede de um tubo de polipropileno. A aldosterona marcada compete durante um período de tempo fixo com a aldosterona da amostra do paciente por locais de fixação de anticorpos. O tubo é então decantado, de forma a separar a aldosterona livre, sendo em seguida colocado num contador gama. A quantidade de aldosterona presente na amostra do paciente é determinada a partir de uma curva de calibração.
Referencial	Repouso – 1,1 a 16ng/dl
Posição ortostática	4 a 31 ng/dl

Ocitocina	
Reação	Sangue coletado em tubos Falcon (12. 15 ml) com heparina 10µl/ml de sangue. Logo em seguida centrifugado a 3000 rotações por minuto a 4°C, por 20 minutos, 2 ml de plasma separados em tubos plásticos de 12X75mm e congelados a -70°C até a extração e dosagem do hormônio. A extração da OT é realizada com acetona e éter de petróleo. No radioimunoensaio são utilizados anticorpos de coelho anti-OT e peptídeos marcados com ¹²⁵ I. O primeiro anticorpo foi gerado no coelho e o segundo anticorpo, em cabra. Finalmente, polietilenoglicol a 6,25% é utilizado para a precipitação dos complexos hormônio-anticorpo. A radioatividade no precipitado é determinada com o auxílio de um contador gama (auto gama counting system cobra II da Instrument Company Packard, U.S.A).
Referencial	1,25 – 5ng/L

Peptídeo atrial natriurético	
Reação	Sangue coletado em tubos plásticos Falcon (12 – 15ml), contendo os inibidores de proteases: Pepstatin A – 5mg/14,6ml de metanol, PMSF – 17,42mg/100ml de metanol e EDTA – 93,1mg/250ml de NaCl-0,15M. Utiliza-se 10µl de pepstatina A por ml de sangue, 10µl de PMSF por ml de sangue e EDTA - 10µl por ml de sangue. O sangue é centrifugado a 3000 rotações por minuto, por 20 minutos a 4°C. 2ml de plasma são separados em tubos de plástico – 12X75mm e congelados a -70°C. A concentração plasmática do ANP é determinada por radioimunoensaio, após a extração do mesmo. A extração é realizada com ácido trifluoroacético a 0,1%, por meio de colunas C ₁₈ (SEP – Column RIK-SEPCOL -1, península, laboratories), previamente ativadas com solução de acetonitrila 60% em ácido trifluoroacético 0,1%. No radioimunoensaio são utilizados anticorpos de coelho anti-ANP e peptídeos , marcados com ¹²⁵ I. O hormônio marcado é separado do não marcado com o auxílio da técnica de anticorpo secundário (Anticorpo anti-gama globulina de coelho produzido em cabra). Por fim, polietilenoglicol a 6,25% é utilizado para a precipitação dos complexos hormônio – anticorpo formados. A radioatividade no precipitado é determinada com auxílio de um contador gama (auto-gama counting system cobra II da Instrument Company Packard, U.S.A)
Referencial	15 – 60 pg/ml

Arginina vasopressina	
Reação	Sangue coletado em tubos Falcon (12 – 15ml), contendo heparina - 10µl/ml de sangue. Logo em seguida, centrifugado a 3000 rotações por minuto, por 20 minutos, a 4°C. 2ml de plasma são separados em tubos de plástico – 12X75mm e congelados a -70°C, até a extração e a dosagem do hormônio. A extração da AVP é realizada com acetona e éter de petróleo. No radioimunoensaio são utilizados anticorpos de coelho anti-AVP e peptídeos marcados com ¹²⁵ I. O hormônio marcado é separado do não marcado com o auxílio da técnica de anticorpo secundário (anticorpo anti-gamaglobulina de coelho, produzido em cabra). Por fim, polietilenoglicol – 2,5% é utilizado para a precipitação dos complexos hormônio-anticorpo formados. A radioatividade no precipitado é determinada com o auxílio de um contador gama (auto-gama counting system cobra II da Instrument Company Packard, U.S.A).
Referencial	1 a 3 pg/ml

3.7 Processamento e análise dos dados

Para análise dos dados (ALTMAN, 1991) foram obtidas as medidas estatísticas: média, desvio padrão, mediana e percentis 25 e 75 e o valor da correlação de Spearman (Técnicas de estatística descritiva) e foram utilizadas Técnicas de estatística inferencial através dos testes t-Student com variâncias iguais, Mann-Whitney e teste para a hipótese de correlação nula.

Ressalta-se que a verificação da hipótese de igualdade de variâncias foi realizada através do teste F de Levene e o teste t-Student foi aplicado quando foi verificada a hipótese de normalidade dos dados em cada grupo. O teste de Mann-Whitney quando a hipótese de normalidade dos dados não foi verificada em pelo menos um dos grupos.

A margem de erro utilizada nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%.

O software utilizado para digitação dos dados e obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 17.

3.8 Aspectos éticos

A pesquisa foi autorizada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (ANEXO A).

RESULTADOS

Nas Tabelas de 1 e 2 são apresentadas as medidas estatísticas das variáveis do estudo segundo o grupo. Em relação à idade (Tabela 1) se destaca que: a média da idade foi aproximadamente 5 anos mais elevada no grupo da carbamazepina do que no grupo controle (35,42 vs $\pm$ 30,63 anos), entretanto para a margem de erro fixada (5,0%) não se comprova diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 1 – Estatísticas da idade em anos dos pesquisados segundo o grupo

Estatísticas	Grupos		Valor de p
	Carbamazepina	Controle	
Média	35,42	30,63	$p^{(1)} = 0,149$
Desvio padrão	10,67	9,23	
Mínimo	19	19	
P25	25,00	23,00	
Mediana	35,00	28,00	
P75	45,00	37,00	
Máximo	52	55	

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

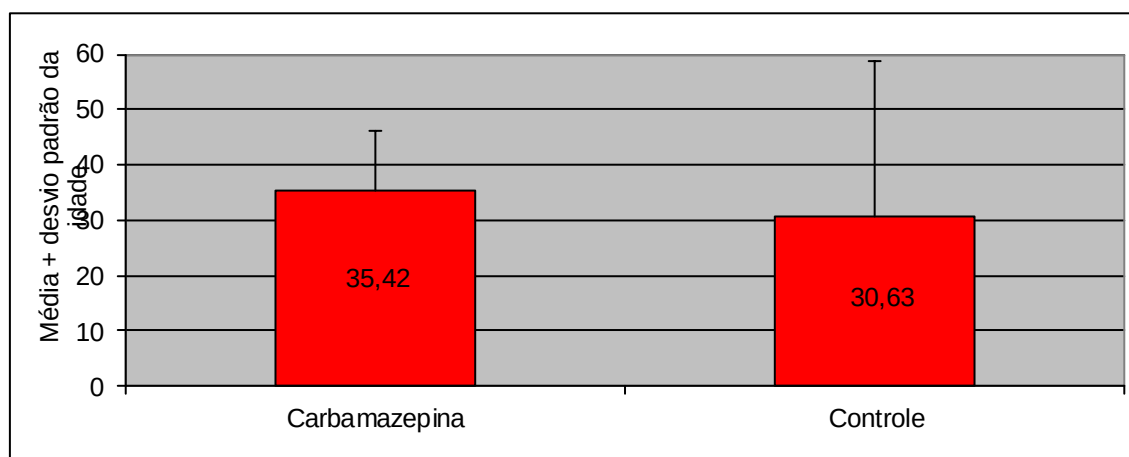


Gráfico 1 – Média + desvio padrão da idade segundo o grupo

Dos resultados contidos na Tabela 2 se destaca que: as médias foram respectivamente mais elevadas no grupo da carbamazepina do que no controle, entretanto sem diferenças significativas ($p > 0,05$). A variabilidade expressa através do desvio padrão se mostra elevada para a variável triglicerídeos, desde que as referidas medidas foram superiores a metade das médias correspondentes.

Tabela 2 – Estatísticas das variáveis: triglicerídeos, sódio e creatinina, segundo o grupo.

Variáveis	Estatísticas	Grupos		Valor de p
		Carbamazepina	Controle	
• Triglicerídeos mg/dl	Média	132,47	124,95	$P^{(1)} = 0,817$
	Desvio padrão	94,27	109,90	
	Mínimo	40	52	
	P25	61,00	67,00	
	Mediana	95,00	84,00	
	P75	174,00	127,00	
	Máximo	391	508	
• Sódio mEq/L	Média	140,47	139,05	$P^{(1)} = 0,116$
	Desvio padrão	3,03	1,90	
	Mínimo	138	137	
	P25	138,00	138,00	
	Mediana	140,00	139,00	
	P75	142,00	140,00	
	Máximo	149	144	
• Creatinina mg/dl	Média	0,79	0,72	$P^{(1)} = 0,057$
	Desvio padrão	0,16	0,13	
	Mínimo	1	1	
	P25	0,70	0,60	
	Mediana	0,80	0,70	
	P75	0,80	0,70	
	Máximo	1	1	

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(1): Através do teste Mann-Whitney.

Triglicerídeos – desejável <150mg/dl

Sódio – 136-145 mEq/L

Creatinina – 0,7 – 1,3 mg/dl – para homem

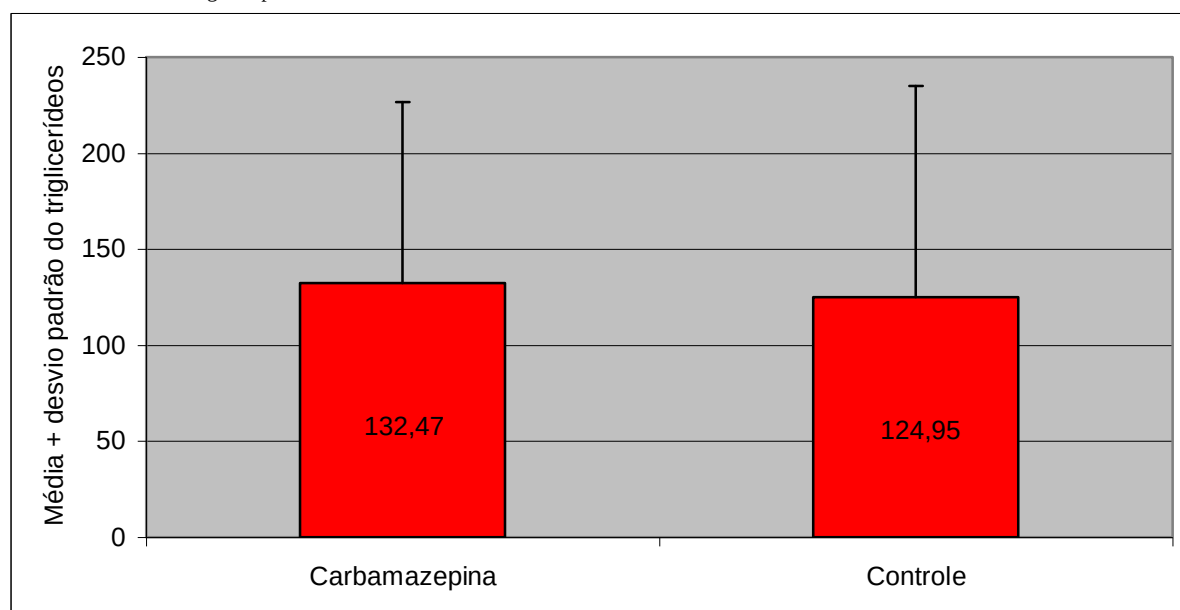


Gráfico 2 – Média + desvio padrão do triglicerídeos segundo o grupo

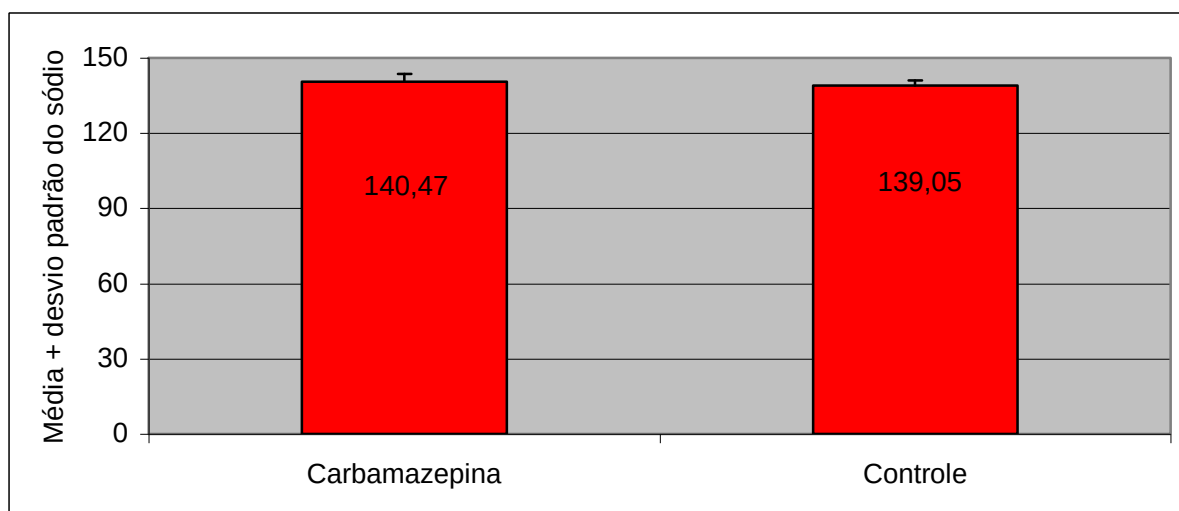


Gráfico 3 – Média + desvio padrão do sódio segundo o grupo

Dos resultados contidos na Tabela 3 se destaca que: com exceção da variável AVP que apresentou média mais elevada no grupo da carbamazepina, as demais médias foram respectivamente mais elevadas no grupo controle, entretanto, sem diferenças significativas ($p > 0,05$). A variabilidade oscilou de reduzida a elevada.

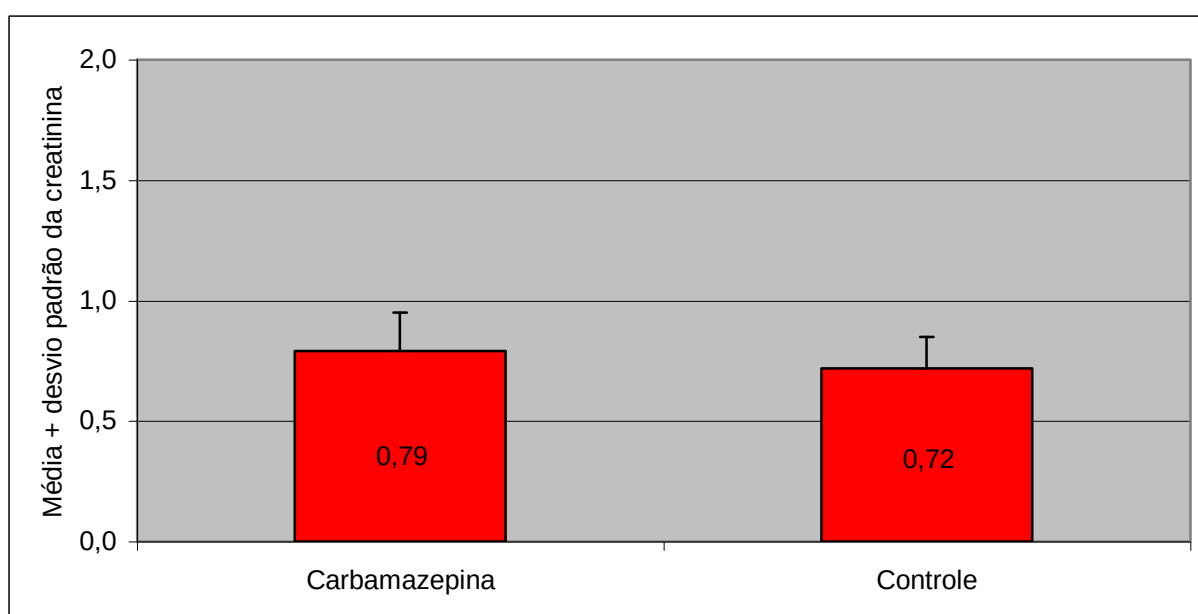


Gráfico 4 – Média + desvio padrão da creatinina segundo o grupo

Tabela 3 – Estatísticas das variáveis: cortisol, aldosterona, AVP, OT e ANP dos pesquisados segundo o grupo

Variáveis	Estatísticas	Grupo		Valor de p
		Carbamazepina	Controle	
• Cortisol µg/dl	Média	11,28	12,65	$p^{(1)} = 0,378$
	Desvio padrão	4,11	5,31	
	Mínimo	5	6	
	P25	9,00	8,80	
	Mediana	10,00	10,60	
	P75	14,70	15,20	
	Máximo	20	25	
• Aldosterona ng/dl	Média	4,88	6,25	$p^{(2)} = 0,297$
	Desvio padrão	6,49	5,50	
	Mínimo	1	1	
	P25	2,00	2,00	
	Mediana	3,00	4,00	
	P75	4,00	9,00	
	Máximo	29	17,70	
• AVP pg/ml	Média	0,82	0,71	$p^{(2)} = 0,443$
	Desvio padrão	0,45	0,41	
	Mínimo	0,43	0,40	
	P25	0,49	0,48	
	Mediana	0,64	0,59	
	P75	1,11	0,81	
	Máximo	1,82	2,15	
• OT ng/L	Média	0,43	0,61	$p^{(2)} = 0,126$
	Desvio padrão	0,23	0,36	
	Mínimo	0,32	0,32	
	P25	0,32	0,32	
	Mediana	0,32	0,46	
	P75	0,46	0,87	
	Máximo	1,04	1,49	
• ANP pg/ml	Média	6,43	7,05	$p^{(2)} = 0,858$
	Desvio padrão	1,61	3,35	
	Mínimo	5,69	5,69	
	P25	5,69	5,69	
	Mediana	5,69	5,69	
	P75	6,73	5,69	
	Máximo	11,76	17,60	

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(1): Atráves do teste t-Student,

(2): através do teste Mann-Whittney.

Cortisol – 5 a 25 µg/dl

Aldosterona-reposuo:1,1-16 ng/dl

AVP-1-3pg/ml

OT-1,25-5ng/L

ANP-15-60 pg/ml

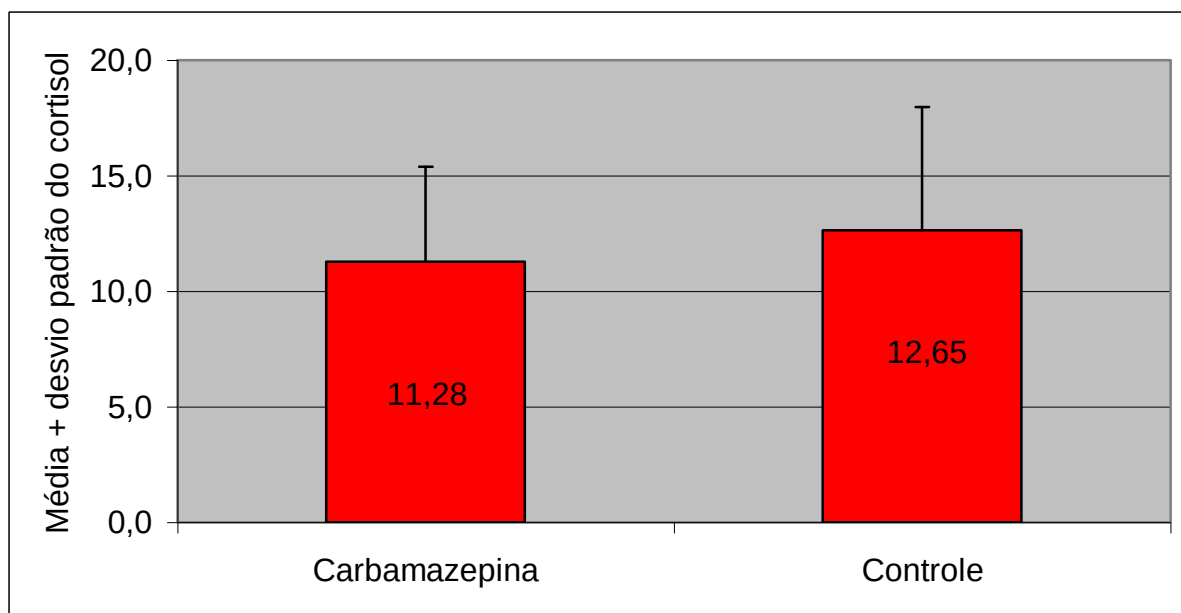


Gráfico 5 – Média + desvio padrão do cortisol segundo o grupo

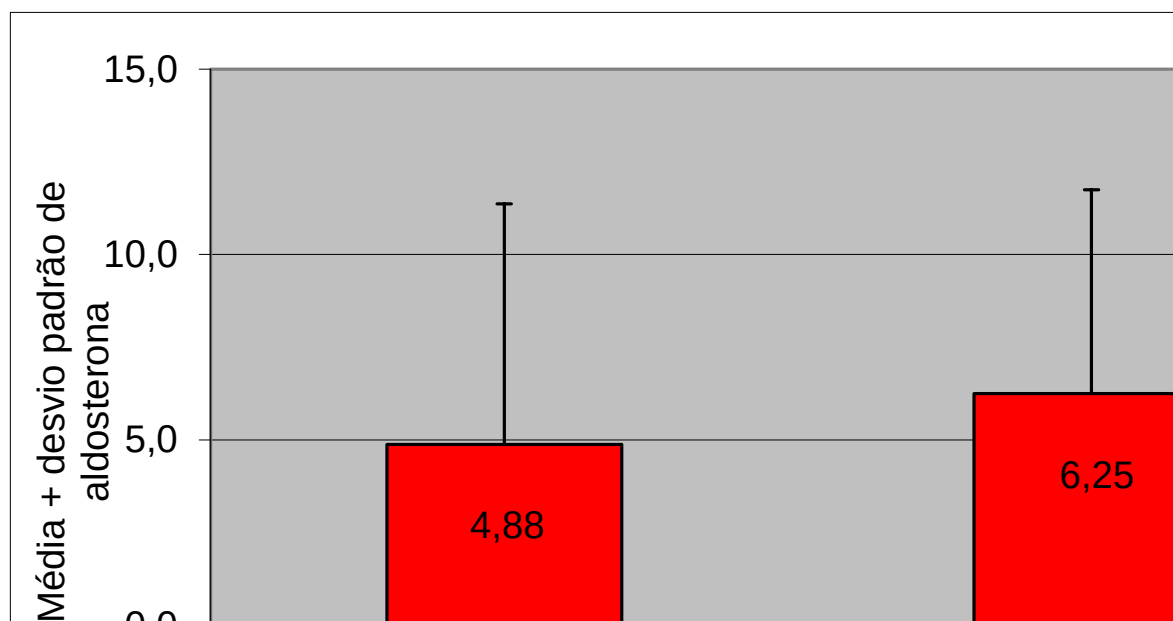


Gráfico 6 – Média + desvio padrão da aldosterona segundo o grupo.

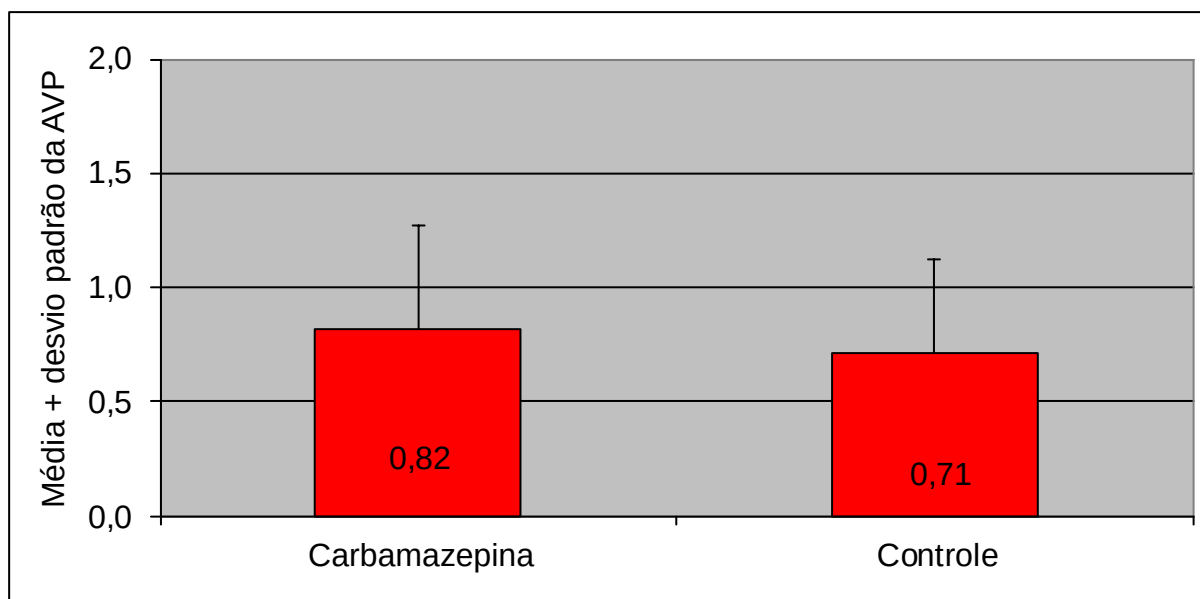


Gráfico 7 – Média + desvio padrão da AVP segundo o grupo

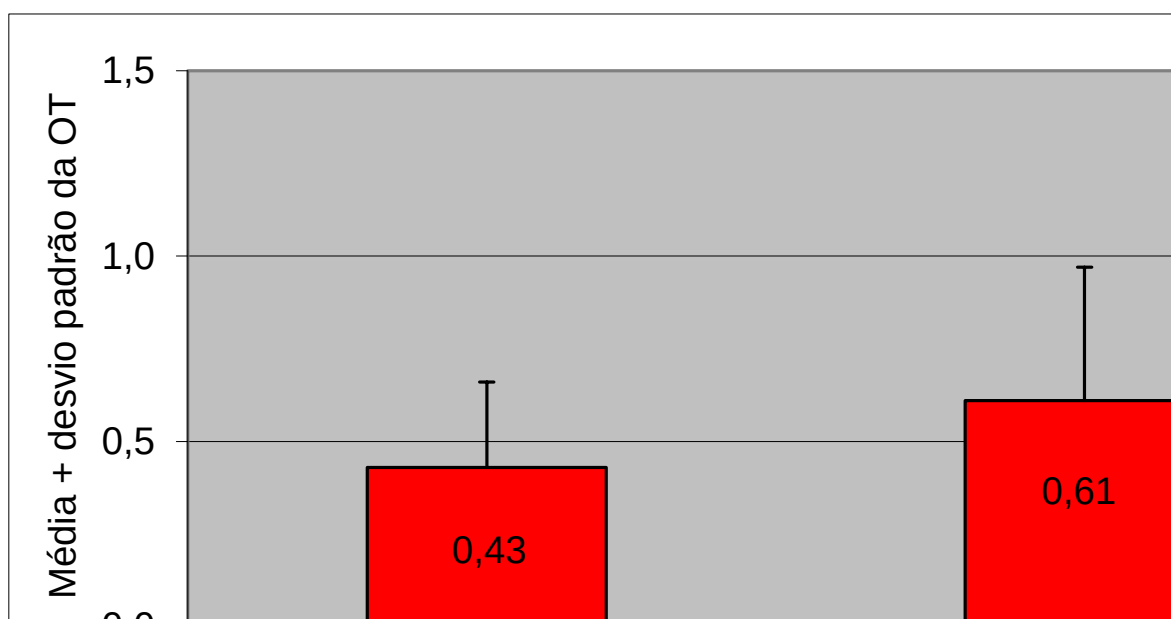


Gráfico 8 – Média + desvio padrão da OT segundo o grupo

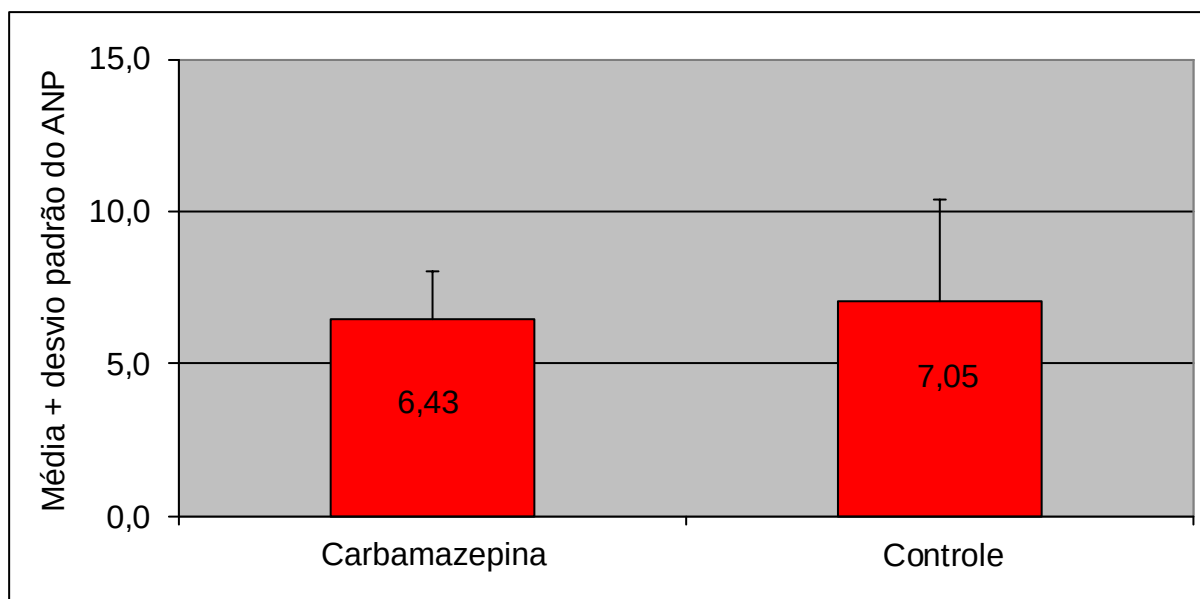


Gráfico 9 – Média + desvio padrão do ANP segundo o grupo

Nas Tabelas 4 e 5 se apresentam as medidas da correlação de Spearman entre AVP com as variáveis bioquímicas e com os hormônios por grupo.

Da Tabela 4 se destaca que: as duas maiores correlações foram registradas entre AVP com sódio no grupo controle (0,467) e creatinina no grupo controle (0,375).

Tabela 4 – Correlação de Spearman entre AVP com as variáveis: triglicerídeos, sódio, creatinina, segundo o grupo

Variáveis	Grupos	
	Carbamazepina	Controle
	$r_s(p)$	$r_s(p)$
• Triglicerídeos mg/dl	-0,153 (0,557)	-0,215 (0,392)
• Sódio mEq/L	0,234 (0,366)	0,467 (0,051)
• Creatinina mg/dl	-0,352 (0,166)	0,375 (0,125)

(*): Correlação estatisticamente diferente de zero a 5,0%.

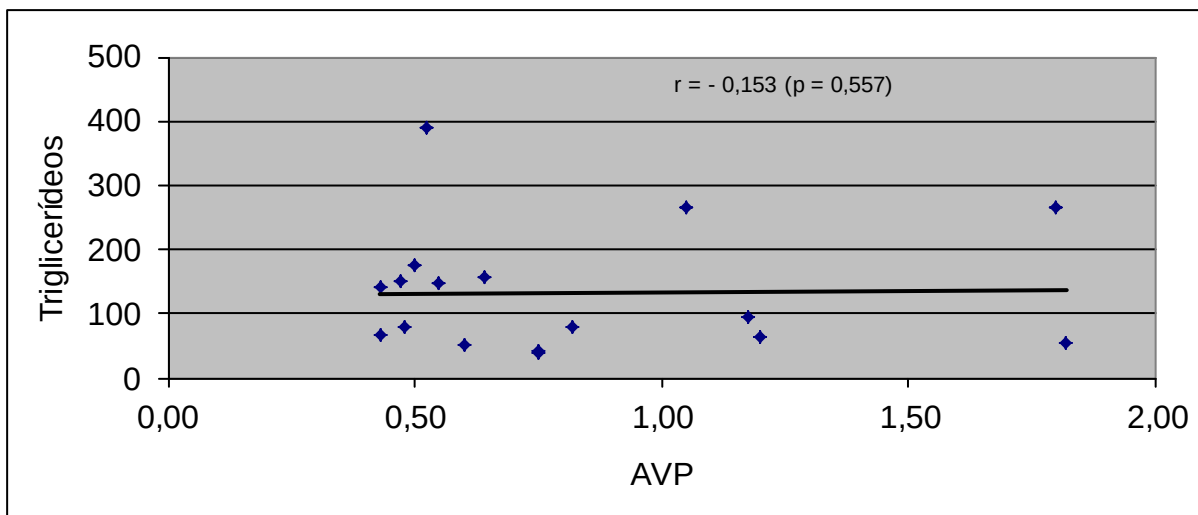


Gráfico 10 - Dados de AVP e triglicerídeos no grupo da carbamazepina

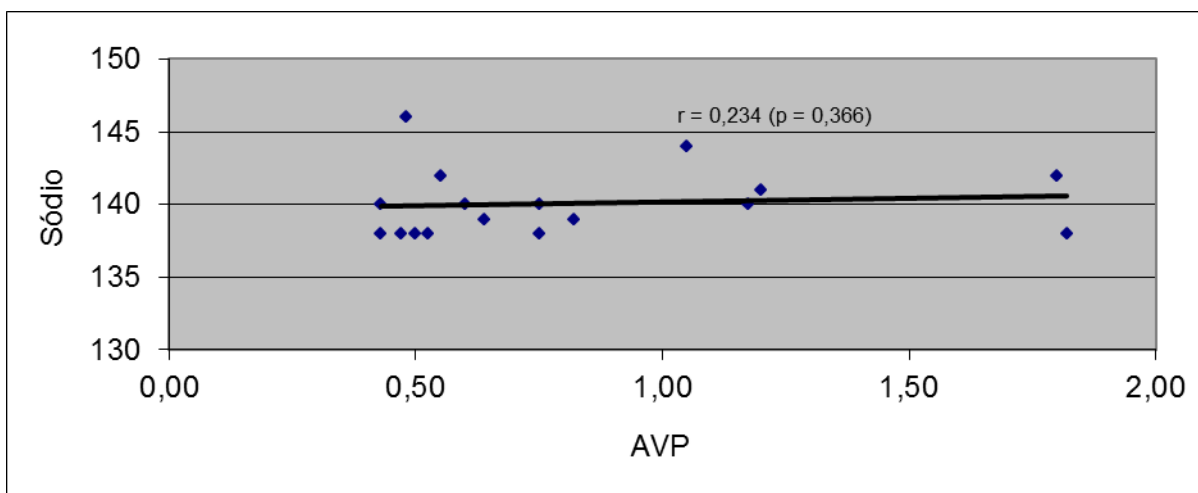


Gráfico 11 - Dados de AVP e sódio no grupo da carbamazepina

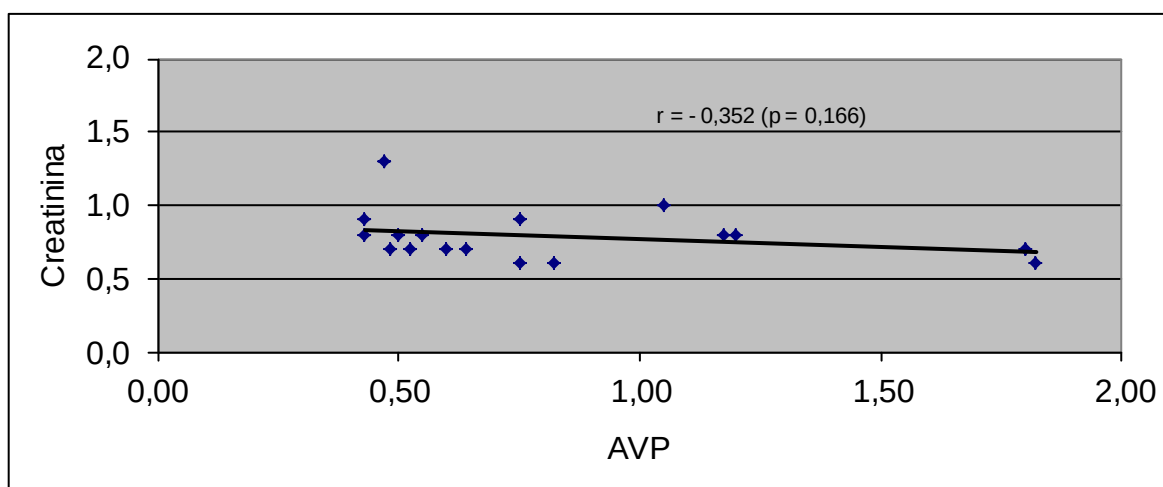


Gráfico 12 - Dados de AVP e creatinina no grupo da carbamazepina

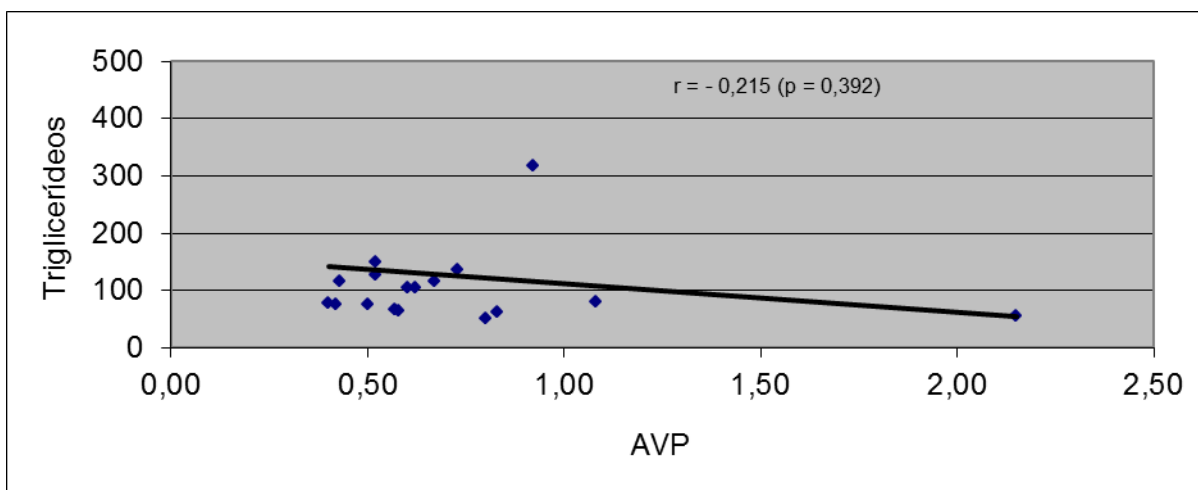


Gráfico 13 - Dados de AVP e triglicerídeos no grupo controle

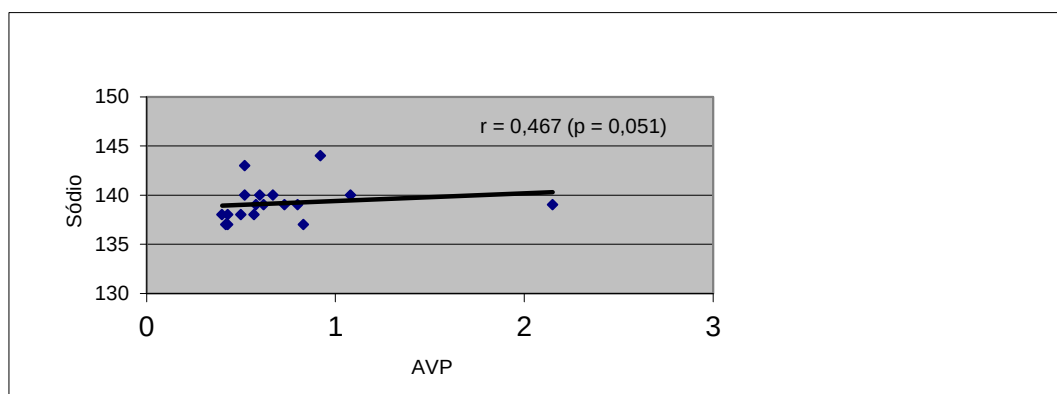


Gráfico 14 - Dados de AVP e sódio no grupo controle

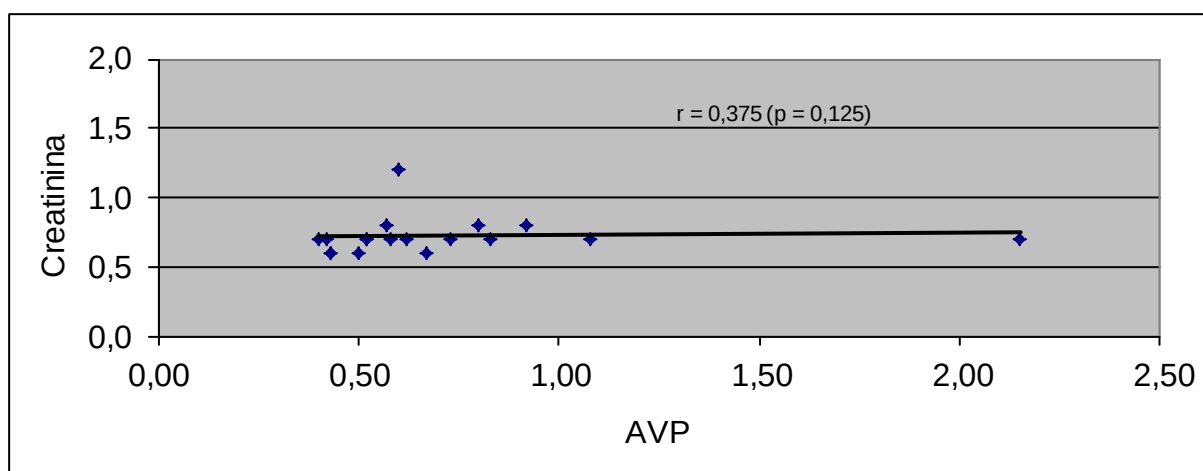


Gráfico 15 - Dados de AVP e creatinina no grupo controle

No gráfico 10, observamos que os triglicerídeos permanecem praticamente inalterados para os diversos valores da AVP, de modo que não há significância na correlação.

No gráfico 11, observamos que o sódio também fica praticamente inalterado para os diversos valores da AVP, de modo que não há significância na correlação.

No gráfico 12, também a modificação do nível da creatinina para os diversos valores da AVP não é significativa.

Nos gráficos 13, 14 e 15 também temos as mesmas constatações com relação ao grupo controle: inexistência de qualquer correlação significativa.

Da Tabela 5 se destaca que a única correlação estaticamente diferente de ‘zero de AVP foi positiva e ocorreu com OT ($p < 0,05$).

Tabela 5 – Correlação de Spearman entre AVP com as variáveis: cortisol, aldosterona, OT e ANP, segundo grupo

Variáveis	Grupos	
	Carbamazepina	Controle
	$r_s (p)$	$r_s (p)$
• Cortisol ($\mu\text{g/dl}$)	-0,054 (0,837)	-0,166 (0,509)
• Aldosterona (ng/dl)	-0,310 (0,225)	-0,249 (0,320)
• OT (ng/L)	0,571 (0,017)*	0,096 (0,704)
• ANP (pg/ml)	0,020 (0,940)	0,122 (0,628)

(*): Correlação estatisticamente diferente de zero a 5,0%.

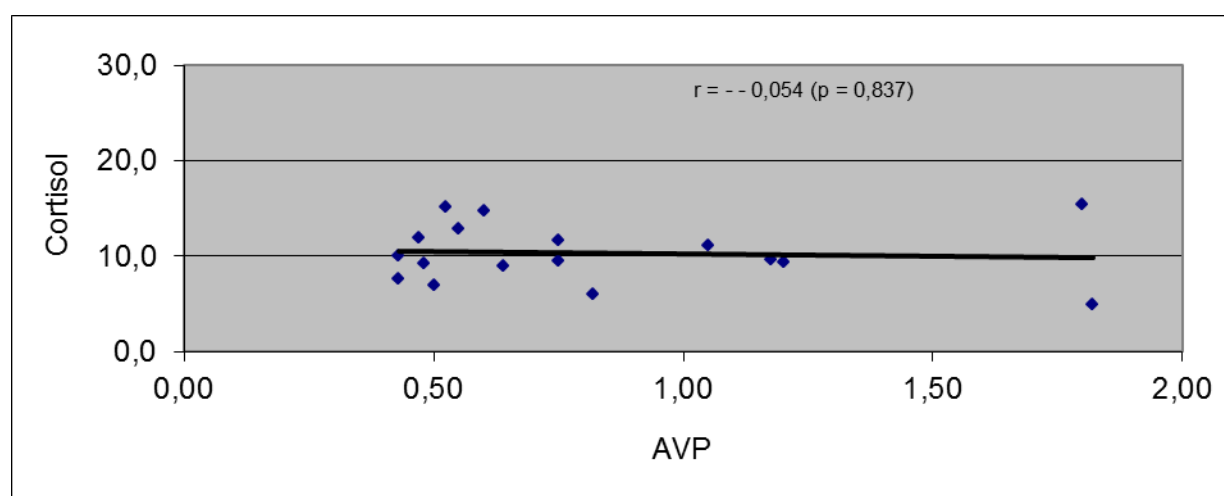


Gráfico 16 – Dados de AVP e cortisol no grupo da carbamazepina

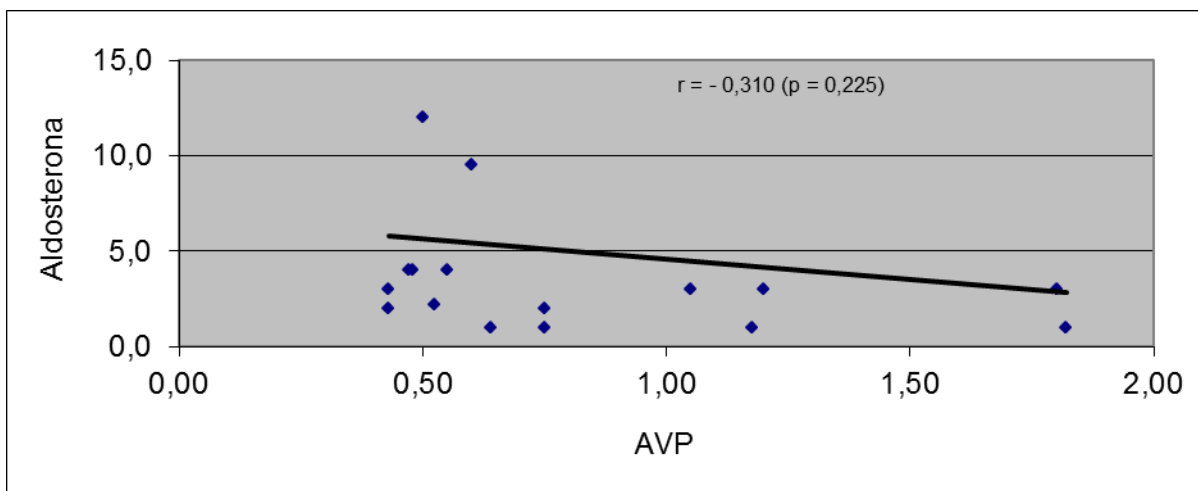


Gráfico 17 – Dados de AVP e aldosterona no grupo da Carbamazepina

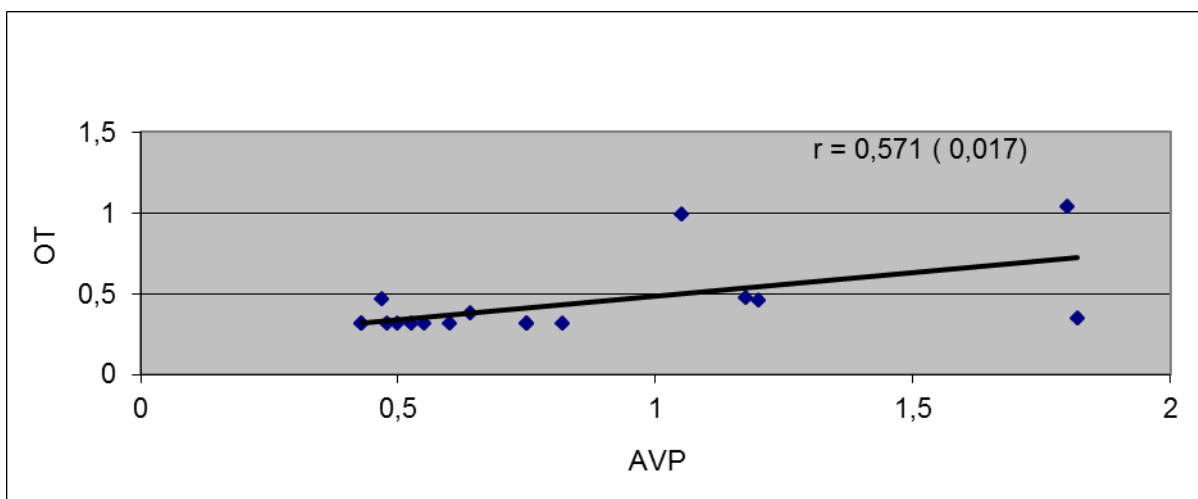


Gráfico 18 – Dados de AVP e OT no grupo da Carbamazepina

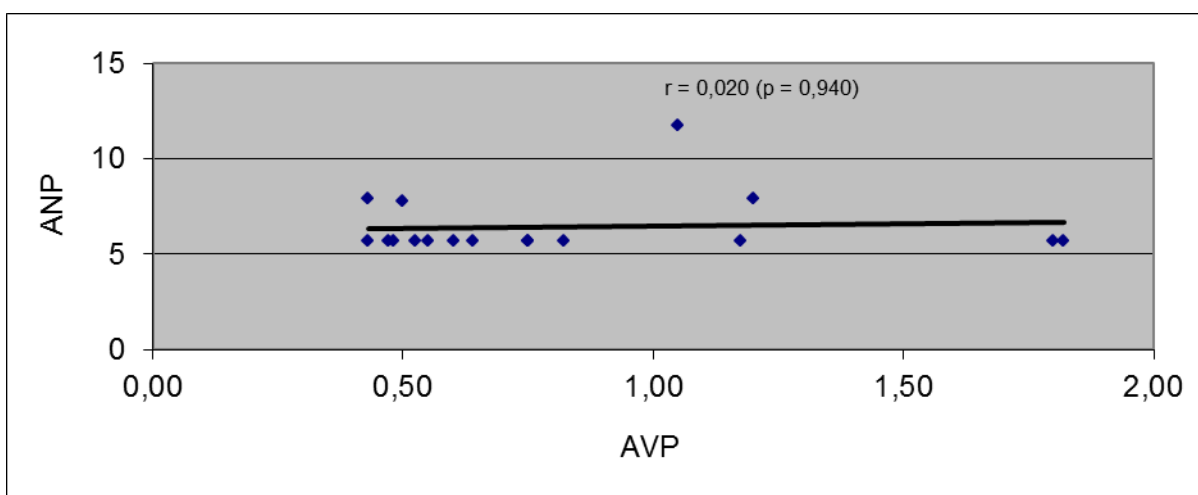


Gráfico 19 – Dados de AVP e ANP grupo da Carbamazepina

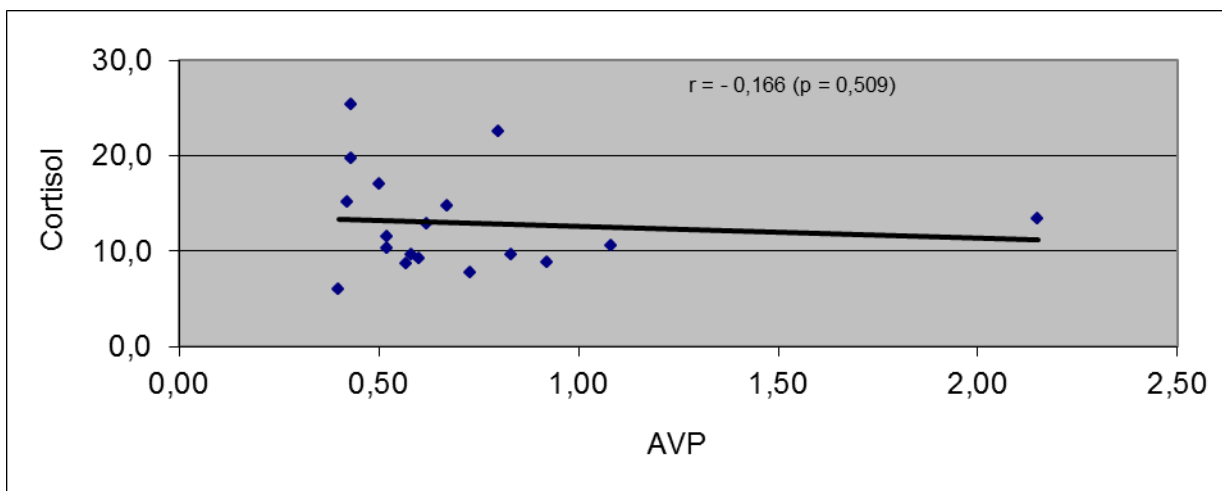


Gráfico 20 – Dados de AVP e cortisol grupo Controle

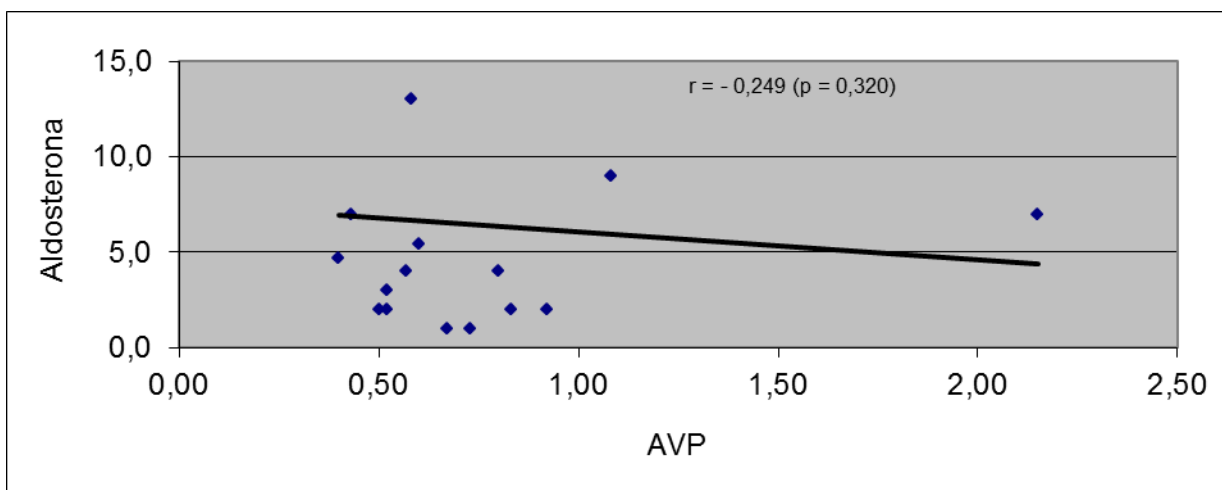


Gráfico 21 – Dados de AVP e aldosterona no grupo Controle

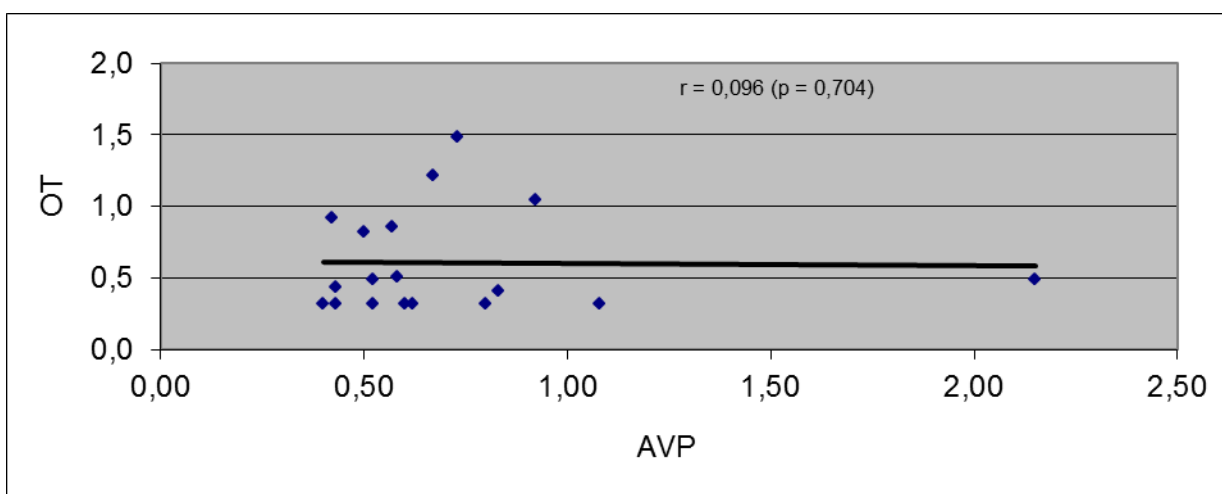


Gráfico 22 – Dados de AVP e OT no grupo Controle

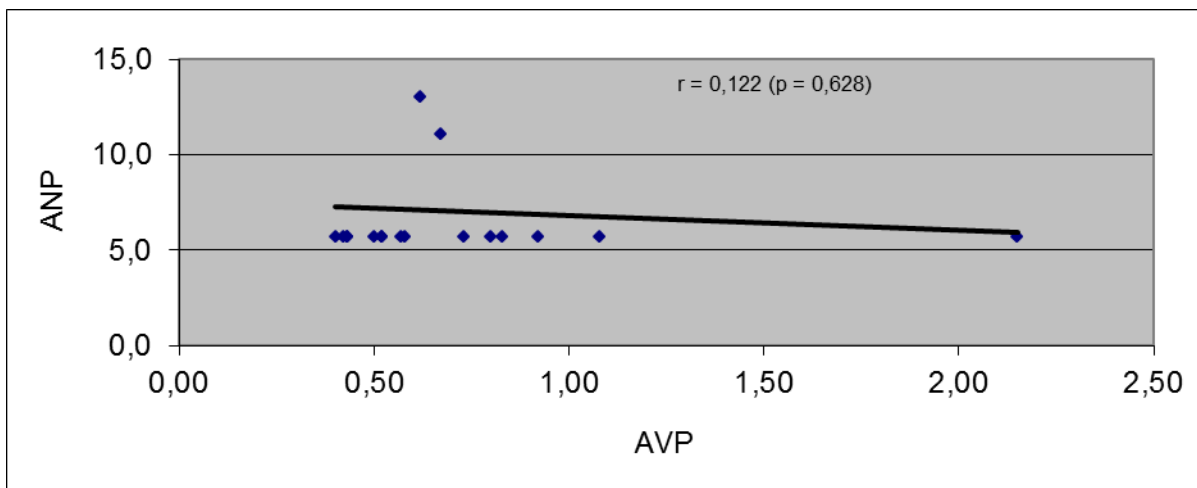


Gráfico 23 – Dados de AVP e ANP no grupo Controle

No gráfico 16, à medida que a AVP aumenta, o cortisol permanece praticamente com o mesmo valor, de modo que a correlação não é significativa.

No gráfico 17, apesar de ocorrer uma queda na aldosterona com relação ao aumento da AVP, também não há uma correlação significativa.

No gráfico 18, à medida que a AVP aumenta, a OT também aumenta e a relação é significativa – $p=0,017$, pela correlação de Spearman.

No gráfico 19, à medida que a AVP aumenta, o ANP permanece praticamente com o mesmo valor, de modo que a correlação não é significativa.

Nos gráficos 20, 21, 22 e 23 não há qualquer correlação significativa entre AVP e o cortisol, aldosterona, OT e ANP no grupo controle.

5 DISCUSSÃO

Como os pacientes foram pareadas de forma mais ou menos equivalente ao grupo controle, o primeiro dado analisado, a idade, mostrou-se sem diferença significativa do ponto de vista estatístico com relação aos controles. Também é sabido que a epilepsia pode ocorrer em qualquer faixa etária.

Com relação aos triglicerídeos, estes mostraram-se, em média, um pouco mais elevados no grupo da carbamazepina, mas também sem significância estatística com relação ao grupo controle. Uma das explicações para este achado é o fato da droga propiciar aumento do peso.

Com relação ao sódio plasmático, está descrito na literatura que em doses terapêuticas, a carbamazepina pode causar hiponatremia (LAHR, 1985). Enquanto alguns autores sugerem que distúrbios hidroeletrólíticos são comuns (STEPHENS et al, 1977), outros sugerem que são raros (HELIN et al, 1977; KALFF et al, 1984).

Os pacientes mostraram uma natremia normal sob a ação da carbamazepina, concordando com aqueles autores que ao estudar o efeito da droga sobre o nível plasmático do sódio, dificilmente encontram alguma alteração.

Segundo Kuz & Manssourian (2005), a incidência de hiponatremia associada com a carbamazepina varia de 1,8% a 40%. A hiponatremia severa em pacientes tratados em monoterapia é incomum. Muitos fatores de risco tem sido relatados no sentido de aumentar a possibilidade de hiponatremia, incluindo idade superior a 40 anos, uso concomitante de medicação associada com hiponatremia, distúrbio psiquiátrico, cirurgia, polidipsia psicogênica e ser do sexo feminino.

É possível que o não surgimento de hiponatremia nos pacientes se deva ao fato da maioria dos fatores de risco citados estar ausente nos nossos doentes.

Nossos pacientes mostraram uma natremia média superior inclusive àquela do grupo controle, apesar de não ter havido significância estatística entre os dois grupos.

Com relação à creatinina, não encontramos na literatura estudos sobre os seus níveis plasmáticos sob o efeito da carbamazepina. Os nossos pacientes apresentaram níveis normais de creatinina, o que afasta a possibilidade de alterações mais importantes da função renal concorrerem para alguma modificação nos achados do nosso estudo.

Com relação a AVP, a literatura sobre o assunto é contraditória a respeito dos seus níveis plasmáticos sob a ação da carbamazepina. Alguns acham que a droga promove uma

secreção inapropriada da AVP (SMITH; ESPIR; BAYLIS, 1977), outros acham que o hormônio se mantém inalterado no plasma (GOLD et al, 1983), enquanto alguns acreditam na diminuição dos seus níveis (THOMAS, et al, 1977).

Os nossos pacientes apresentaram níveis da AVP sem diferença estatisticamente significativa com relação aos controles, embora a média dos níveis do hormônio tenha sido mais elevada no grupo dos pacientes.

Com relação ao cortisol, não encontramos na literatura estudos sobre os seus níveis plasmáticos sob o efeito da carbamazepina. Os pacientes apresentaram níveis normais de cortisolemia, sem diferença estatística com o grupo controle, apesar da média do cortisol plasmático ser mais baixa entre os pacientes. Este achado mostra que pelo menos em nosso meio, o cortisol não se altera sob a ação do anticonvulsivante, contribuindo deste modo para a manutenção de uma natremia normal.

Com relação à aldosterona, também não encontramos na revisão da literatura publicações a respeito dos seus níveis plasmáticos sob a ação da carbamazepina, a exceção de uma publicação (ISOJARVI et al, 2001), onde aparece com níveis normais. Os nossos pacientes mostraram também níveis normais do hormônio, sem diferença estatisticamente significativa com relação aos controles, evidenciando que não deve concorrer para alteração do sódio plasmático.

Com respeito ao ANP, encontramos apenas um estudo sobre os seus níveis plasmáticos quando do uso da carbamazepina (ISOJARVI et al, 2001), mostrando níveis adequados. Este estudo foi realizado com 10 epiléticos do sexo masculino em monoterapia com carbamazepina inicialmente e depois com oxcarbazepina. Neste estudo todos os pacientes eram epiléticos e a dose diária de carbamazepina era a mesma há pelo menos 1 ano, com uma duração média de tratamento de 7,5 anos (1-15 anos).

Nossos pacientes mostraram níveis do ANP sem diferença estatisticamente significativa para o grupo controle.

Quanto à OT, não há estudos sobre os seus níveis no plasma sob o efeito da carbamazepina. Nos nossos pacientes não houve diferença significativa em relação aos controles.

Em função dos nossos achados mostrarem todos os dados obtidos sem diferença estatística significativa com relação ao grupo controle, fizemos uma correlação entre a AVP, hormônio mais estudado sob a ação da carbamazepina com relação ao sódio do plasma, com os triglicerídeos, creatinina, sódio, assim como com os outros hormônios, tentando surpreender algum achado significativo.

Novamente quase todas as correlações foram sem significância estatística, à exceção da correlação entre a AVP e a OT, que se mostrou positiva, com um p de 0,017, ou seja, à medida que a AVP aumenta a OT também o faz. Tal correlação nos faz raciocinar no sentido de que a OT, ao aumentar, poderia contribuir, por sua ação natriurética, para que os níveis plasmáticos do sódio diminuíssem, somando-se ao efeito potencialmente hiponatremico da AVP, que atuaria promovendo a diminuição do sódio por aumento da reabsorção de água.

Esta correlação reflete a neurofisiologia conhecida a respeito dos dois hormônios, pois muitos estímulos, como impulsos sinápticos excitatórios glutamaérgicos (STERN; LUDWING, 2001), a hiperosmolalidade e a hipovolemia, fazem com que esses dois hormônios sejam secretados.

Apesar da correlação positiva, os níveis médios da OT foram mais baixos nos nossos pacientes com relação aos controles, como vimos na secção dos resultados, embora não houvesse diferença significativa entre os dois grupos.

6 CONCLUSÃO

A nossa tese mostrou que:

- ❖ Não há aumento significativo dos triglicerídeos com relação aos que não tomam a droga;
- ❖ Os níveis de creatinina mostraram-se normais sob a ação da carbamazepina;
- ❖ O sódio plasmático, objeto maior do nosso trabalho, mostrou-se normal sob o efeito da droga;
- ❖ Todos os hormônios dosados e que participam do metabolismo do sódio, não mostraram diferença significativa com relação ao grupo controle, apesar da correlação positiva entre AVP e OT;
- ❖ Deste modo ao nos depararmos com uma natremia normal em pacientes fazendo uso da carbamazepina como monoterapia, há uma forte probabilidade dos níveis da aldosterona, cortisol, OT, ANP e AVP serem adequados.

REFERÊNCIAS

ALTEMAN, G. D. *Practical Statistics for Medical Research*. London: Chapman and Hall; 1991.

ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiological Reviews*, United States, v.84, n.1, p.169-208, 2004.

ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. Controle neuroendócrino da homeostase dos fluidos corporais. In: ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. (editores). *Neuroendocrinologia Básica e Aplicada*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro; 2005. p.81-115.

ASHTON, M. G. et al. Water intoxication associated with carbamazepine treatment. *British Medical Journal*, London, v.1, n.6069, p.1134-1135, 1977.

BASTOS, R. et al. Alpha-adrenergic agonists inhibit the dipsogenic effect of angiotensin II by their stimulation of atrial natriuretic peptide release. *Brain Research*, Netherlands, v.895, n.1-2, p.80-88. 2001.

BHUMBRA, G. S.; DYBALL, R. E. Measuring spike coding in the supraoptic nucleus. *The Journal Physiology*, Cambridge, v.555, n.1, p.281-296, 2004.

BOURQUE, C. W.; OLIET, S. H.; RICHARD, D. Osmoreceptors, osmoreception and osmoregulation. *Front Neuroendocrinol*, United States, v.15, n.3, p.231- 274, 1994.

CHAN, T. Y. Drug-induced syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion. Causes, diagnosis and management. *Drugs Aging*, New Zealand, v.11, n.1, p.27-44, 1997.

CHRIGUER, R. S. et al. Hypothalamic atrial natriuretic peptide and secretion of oxytocin. *Brain Research*, Netherlands, v.889, n.1-2, p.239-242, 2001.

CZAPINSKI, P.; BLASZCYK, B.; CZUCZWAR, S. J. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, North America, v.5, n.1, p.3-14, 2005.

de BOLD, A. J. et al. A Rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sciences*, Netherlands, v.28, n.1, p. 89-94, 1981.

de BRAGANÇA, A. C.; MOYSES, Z. P.; MAGALDI, A. J. Carbamazepine can induce kidney water absorption by increasing aquaporin₂ expression. *Nephrology Dialysis Transplantation*, England, v.25, n.12, p.3840 -3845, 2010.

ELIAS, L. L. K. et al. Neurohypophyseal hormones and atrial natriuretic peptide in the control of body fluid homeostasis. *Annual Review Biomedical Sciences*, São Paulo, v.3, n.1, p.5-47, 2001.

FARMAN, N.; BONVALET, J. P. Aldosterone Binding in isolated tubules. III. Autoradiography along the rat nephron. *The American Journal of Physiology*, United States, v.245, 5 pt.1, p.606-614, 1983.

FAVARETTO, A. L. et al. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide from rat atria in vitro that exerts negative inotropic and chronotropic action. *Peptides*, United States, v.18, n.19, p.1377-1381, 1997.

FOUQUERA, Y. B.; PAILLARD, F.; BAUD, L. Syndromes polyuropolydipsiques. *La Presse Médicale*, Paris, v.27, n.30, p.1545-1553, 1998.

FRANCI, C. R. et al. Identification of pathways involved in the natriuretic, kaliuretic and diuretic responses induced by cholinergic stimulation of the medial septal (MSA). *Physiology and Behavior*, United States, v.30, n.1, p.65-71, 1983.

FREGONEZE, J. B. et al. Role of opiates in the regulation of water and salt metabolism; effects of EK 33-824 injection into the subfornical organ of normal and hypophysectomized rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, São Paulo, v.21, n.3, p.641-644, 1988.

GADELMAN, M. S. Review of carbamazepine induced hyponatremia. *Progress Neuropsychopharmacol & Biological Psychiatry*, England, v.18, n.2, p.211-233, 1994.

GIUSTI-PAIVA, A. et al. Inducible nitric oxide synthase pathway in the central nervous system and vasopressin release during experimental septic shock. *Critical Care Medicine*, United States, v.30, n.6, p.1306-1310, 2002.

GOLD, P. W. et al. Carbamazepine diminished the sensitivity of the plasma arginine vasopressin response to osmotic stimulation. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, United States, v.57, n.5, p.952-957, 1983.

GUTKOWSKA, J.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; MCCANN, S. M. Atrial natriuretic peptide in brain and pituitary gland. *The Journal Physiology*, Cambridge, v.77, n.2, p.465-515, 1997.

GUTKOWSKA, J. et al. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, United States, v.94, n.21, p.11704-11709, 1997.

HELIN, I. et al. Serum sodium and osmolality during carbamazepine treatment in children. *British Medical Journal*, Bethesda, v.2, n.6086, p.558, 1977.

HIRASAWA, M. et al. Vasopressin differentially modulates non-NMDA receptors in vasopressin and oxytocin neurons in the supraoptic nucleus. *The Journal of Neuroscience*, United States, v.23, n.10, p.4270-4207, 2003.

ISHIBASHI, K. New members of mammalian aquaporins: AQP10 – AQP 12. *Handbook of Experimental Pharmacology*, Germany, v.190, p.251-62, 2009.

ISOJARVI, J. I. et al. The regulation of serum sodium after replacing carbamazepine with oxcarbazepine. *Epilepsia*, United States, v.42, n.6, p.741-745, 2001.

ITOI, K. et al. Regulatory mechanisms of corticotrophin-releasing hormone and vasopressin gene expression in the hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology*, England, v.16, n.4, p.348-355, 2004.

KALFF, R. et al. Carbamazepine and serum sodium levels. *Epilepsia*, United States, v.25, n.3, p.390-397, 1984.

KARCESKI, S.; MORELL, M. J.; CARPENTER, D. Treatment of epilepsy in adults; expert opinion. *Epilepsy Behavior*, United States, v.7, suppl. 1, p.1-64, 2005.

KLING, M. A. et al. Effects of local anesthetics on experiential, physiologic and endocrine measures in healthy humans and on rat hypothalamic corticotrophin-releasing hormone release in vitro; clinical and psychobiologic implications. *The Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*, United States, v.268, n.3, p.1548-1564, 1994.

KNIEPER, M. A. et al. Mechanisms of vasopressin action in the renal collecting duct. *Seminars Nephrology*, United States, v.14, n.4, p.302-321, 1994.

KUZ, E.M.; MANSSOURIAN, A. Carbamazepine-induced hyponatremia: assessment of risk factors. *Annals Pharmacotherapy*, United States, v. 39, n.11, p. 1943-1946, 2005.

KWON, T. H. et al. Aquaporins in the kidney. *Handbook of Experimental Pharmacology*, Germany, v.190, p.95-132, 2009.

LAHR, M. I. B. Hyponatremia during carbamazepine therapy. *Clinical Pharmacology Therapeutics*, United States, v.37, n.6, p.693- 696, 1985.

LI, D. P.; PAN, H. L. Potentiation of glutamatergic synaptic input to supraoptic neurons by presynaptic nicotinic receptors. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Compative Physiology*, United States, v.281, n.4, p.1105-1113, 2001.

MATOUSSI, N. et al. Central diabetes insipidus: diagnostic difficulties. *Annales Endocrinology*, França, v.69, n.3, p.231-239, 2008.

MCCANN. S. M.; GUTKOWSKA, J.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Neuroendocrine control of body fluid homeostasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, São Paulo, v.36, n.2, p.165-168, 2003.

MOREIRA, A. C. et al. Evolução dos conceitos em neuroendocrinologia. In: Antunes-Rodrigues, J. et al. (editores). *Neuroendocrinologia Básica e Aplicada*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro; 2005. p.1-8.

MUZINA, D. J.; CALABRESE, J. R. Maintenance therapies in bipolar disorder: focus on randomized controlled trials. *Royal Australian and New Zealand College of Psychiatrists*, England, v.39, n.8, p.652-661, 2005.

NAVES, L. A. et al. Distúrbios na secreção e ação do hormônio antidiurético. *Arquivos Brasileiros Endocrinologia Metabologia*, São Paulo, v.47, n.4, p.347-357, 2003.

PACK, A. Effects of treatment on endocrine function in patients with epilepsy. *Current Treatment Options in Neurology*, United States, v.7, n.4, p.273-280, 2005.

REEVES, W. B.; BICHET, D. G.; ANDREOLLI, T. E. The posterior pituitary and water metabolism. In: Wilson, J. D. et al. (eds). *Williams Textbook of Endocrinology*. 9th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2003. p.341-29.

SABATIER, N.; SHIBUYA, I.; DAYANITHI, G. Intracellular calcium increase and somatodendritic vasopressin release by vasopressin receptor agonists in the rat supraoptic nucleus: involvement of multiple intracellular transduction signals. *Journal Neuroendocrinology*, England, v.16, n.3, p.221-236, 2004.

SACHDEO, R. C. et al. Effects of oxcarbazepine on sodium concentration and water handling. *Annals Neurology*. United States, v.51, n.5, p.613-620, 2002.

SCHMIDT, D.; ELGER, C. E. What is the evidence that oxcarbazepine and carbamazepine are distinctly different antiepileptic drug? *Epilepsy Behavior*, United States, v.5, n.5, p.627-635, 2004.

SMITH, N. J.; ESPIR, M. L.; BAYLIS, P. H. Raised plasma arginine vasopressin concentration and carbamazepine induced water intoxication. *Braslian Medicine Journal*. United States, v.2, n.6090, p.804-812, 1977.

SOARES, T. J. et al. Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, United States, v.96, n.1, p.278-83, 1999.

STEPHENS, W. P.; COE, J. Y.; BAYLIS, P. H. Plasma arginine vasopressin concentrations and antidiuretic action of carbamazepine. *British Medical Journal*, Bethesda, v.1, n.6125, p.1445-1447, 1978.

STEPHENS, W. P. et al. Water intoxication due to carbamazepine. *British Medical Journal*, Bethesda, v.1, n.6063, p.754-755, 1977.

STERN JE, LUDWING M. No inhibits supraoptic oxytocin and vasopressin neurons via activation of GABergic synaptic inputs. *American Journal Physiology Regulatory Integrative Compative Physiology*, United States, v.280, n.6, p.1915-1922, 2001.

STEWART, P. M.; KROZOWSKI, Z. S. 11 β - Hydroxysteroid dehydrogenase. *Vitamins and Hormones*, United States, v.57, p.249-324, 1999.

TAKATA, K.; MATSUZAKI, T.; TAJIKA, Y. Aquaporins: Water channel proteins of the cell membrane. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, Germany. v.39, n.1, p.1-83, 2004.

THOMAS, T. H. et al. Effect of carbamazepine on plasma and urine arginine-vasopressin. *Clinical Science and Molecular Medicine*. England, v.54, n.4, p.419-424, 1978.

THOMAS, T. H. et al. *Clinical Science and Molecular Medicine*, v.53, p.10, 1977.

VALENÇA, M.; MARTINS, M. C.; ANTUNES-RODRIGUES, J. Anatomia e embriologia do hipotálamo e da glândula pituitária. In: ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. (editores). *Neuroendocrinologia Básica e Aplicada*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro; 2005. p.41-51.

VALENÇA, M. M. et al. Anatomia e fisiologia do hipotálamo e da glândula pituitária. In: CUCKIERT, A.; LIBERMAN, B. (editors). *Neuroendocrinologia Clínica e Cirúrgica*. São Paulo: Lemos Editorial; 2002. p.21-71.

VAN AMELSVOCRT, T. et al. Hyponatremia associated with carbamazepine and oxcarbazepine therapy: a review. *Epilepsia*, United States, v.35, n.1, p.181-188, 1994.

VENTURA, R. R. et al. Nitrgic modulation of vasopressin oxytocin and atrial natriuretic peptide secretion in response to sodium intake and hypertonic blood volume expansion. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, São Paulo, v.35, n.9, p.1101-1109, 2002.

VILAR, L. et al. Alterações da vasopressina. In: Coronho, V. et al. (editores). *Tratado De Endocrinologia e Cirurgia Endócrina*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p.316-333.

WEISBERG, L. S. Pseudohyponatremia: A reappraisal. *Am J Med*. v.86, p. 315-318, 1989.

WIFFEN, P.; MCQUAY, H.; MOORE, R. Carbamazepine for acute and chronic pain. *The Cochrane database of systematic reviews*, England, v.3, p.126-130, 2005.

APÊNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PESQUISA: NATREMIA, ARGININA VASOPRESSINA, OCITOCINA, PEPTÍDEO ATRIAL NATRIURÉTICO, ALDOSTERONA E CORTISOL EM EPILÉPTICOS USANDO CARBAMAZEPINA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcelo Moraes Valença
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Edmundo José Leal de Andrade
Endereço: Rua Amélia, 352 – Apto. 601 – Graças – Recife-PE
Fone: 3231-7056

Esse termo de consentimento pode conter palavras que você não entenda. Peça ao pesquisador que explique as palavras ou informações não compreendidas completamente.

INTRODUÇÃO

Você está sendo convidado a participar da pesquisa: **Natremia, arginina vasopressina, ocitocina, peptídeo atrial natriurético, aldosterona e cortisol em epiléticos usando carbamazepina**

Se decidir participar, é importante que leia estas informações sobre o estudo e seu papel nesta pesquisa. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com esta instituição. Em caso de você decidir retirar-se do estudo, deverá notificar o pesquisador que esteja lhe atendendo. É preciso entender a natureza e os riscos da participação e dar seu consentimento livre e esclarecido.

OBJETIVO

Estudar os efeitos do tratamento crônico com carbamazepina e oxcarbazepina sobre a natremia e suas possíveis ações com relação aos níveis plasmáticos da AVP, ANP e ocitocina.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Se concordar em participar desse estudo, você será solicitado a responder uma ficha de protocolo com perguntas objetivas e subjetivas, referentes à identificação do paciente e efeitos do tratamento crônico com carbamazepina e oxcarbazepina sobre a natremia e suas possíveis ações com relação aos níveis plasmáticos da AVP, ANP e ocitocina. As informações obtidas serão utilizadas para formar um banco de dados, análise e posterior conclusões sobre o tema proposto.

RISCOS E DESCONFORTOS

Não são evidenciados riscos na prática dessa proposta, contudo poderá haver algum desconforto pelo fato de se dispersar, parar de realizar alguma atividade que possa estar fazendo, para participar deste estudo ou pelo fato de estar sendo avaliado.

BENEFÍCIOS

A participação na pesquisa não acarretará gasto para o paciente sendo totalmente gratuita e de grande importância para o seu tratamento. Os pacientes receberão informações sobre qual profissional procurar e qual tratamento. A pesquisa busca favorecer aos pacientes em que for encontrada alguma

alteração para menos no nível do sódio plasmático, que também vai ser dosado, já que tal alteração pode favorecer a ocorrência de convulsões.

O senhor está sendo convidado a participar voluntariamente deste estudo, que visa estudar os efeitos da carbamazepina e oxcarbazepina sobre a secreção da arginina-vasopressina, peptídeo atral natriurético e ocitocina.

O médico, Dr. Edmundo José Leal de Andrade, responsável por este estudo, está a sua disposição para tirar todas as suas dúvidas antes e durante o estudo.

O senhor deverá responder a um pequeno questionário; seguir a nossa orientação e retornar, ao Hospital, com consultas nas datas marcadas, para avaliação.

Em qualquer momento poderá desistir dessa participação, sem qualquer prejuízo de seu tratamento.

Para que possamos fazer a pesquisa, precisamos de sua autorização. Se concordar em nos ajudar e ajudar a outros pacientes, assine este documento.

Depois de ter recebido a explicação e tirado minhas dúvidas, concordo em participar da pesquisa sobre **Efeitos da carbamazepina e oxcarbazepina sobre a secreção da ocitocina, arginina-vasopressina e peptídeo atral natriurético no Homem**, além de receber os cuidados de rotina no ambulatório de Endocrinologia, Neurologia-Neurocirurgia e Saúde Mental. Estou ciente de que posso desistir de participar da pesquisa a qualquer tempo, tendo o direito de receber todos os cuidados no mesmo ambulatório.

Nome.....

impressão digital

Assinatura da Paciente

Testemunha

Assinatura do Pesquisador Responsável

Testemunha

APÊNDICE B

ARTIGO ORIGINAL DA TESE*

**Natremia, Arginina Vasopressina, Ocitocina, Peptídeo Atrial Natriurético, Aldosterona e
Cortisol em Epilépticos usando Carbamazepina**

*Natremia, arginine vasopressin, oxytocin, atrial natriuretic peptide, aldosterone and
cortisol in epileptics taking carbamazepine*

Edmundo Leal¹, Lucio Vilar², José Antunes Rodrigues³, Luciano Almeida⁴

Marcelo Moraes Valença⁵,

*Serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco

¹Professor Assistente do Departamento de Medicina Clínica do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco (CCS – UFPE)

²Professor Adjunto do Departamento de Medicina Clínica do CCS – UFPE

³Professor Titular do Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP
- São Paulo

⁴Endocrinologista do Instituto de Endocrinologia do Recife e Diretor da Central de Radioimunoensaio
de Pernambuco - CERPE

⁵Professor Associado do Departamento de Neuropsiquiatria do CCS – UFPE

Correspondência

Rua Amélia, 352 – Apto. 601 – Graças – 52011-050 - Recife-PE – Brasil

Fone: 81 – 3231-7056 – e-mail:edmundo.leal@hotmail.com

Conflito de interesse: declaramos não haver

Financiamento: recursos próprios

* Artigo formatado conforme Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia – foi submetido para avaliação do Conselho Editorial – (ANEXO C)

RESUMO

Objetivo – Verificar como se comportam a natremia e os níveis plasmáticos dos principais hormônios reguladores da homeostase hidrossalina, alguns nunca antes avaliados, sob o efeito da carbamazepina. Procurar assinalar a frequência da possível hiponatremia e quais hormônios estariam envolvidos com a sua origem sob a ação da carbamazepina. **Sujeitos e Métodos:** Dezenove pacientes epiléticos do sexo masculino em uso de carbamazepina foram submetidos à avaliação bioquímica e hormonal e os dados obtidos comparados com aqueles de dezenove homens sãos.

Resultados: O nível médio de sódio entre os controles foi de 139,05mEq/L com desvio padrão (SD) de 1,90 e nos pacientes de 140,47mEq/L, com um SD de 3,03, não apresentando diferença significativa (p de 0,116 pelo teste de Mann-Whitney). O nível plasmático da Arginina Vasopressina (AVP) entre os controles foi de 0,71pg/mL com um SD de 0,41 e nos pacientes de 0,82pg/mL com um SD de 0,45, também não apresentando diferença significativa (p de 0,443 pelo teste de Mann-Whitney). Os outros hormônios também não mostraram diferença significativa entre os dois grupos.

Conclusão: Não encontramos hiponatremia ou qualquer alteração hormonal nos pacientes em uso de carbamazepina comparados aos controles.

Descritores: Arginina Vasopressina, Peptídeo Atrial Natriurético, Ocitocina, Aldosterona, Cortisol, Carbamazepina, Natremia, Epiléticos.

ABSTRACT

Objective – To verify the behavior of natremia and the plasma levels of the main hormones that regulate the hydrossaline homeostasis, some of them never before evaluated, under the action of carbamazepine. To show the frequency of the possible hyponatremia and the hormones causing it, under the effect of carbamazepine. **Subjects and Methods:** Nineteen male epileptic patients taking carbamazepine underwent a biochemical and hormonal assessment and the data collected were compared to those from nineteen healthy men. **Results:** The plasma sodium level in the control group was 139,05mEq/L with a standard deviation (SD) of 1,90 and in the patient group was 140,47mEq/L with a SD of 3,03, without significant difference ($p=0,116$ by Mann – Whitney test). Plasma arginine vasopressin (AVP) level in the control group was 0,71pg/ml with a SD of 0,41 and in the patient group was 0,82pg/ml with a SD of 0,45, without significant difference again ($p=0,443$ by Mann – Whitney test). The other hormones did not show any statistical difference between both groups. **Conclusion:** We did not find hyponatremia or any hormonal change in the patients taking carbamazepine in comparison to the control group.

Keywords: Arginine Vasopressin, Atrial Natriuretic Peptide, Oxytocin, Aldosterone, Cortisol, Carbamazepine, Natremia, Epileptics.

INTRODUÇÃO

Em doses terapêuticas a carbamazepina pode causar hiponatremia (1). Alguns relatos sugerem que distúrbios eletrolíticos, incluindo do sódio, são comuns (2), enquanto outros sugerem que são raros (3). Intoxicação hídrica é um efeito colateral clinicamente importante da carbamazepina, visto que a epilepsia, onde com frequência a droga é utilizada, pode ser agravada por retenção hídrica. Tem sido sugerido que o medicamento age estimulando a liberação do hormônio antidiurético (HAD) ou arginina vasopressina (AVP) da neurohipófise (4). Já os estudos de Stephens e cols. mostraram que a concentração da AVP caiu enquanto seus pacientes faziam uso da carbamazepina, indicando que o mecanismo não deve ser a secreção da AVP. Ele sugere que a propriedade de reter água da carbamazepina seja um efeito fisiológico da droga, mediado por uma sensibilidade renal aumentada às concentrações plasmáticas normais da AVP (5).

Esses fatos tem motivado a busca de um melhor entendimento sobre o controle neuroendócrino do equilíbrio hidrossalino.

Uma regulação precisa da homeostase hidrossalina, com manutenção do volume e da osmolalidade dos líquidos corporais, é de fundamental importância para a manutenção da vida. O cloreto de sódio representa um constituinte essencial do compartimento extracelular e é um dos mais importantes fatores determinantes da osmolalidade plasmática, bem como da manutenção do volume do líquido extracelular.

Os principais hormônios envolvidos com a regulação do equilíbrio hidroeletrolítico são; a AVP e a Ocitocina (OT) da neurohipófise, a Aldosterona e o Cortisol das Glândulas Adrenais e o Peptídeo Atrial Natriurético (ANP) do coração (6-10)

Ocitocina e AVP são secretadas simultaneamente em resposta à hiperosmolalidade e hipovolemia e, quando administrada sistemicamente, elas induzem a natriurese. A ocitocina é um hormônio natriurético mais potente que a AVP (11)

O ANP age promovendo natriurese e inibindo a ingestão de água e sal (12)

A participação do cortisol na homeostase natremica se faz através da retenção de sódio ao nível dos ductos coletores renais (13).

Do mesmo modo, a aldosterona promove a reabsorção do sódio também ao nível dos ductos coletores(14).

Mesmo hoje permanece a incerteza sobre qual seria o mecanismo mais importante para que surja a hiponatremia induzida pela carbamazepina, se por aumento da AVP ou se por aumento da reabsorção de água pelos rins, em consequência ao aumento da expressão da aquaporina 2 , que é um canal protéico que permite o transporte transcelular de água(15).

No nosso trabalho procuramos verificar se havia alguma alteração dos níveis plasmáticos da AVP nos pacientes usando carbamazepina em relação ao grupo controle, procurando encontrar alguma explicação para possível hiponatremia causada pelo fármaco. Também os outros hormônios implicados na regulação da natremia, como a aldosterona, cortisol, ANP e ocitocina foram dosados no sentido de surpreender alguma potencial modificação dos seus níveis propiciada pela droga. Vale ressaltar que não encontramos na literatura publicações avaliando o comportamento do cortisol e da ocitocina sob a ação da carbamazepina.

SUJEITOS E MÉTODOS

Após o consentimento, por escrito, dos indivíduos envolvidos no trabalho, após esclarecimentos prestados e da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE, no período compreendido entre janeiro de 2010 e junho de 2011, foi coletado o sangue de 44 homens para a realização do Trabalho. Seis das 44 coletas foram descartadas por conta de perda do material no freezer.

As coletas foram realizadas com os pacientes em jejum de 12 horas, entre 8:00 e 8:30 da manhã, após 30 minutos de descanso, com os pacientes em posição supina.

POPULAÇÃO ESTUDADA:

Foram formados 2 grupos de indivíduos:

O primeiro grupo foi constituído por 19 pacientes epiléticos adultos diagnosticados, pelo menos há mais de 2 anos, clinicamente e por eletroencefalografia, em uso de carbamazepina em dose terapêutica no mínimo há mais de 1 ano, com idade mínima de 19 anos (2 indivíduos) e máxima de 52 anos (também 2 indivíduos). A média da idade foi de 35, 42 anos.

O segundo grupo foi o controle, também com 19 indivíduos adultos, sadios, sem usar qualquer medicamento. A idade mínima neste grupo foi de 19 anos (1 indivíduo) e a máxima de 55 anos, também 1 indivíduo. A média da idade do grupo controle foi de 30, 63 anos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO: Só foram incluídos no primeiro grupo, os pacientes em uso apenas de carbamazepina e de nenhum outro fármaco. Apenas pacientes do sexo masculino foram estudados e a idade limite fixada foi de 55 anos.

O grupo controle foi pareado de forma equivalente ao primeiro grupo, com 19 homens sãos e sem usar qualquer medicamento, como já foi dito anteriormente. A idade limite fixada também foi de 55 anos.

A razão para o uso apenas da carbamazepina no primeiro grupo, é óbvia: evitar qualquer possível modificação dos parâmetros analisados por efeito de uma segunda droga. O motivo da não inclusão de mulheres no estudo foi com o objetivo de evitar possíveis alterações dos dados obtidos por conta das modificações hormonais do ciclo menstrual. A idade limite fixada em 55 anos foi para evitar alterações dos dados obtidos por conta do envelhecimento.

O tipo de estudo foi: Observacional Transversal.

DOSAGENS LABORATORIAIS:

Foram dosados o sódio, os triglicerídeos, a creatinina, o cortisol, a aldosterona, a AVP, ANP, e a OT dos indivíduos participantes do estudo.

Os triglicerídeos foram dosados porque quando muito elevados tornam os níveis plasmáticos do sódio enganosamente baixos, situação conhecida como pseudo-hiponatremia.(16)

Também é óbvio o motivo da dosagem da creatinina, visto que pacientes com insuficiência renal vão ter a natremia alterada por conta da própria incompetência funcional renal, independentemente de qualquer possível participação da carbamazepina.

Com relação ao cortisol, sabe-se que ele participa do controle da natremia, retraindo o sódio ao nível dos ductos coletores renais (13), daí a importância da sua determinação.

Do mesmo modo, a aldosterona também é muito importante na regulação da natremia, promovendo a reabsorção do sódio ao nível dos ductos coletores. (14)

Da mesma maneira, são evidentes as razões para a dosagem do ANP e da AVP, que são hormônios implicados na regulação do metabolismo hidrossalino, como vimos na introdução.

Já com relação à ocitocina, que também atua na regulação do sódio plasmático, não encontramos na literatura médica qualquer trabalho relacionando a ação da carbamazepina com os

seus níveis plasmáticos, ou seja, estudando a ação da droga sobre a sua secreção, de modo que sua dosagem foi incluída no nosso estudo.

DOSAGENS BIOQUÍMICAS:

Sódio: dosado pelo método do eletrodo íon-seletivo. Referencial para adulto – 136 – 145mEq/L

Triglicerídeos: dosados pelo método GPO – PAP. Referencial – desejável - <150mg/dl

Creatinina: dosada pelo método Jaffe Cinético. Referencial para homem 0,7 – 1,3mg/dl

DOSAGENS HORMONAIS:

Cortisol: Kit IMMULITE 2000 SIEMENS

Metodologia: Quimioluminescência

Linearidade: até 50 µg/dl

Limite de Detecção: 0,2 até 50 µg/dl

CV interensaio: 7,8%

Reação: O procedimento automatizado Immulite 2000 é um imunoensaio competitivo de fase sólida, quimioluminescente, com anticorpos específicos do Cortisol imobilizados na superfície de pérolas. O Cortisol marcado com a enzima compete durante um período de tempo fixo com o Cortisol da amostra do paciente por locais de fixação de anticorpos. A reação é submetida a processos de lavagem e centrifugação de forma a separar o Cortisol livre, e em seguida é adicionado o substrato quimioluminescente para leitura final no luminômetro. A quantidade de Cortisol presente na amostra do paciente é determinada a partir de uma curva de calibração.

Referencial – 5 a 25µg/dl

Aldosterona: Kit COAT-A-COUNT SIEMENS

Metodologia: Radioimunoensaio

Linearidade: até 1200 pg/mL

Limite de Detecção: 0 pg/mL a 1200 pg/mL

CV interensaio: 16,3 %

Reação: O procedimento Coat-A-Count é um radioimunoensaio de fase sólida baseado em anticorpos específicos da aldosterona imobilizados na parede de um tubo de polipropileno. A aldosterona marcada compete durante um período de tempo fixo com a aldosterona da amostra do paciente por locais de fixação de anticorpos. O tubo é então decantado, de forma a separar a aldosterona livre, sendo em seguida colocado num contador gama. A quantidade de aldosterona presente na amostra do paciente é determinada a partir de uma curva de calibração.

Referencial – Repouso – 1,1 a 16ng/dl

Posição ortostática – 4 a 31 ng/dl

Ocitocina: sangue coletado em tubos Falcon (12. 15 ml) com heparina 10µl/ml de sangue. Logo em seguida centrifugado a 3000 rotações por minuto a 4°C, por 20 minutos, 2 ml de plasma separados em tubos plásticos de 12X75mm e congelados a -70°C até a extração e dosagem do hormônio. A extração da OT é realizada com acetona e éter de petróleo. No radioimunoensaio são utilizados anticorpos de coelho anti-OT e peptídeos marcados com ¹²⁵I. O primeiro anticorpo foi gerado no coelho e o segundo anticorpo, em cabra.

Finalmente, polietilenoglicol a 6,25% é utilizado para a precipitação dos complexos hormônio-anticorpo. A radioatividade no precipitado é determinada com o auxílio de um contador gama (auto gama counting system cobra II da Instrument Company Packard, U.S.A).

Referencial: 1,25 – 5ng/L

Peptídeo Atrial Natriurético – sangue coletado em tubos plásticos Falcon (12 – 15ml), contendo os inibidores de proteases: Pepstatin A – 5mg/14,6ml de metanol, PMSF – 17,42mg/100ml de metanol e EDTA – 93,1mg/250ml de NaCl-0,15M. Utiliza-se 10µl de pepstatina A por ml de sangue, 10µl de PMSF por ml de sangue e EDTA - 10µl por ml de sangue.

O sangue é centrifugado a 3.000 rotações por minuto, por 20 minutos a 4°C. 2ml de plasma são separados em tubos de plástico – 12X75mm e congelados a -70°C

A concentração plasmática do ANP é determinada por radioimunoensaio, após a extração do mesmo. A extração é realizada com ácido trifluoroacético a 0,1%, por meio de colunas C₁₈ (SEP – Column RIK-SEPCOL -1, península, laboratories), previamente ativadas com solução de acetonitrila 60% em ácido trifluoroacético 0,1%. No radioimunoensaio são utilizados anticorpos de coelho anti-

ANP e peptídeos, marcados com ^{125}I . O hormônio marcado é separado do não marcado com o auxílio da técnica de anticorpo secundário (Anticorpo anti-gama globulina de coelho produzido em cabra), específico para cada hormônio analisado. Por fim, polietilenoglicol a 6,25% é utilizado para a precipitação dos complexos hormônio – anticorpo formados.

A radioatividade no precipitado é determinada com auxílio de um contador gama (auto-gama counting system cobra II da Instrument Company Packard, U.S.A)

Referencial: 15 – 60 pg/ml

Arginina Vasopressina: Sangue coletado em tubos Falcon (12 – 15ml), contendo heparina - 10µl/ml de sangue. Logo em seguida, centrifugado a 3.000 rotações por minuto, por 20 minutos, a 4°C. 2ml de plasma são separados em tubos de plástico – 12X75mm e congelados a -70°C, até a extração e a dosagem do hormônio. A extração da AVP é realizada com acetona e éter de petróleo. No radioimunoensaio são utilizados anticorpos de coelho anti-AVP e peptídeos marcados com ^{125}I . O hormônio marcado é separado do não marcado com o auxílio da técnica de anticorpo secundário (anticorpo anti-gamaglobulina de coelho, produzido em cabra).

Por fim, polietilenoglicol – 2,5% é utilizado para a precipitação dos complexos hormônio-anticorpo formados. A radioatividade no precipitado é determinada com o auxílio de um contador gama (auto-gama counting system cobra II da Instrument Company Packard, U.S.A).

Referencial: 1 a 3 pg/ml

ANALISE ESTATÍSTICA:

Para análise dos dados (17) foram obtidas as medidas estatísticas: média, desvio padrão, mediana e percentis 25 e 75 e o valor da correlação de Spearman (Técnicas de estatística descritiva) e foram utilizadas Técnicas de estatística inferencial através dos testes t-Student com variâncias iguais, Mann-Whitney e teste para a hipótese de correlação nula.

Ressalta-se que a verificação da hipótese de igualdade de variâncias foi realizada através do teste F de Levene e o teste t-Student foi aplicado quando foi verificada a hipótese de normalidade dos dados em cada grupo. O teste de Mann-Whitney quando a hipótese de normalidade dos dados não foi verificada em pelo menos um dos grupos.

A margem de erro utilizada nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%.

O software utilizado para digitação dos dados e obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 17.

RESULTADOS:

Nas Tabelas de 1 a 3 são apresentadas as medidas estatísticas das variáveis do estudo segundo o grupo.

Em relação à idade (Tabela 1) se destaca que: a média da idade foi aproximadamente 5,00 anos mais elevada no grupo da Carbamazepina do que no grupo Controle (35,42 x 30,63 anos), entretanto para a margem de erro fixada (5,0%) não se comprova diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 1 – Estatísticas da idade em anos dos pesquisados segundo o grupo

Estatísticas	Grupo		Valor de p
	Carbamazepina	Controle	
Média	35,42	30,63	$p^{(1)} = 0,149$
Desvio padrão	10,67	9,23	
Mínimo	19	19	
P25	25,00	23,00	
Mediana	35,00	28,00	
P75	45,00	37,00	
Máximo	52	55	

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

Dos resultados contidos na Tabela 2 se destaca que: as médias foram respectivamente mais elevadas no grupo da Carbamazepina do que no Controle, entretanto sem diferenças significativas ($p > 0,05$). A variabilidade expressa através do desvio padrão se mostra elevada para a variável triglicérides, desde que as referidas medidas foram superiores a metade das médias correspondentes.

Tabela 2 – Estatísticas das variáveis: triglicerídeos, sódio e creatinina, segundo o grupo

Variáveis	Estatísticas	Grupo		Valor de p
		Carbamazepina	Controle	
• Triglicerídeos mg/dl	Média	132,47	124,95	$P^{(1)} = 0,817$
	Desvio padrão	94,27	109,90	
	Mínimo	40	52	
	P25	61,00	67,00	
	Mediana	95,00	84,00	
	P75	174,00	127,00	
	Máximo	391	508	
• Sódio mEq/L	Média	140,47	139,05	$P^{(1)} = 0,116$
	Desvio padrão	3,03	1,90	
	Mínimo	138	137	
	P25	138,00	138,00	
	Mediana	140,00	139,00	
	P75	142,00	140,00	
	Máximo	149	144	
• Creatinina mg/dl	Média	0,79	0,72	$P^{(1)} = 0,057$
	Desvio padrão	0,16	0,13	
	Mínimo	1	1	
	P25	0,70	0,60	
	Mediana	0,80	0,70	
	P75	0,80	0,70	
	Máximo	1	1	

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(1): Através do teste Mann-Whitney.

Dos resultados contidos na Tabela 3 se destaca que: com exceção da variável AVP que apresentou média mais elevada no grupo da Carbamazepina, as demais médias foram respectivamente mais elevadas no grupo Controle, entretanto, sem diferenças significativas ($p > 0,05$). A variabilidade oscilou de reduzida a elevada.

Tabela 3 – Estatísticas das variáveis: cortisol, aldosterona, AVP, OT e ANP dos pesquisados segundo o grupo

Variáveis	Estatísticas	Grupo		Valor de p
		Carbamazepina	Controle	
• Cortisol µg/dl	Média	11,28	12,65	$p^{(1)} = 0,378$
	Desvio padrão	4,11	5,31	
	Mínimo	5	6	
	P25	9,00	8,80	
	Mediana	10,00	10,60	
	P75	14,70	15,20	
	Máximo	20	25	
Aldosterona ng/dl	Média	4,88	6,25	$p^{(2)} = 0,297$
	Desvio padrão	6,49	5,50	
	Mínimo	1	1	
	P25	2,00	2,00	
	Mediana	3,00	4,00	
	P75	4,00	9,00	
	Máximo	29	17,70	
• AVP pg/ml	Média	0,82	0,71	$p^{(2)} = 0,443$
	Desvio padrão	0,45	0,41	
	Mínimo	0,43	0,40	
	P25	0,49	0,48	
	Mediana	0,64	0,59	
	P75	1,11	0,81	
	Máximo	1,82	2,15	
• OT ng/L	Média	0,43	0,61	$p^{(2)} = 0,126$
	Desvio padrão	0,23	0,36	
	Mínimo	0,32	0,32	
	P25	0,32	0,32	
	Mediana	0,32	0,46	
	P75	0,46	0,87	
	Máximo	1,04	1,49	
• ANP pg/ml	Média	6,43	7,05	$p^{(2)} = 0,858$
	Desvio padrão	1,61	3,35	
	Mínimo	5,69	5,69	
	P25	5,69	5,69	
	Mediana	5,69	5,69	
	P75	6,73	5,69	
	Máximo	11,76	17,60	

(*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(1): Atráves do teste t-Student,

(2): através do teste Mann-Whittney.

Nas Tabelas 4 e 5 se apresentam as medidas da correlação de Spearman entre AVP com as variáveis bioquímicas e com os hormônios por grupo.

Da Tabela 4 se destaca que: as duas maiores correlações foram registradas entre AVP com sódio no grupo Controle (0,467) e creatinina no grupo Controle (0,375).

Tabela 4 – Correlação de Spearman entre AVP com as variáveis: triglicerídeos, sódio, creatinina, segundo o grupo:

Variáveis	Grupo	
	Carbamazepina $r_s(p)$	Controle $r_s(p)$
• Triglicerídeos mg/dl	-0,153 (0,557)	-0,215 (0,392)
• Sódio mEq/L	0,234 (0,366)	0,467 (0,051)
• Creatinina mg/dl	-0,352 (0,166)	0,375 (0,125)

(*): Correlação estatisticamente diferente de zero a 5,0%.

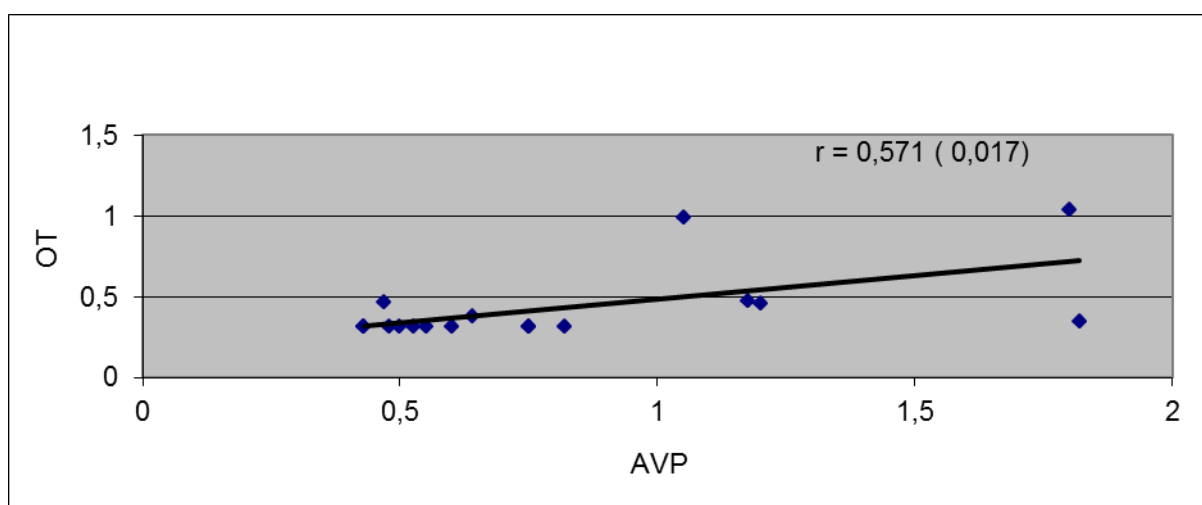
Tabela 5 – Correlação de Spearman entre AVP com as variáveis: cortisol, aldosterona, OT e ANP, segundo grupo

Variáveis	Grupo	
	Carbamazepina $r_s(p)$	Controle $r_s(p)$
• Cortisol $\mu\text{g/dl}$	-0,054 (0,837)	-0,166 (0,509)
• Aldosterona ng/dl	-0,310 (0,225)	-0,249 (0,320)
• OT ng/L	0,571 (0,017)*	0,096 (0,704)
• ANP pg/ml	0,020 (0,940)	0,122 (0,628)

(*): Correlação estatisticamente diferente de zero a 5,0%.

Da Tabela 5 se destaca que a única correlação estatisticamente diferente de 'zero de AVP foi positiva e ocorreu com OT ($p < 0,05$). Esta tabela gera o gráfico a seguir.

GRAFICO:



Dados de AVP e OT no grupo da Carbamazepina

No gráfico, à medida que a AVP aumenta, a OT também aumenta e a relação é significativa – $p=0,017$, pela correlação de Spearman.

DISCUSSÃO:

Como os nossos pacientes foram pareados de forma mais ou menos equivalente ao grupo controle, o primeiro dado analisado, a idade, mostrou-se sem diferença significativa do ponto de vista estatístico com relação aos controles. Também é sabido que a epilepsia pode ocorrer em qualquer faixa etária.

Com relação aos triglicerídeos, estes mostraram-se, em média, um pouco mais elevados no grupo da Carbamazepina, mas também sem significância estatística com relação ao grupo controle. Uma das explicações para este achado é o fato da droga propiciar aumento do peso.

Com relação ao sódio plasmático, está descrito na literatura que em doses terapêuticas carbamazepina pode causar hiponatremia (1). Enquanto alguns autores sugerem que distúrbios hidroeletrólíticos são comuns (2, 18), outros surgem que são raros (3, 19, 20).

Os nossos pacientes mostraram uma natremia normal sob a ação da carbamazepina, concordando com aqueles autores que, ao estudar o efeito da droga sobre o nível plasmático do sódio, dificilmente encontram alguma alteração.

Segundo Kuz, a incidência de hiponatremia associada com a carbamazepina varia de 1,8% a 40%. A hiponatremia severa em pacientes tratados em monoterapia é incomum. Muitos fatores de risco tem sido relatados no sentido de aumentar a possibilidade de hiponatremia, incluindo idade superior a 40 anos, uso concomitante de medicação associada com hiponatremia, distúrbio psiquiátrico, cirurgia, polidipsia psicogênica e ser do sexo feminino (21).

É possível que o não surgimento de hiponatremia nos nossos pacientes se deva ao fato da maioria dos fatores de risco citados estar ausente nos nossos doentes.

Nossos pacientes mostraram uma natremia média superior inclusive àquela do grupo controle, apesar de não ter havido significância estatística entre os dois grupos.

Com relação à creatinina, não encontramos na literatura estudos sobre os seus níveis plasmáticos sob o efeito da carbamazepina. Os nossos pacientes apresentaram níveis normais de creatinina, o que afasta a possibilidade de alterações mais importantes da função renal concorrerem para alguma modificação nos achados do nosso estudo.

Com relação a AVP, a literatura sobre o assunto é contraditória a respeito dos seus níveis plasmáticos sob a ação da carbamazepina. Alguns acham que a droga promove uma secreção

inapropriada da AVP (22), outros acham que o hormônio se mantém inalterado no plasma (23), enquanto alguns acreditam na diminuição dos seus níveis (24).

Os nossos pacientes apresentaram níveis da AVP sem diferença estatisticamente significante com relação aos controles, embora a média dos níveis do hormônio tenha sido mais elevada no grupo dos pacientes.

Com relação ao cortisol, não encontramos na literatura estudos sobre os seus níveis plasmáticos sob o efeito da carbamazepina. Os nossos pacientes apresentaram níveis normais de cortisolemia, sem diferença estatística com o grupo controle, apesar da média do cortisol plasmático ser mais baixa entre os pacientes. Este achado mostra que pelo menos em nosso meio, o cortisol não se altera sob a ação do anticonvulsivante, contribuindo deste modo para a manutenção de uma natremia normal.

Com relação à aldosterona, também não encontramos na revisão da literatura publicações a respeito dos seus níveis plasmáticos sob a ação da carbamazepina, a exceção de uma publicação (25), onde aparece com níveis normais. Os nossos pacientes mostraram também níveis normais do hormônio, sem diferença estatística com relação aos controles, evidenciando que não deve concorrer para alteração do sódio plasmático.

Com respeito ao ANP, encontramos apenas um estudo sobre os seus níveis plasmáticos quando do uso da carbamazepina (25), mostrando níveis adequados. Este estudo foi realizado com 10 epiléticos do sexo masculino em monoterapia com carbamazepina inicialmente e depois com oxcarbazepina. Neste estudo, a idade média dos pacientes foi de 29,4 anos(mínima-24 e máxima-40). Todos os pacientes eram epiléticos e a dose diária de carbamazepina era a mesma há pelo menos 1 ano, com uma duração média de tratamento de 7,5 anos(1-15 anos).

Nossos pacientes mostraram níveis do ANP sem diferença estatística para o grupo controle.

Quanto à OT, não há estudos sobre os seus níveis no plasma sob o efeito da carbamazepina. Nos nossos pacientes não houve diferença significante em relação a os controles.

Em função dos nossos achados mostrarem todos os dados obtidos sem diferença estatística significante com relação ao grupo controle, fizemos uma correlação entre a AVP, hormônio mais estudado sob a ação da carbamazepina com relação ao sódio do plasma, com os triglicerídeos, creatinina, sódio assim como com os outros hormônios, tentando surpreender algum achado significante.

Novamente quase todas as correlações foram sem significância estatística, à exceção da correlação entre a AVP e a OT, que se mostrou positiva, com um p de 0,017, ou seja, à medida que a AVP aumenta a OT também o faz. Tal correlação nos faz raciocinar no sentido de que a OT, ao aumentar, poderia contribuir, por sua ação natriurética, para que os níveis plasmáticos do sódio diminuíssem, somando-se ao efeito potencialmente hiponatremico da AVP, que atuaria promovendo a diminuição do sódio por aumento da reabsorção de água.

Esta correlação reflete a neurofisiologia conhecida a respeito dos dois hormônios, pois muitos estímulos, como impulsos sinápticos excitatórios glutamérgicos (26), a hiperosmolalidade e a hipovolemia, fazem com que esses dois hormônios sejam secretados.

Apesar da correlação positiva, os níveis médios da OT foram mais baixos nos nossos pacientes com relação aos controles, como vimos na secção dos resultados, embora não houvesse diferença significativa entre os dois grupos

Concluimos pelo presente estudo que não há diferença significativa quanto à idade entre pacientes adultos que usam a carbamazepina e os saudáveis. Não há aumento significativo dos triglicérides em relação aos que não tomam a droga. Os níveis de creatinina mostraram-se normais sob a ação da carbamazepina.

O sódio plasmático, objeto maior do nosso trabalho, mostrou-se normal sob o efeito da droga, assim como os hormônios dosados que participam do seu metabolismo mostraram níveis adequados, fazendo com que raciocinemos pela adequação desses hormônios quando nos depararmos com uma natremia normal em pacientes tomando carbamazepina.

Agradecimentos: Aos pacientes, sem os quais nada seria possível. Ao Prof.Dr. Marcelo Valença e Prof.Dr.Lucio Vilar pela orientação dada, quando solicitada. Ao Prof. Dr. Raul Manhães pelo uso do laboratório da Nutrição. Ao Prof. Dr. José Antunes Rodrigues pela grande ajuda por dosar a OT, ANP e AVP. Ao Dr. Luciano Almeida, Diretor da Central de Radioimunoensaio de Pernambuco.

REFERÊNCIAS

1. Lahr MIB. Hyponatremia during carbamazepine therapy. *Clin Pharmacol Ther.* 1985, 37(6):693-6.
2. Stephens WP, Espir ML, Tattersall RB, Quinn NP, Gladwell SR, Galbraith AW, et al. Water intoxication due to carbamazepine. *Br Med J.* 1977;1(6063):754-5.
3. Helin I, Nilsson KO, Bjerre I, Vegfors P. Serum sodium and osmolality during carbamazepine treatment in children. *Br Med J.* 1977;2(6086):558.
4. Ashton MG, Ball SG, Thomas TH, Lee MR. Water intoxication associated with carbamazepine treatment. *Br Med J.* 1977;1(6069):1134-5.
5. Stephens WP, Coe JY, Baylis PH. Plasma arginine vasopressin concentrations and antidiuretic action of carbamazepine. *Br Med J.* 1978;1(6125):1445-7.
6. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A Rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci.* 1981;28(1): 89-94.
7. Bastos R, Favaretto AL, Gutkowska J, McCann SM, Antunes-Rodrigues J. Alpha-adrenergic agonists inhibit the dipsogenic effect of angiotensin II by their stimulation of atrial natriuretic peptide release. *Brain Res.* 2001; 895(1-2):80-8.
8. Franci CR, Antunes-Rodrigues J, Silva Netto CR, Camargo LAA, Saad WA. Identification of pathways involved in the natriuretic, kaliuretic and diuretic responses induced by cholinergic stimulation of the medial septal (MSA). *Physiol Behav.* 1983;30(1):65-71.
9. McCann SM, Gutkowska J, Antunes-Rodrigues J. Neuroendocrine control of body fluid homeostasis. *Braz J Med Biol Res.* 2003;36(2):165-81.
10. Bourque CW, Oliet SH, Richard D. [Osmoreceptors, osmoreception and osmoregulation.](#) *Front Neuroendocrinol.* 1994;15(3):231- 74.
11. Soares TJ, Coimbra PM, Martins AR, Pereira AG, Carnio EC, Branco LG, Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. *Proc Natl Acad Sci (USA).* 1999;96(1):278-83.
12. Antunes-Rodrigues J, Picanço-Diniz DLW, Valença MM, McCann SM. Controle neuroendócrino da homeostase dos fluidos corporais. In: Antunes-Rodrigues J, Moreira C, Elias LLK, Castro M (editores). *Neuroendocrinologia Básica e Aplicada.* Guanabara Koogan: Rio de Janeiro; 2005. p.81-115.

13. Stewart PM, Krozowski ZS. 11β - Hydroxysteroid dehydrogenase Vitam Horm 1999; 57: 249 - 324
14. Farman N, Bonvalet JP: Aldosterone Binding in isolated tubules. III. Autoradiography along the rat nephron. AMJ Physiol 245: F 606, 1983.
15. Knieper MA, Nielsen S, Shou CL, Digiovani SR. Mechanisms of vasopressin action in the renal collecting duct. Semin Nephrol. 1994;14(4):302-21.
16. Weisberg LS. Pseudohyponatremia: A reappraisal. Am J Med. 1989;86:315-318
17. Altman GD. In: Pratical Statistics for Medical Research. London, Great Britain: Chapman and Hall;1991.p 611.
18. Gadelman MS. Review of carbazepine induced hyponatremia. Prog Neuropsychopharmacol Bio Psychiatry. 1994;18(2):211-33.
19. Helin I, et al, British Medical Journal, 1977, 2, 558.
20. Kalff R, Houtkooper MA, Meyer JW, Goedhart DM, Augusteijn R, Meinardi H. Carbamazepine and Serum Sodium Levels Epilepsia. 1984 jun; 25 (3): 390 – 7.
21. Kuz EM, Manssourian A. Ann Pharmacother 2005 nov; 39 (11): 1943 – 6.
22. Smith NJ, Espir ML, Baylis PH. Raised plasma arginine vasopressin concentration and carmazepine induced water intoxication. Br Med J. 1977;2(6090):804.
23. Gold PW, Robertson GL, Ballenger JC, Kaye W, Chen J, Rubinow DR, et al. Carbamazepine diminished the sensitivity of the plasma arginine vasopressin response to osmotic stimulation. J Clin Endocrinol Metab. 1983;57(5):952-7.
24. Thomas TH, et al. Clinical Science and Molecular Madicine, 1977, 53, p.10.
25. Isojarvi JI, Huuskonen UJ, Pakarinen AJ, Vuouteonaho D, Myllyla VV. The regulation of serum sodium after replacing carbamazepine with oxcarbazepine. Epilepsia. 2001;42(6):741-5.
26. Stern JE, Ludwig M. No inhibits supraoptic oxytocin and vasopressin neurons via activation of GABergic synaptic inputs. AM J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001, 280(6) R 1915-22

ANEXOS

ANEXO A



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. Nº. 278 /2009 - CEP/CCS

Recife, 17 de setembro de 2009

Registro do SISNEP FR – 224685

CAAE – 0332.0.172.000-08

Registro CEP/CCS/UFPE Nº 340/08

Título: “Efeitos da carbamazepina e oxycarbazepina sobre a secreção da ocitocina, arginina-vasopressina e peptídeo atrial natriurético no homem”.

Pesquisador Responsável: Edmundo José Leal de Andrade

Senhor Pesquisador:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CEP/CCS/UFPE) registrou e analisou, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe, aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados em 15 de setembro de 2009.

Ressaltamos que o pesquisador responsável deverá apresentar um relatório ao final da pesquisa.

Atenciosamente



Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Coordenador do CEP/ CCS / UFPE

Ao

Dr. Edmundo José Leal de Andrade
Hospital das Clínicas – HC/UFPE

ANEXO B

Dissertação e Tese: regulamento da defesa e normas de apresentação. Programa de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco.

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Programas de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde
Av. Prof. Moraes Rego s/n - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife – PE

DISSERTAÇÃO E TESE REGULAMENTAÇÃO DA DEFESA E NORMAS DE APRESENTAÇÃO

I REGULAMENTAÇÃO DA DEFESA

O aluno do Programa da Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciência do Comportamento/CCS/UFPE deve:

- 1 Apresentar a **dissertação em formato de artigos***, dos quais pelo menos um artigo deve ser enviado para publicação em revista indexada no mínimo como Qualis Nacional A da CAPES. O formato de apresentação dos artigos segue as normas de “instruções aos autores” das Revistas que serão submetidos. A revisão da literatura pode ser apresentada sob a forma de artigo de revisão a ser submetido à publicação.
- 2 Apresentar a **tese em formato de artigos**, dos quais pelo menos dois artigos devem estar submetidos à publicação em revistas indexadas no mínimo como Qualis Nacional A da CAPES. O formato de apresentação dos artigos segue as normas de “instruções aos autores” das Revistas que são submetidos (apresentar comprovantes para a defesa de tese). A revisão da literatura pode ser apresentada sob a forma de artigo de revisão também submetido à publicação.

II NORMAS DA APRESENTAÇÃO¹

ESTRUTURA	ORDEM DOS ELEMENTOS
1 Pré-textuais Elementos que antecedem o texto com informações que ajudam na identificação e utilização do trabalho.	1.1 Capa 1.2 Lombada 1.3 Folha de rosto 1.4 Errata (opcional, se for o caso) 1.5 Folha de aprovação 1.6 Dedicatória(s) 1.7 Agradecimento(s) 1.8 Epígrafe (opcional) 1.9 Resumo na língua vernácula 1.10 Resumo em língua estrangeira 1.11 Lista de ilustrações 1.12 Lista de tabelas 1.13 Lista de abreviaturas e siglas 1.14 Lista de símbolos 1.15 Sumário
2 Textuais	2.1 Apresentação 2.2 Revisão da literatura (ou artigo de revisão) 2.3 Métodos 2.4 Resultados - Artigo (s) original (ais) 2.5 Considerações finais
3 Pós-textuais Elementos que complementam o trabalho	3.1 Referências 3.2 Apêndice (s) 3.3 Anexo (s)

¹Adaptadas segundo as recomendações da ABNT NBR 14724, 2005
(NBR 14724: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2005).

1 Pré-textuais

1.1 Capa

Proteção externa do trabalho e sobre a qual se imprimem as informações indispensáveis à sua identificação

a) Anverso (frente)

Cor: Verde escura;

Consistência: capa dura

Formatação do texto: letras douradas, escrito em maiúsculas, fonte “Times New Roman”, tamanho 16, espaço duplo entre linhas, alinhamento centralizado.

Conteúdo do texto: na parte alta deve ser colocado o nome do doutorando ou mestrando; na parte central deve ser colocado o título e o subtítulo (se houver) da Tese ou Dissertação; na parte inferior deve ser colocados o local (cidade) da instituição e ano da defesa.

b) Contracapa

Anverso (Frente)

Cor: branca;

Formatação do texto: letras pretas, escrito em maiúsculas e minúsculas, fonte “Times New Roman”, tamanho 16, espaço duplo entre linhas, alinhamento centralizado.

Conteúdo do texto: na parte alta deve ser colocado o nome do doutorando ou mestrando; na parte central deve ser colocado o título e o subtítulo (se houver) da Tese ou da Dissertação, sendo permitida ilustração; na parte inferior deve ser colocados o local (cidade) da instituição e ano da defesa.

Observação: As capas verdes e sólidas serão somente exigidas quando da entrega dos volumes definitivos, após aprovação das respectivas bancas examinadoras e das respectivas correções exigidas.

1.2 Lombada

Parte da capa do trabalho que reúne as margens internas das folhas, sejam elas costuradas, grampeadas, coladas ou mantidas juntas de outra maneira.

De baixo para cima da lombada devem estar escritos: o ano, o título da Tese ou da Dissertação, o nome utilizado pelo doutorando ou mestrando nos indexadores científicos.

1.3 Folha de Rosto

Anverso (frente)

Cor: branca;

Formatação do texto: letras pretas, escrito em maiúsculas e minúsculas, fonte “Times New Roman”.

Conteúdo do texto: os elementos devem figurar na seguinte ordem:

a) nome do doutorando ou mestrando (na parte alta fonte “Times New Roman”, tamanho 16, alinhamento centralizado);

b) título da Tese ou Dissertação. Se houver subtítulo, deve ser evidenciada a sua subordinação ao título principal, precedido de dois-pontos (na parte média superior, fonte “Times New Roman”, tamanho 16, espaço duplo entre linhas, alinhamento centralizado);

c) natureza, nome da instituição e objetivo, explícito pelo seguinte texto: “Tese ou Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor ou Mestre em Nutrição” (na parte média inferior, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, espaço simples entre linhas, devem ser alinhados do meio da mancha para a margem direita);

d) o nome do orientador e se houver, do co-orientador (logo abaixo do item c, separados por dois espaços simples, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhamento à esquerda);

e) local (cidade) da instituição (na parte inferior, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhamento centralizado);

f) ano da defesa (logo abaixo do item e, sem espaço, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhamento centralizado).

Verso

Descrever a ficha catalográfica, segundo as normas da Biblioteca Central da UFPE.

1.4 Errata

Esta folha deve conter o título (Errata), sem indicativo numérico, centralizado, sendo elemento opcional que deve ser inserido logo após a folha de rosto, constituído pela referência do trabalho e pelo texto da errata e disposto da seguinte maneira:

EXEMPLO ERRATA

Folha	Linha	Onde se lê	Leia-se
32	3	publicação	publicação

1.5 Folha de Aprovação

Elemento obrigatório, colocado logo após a folha de rosto, escrito no anverso da folha (cor branca), não deve conter o título (folha de aprovação) nem o indicativo numérico, sendo descrito em letras pretas, maiúsculas e minúsculas, fonte “Times New Roman”, constituído pelos seguintes elementos:

- a)** nome do doutorando ou mestrando (na parte alta fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhamento centralizado);
- b)** título da Tese ou Dissertação. Se houver subtítulo, deve ser evidenciada a sua subordinação ao título principal, precedido de dois-pontos (na parte média superior, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, espaço duplo entre linhas, alinhamento centralizado);
- c)** data de aprovação da Tese ou Dissertação, exemplo: Tese aprovada em: 27 de março de 2008 (na parte média inferior, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhado à esquerda);
- d)** nome, titulação e assinatura de todos os componentes da banca examinadora e instituições a que pertencem (na parte média inferior, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhado à esquerda);
- e)** local (cidade) da instituição (na parte inferior, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhamento centralizado);
- f)** ano da defesa (logo abaixo do item e, sem espaço, fonte “Times New Roman”, tamanho 14, alinhamento centralizado).

Observação: A data de aprovação e assinaturas dos membros componentes da banca examinadora será colocada após a aprovação do trabalho.

1.6 Dedicatória (s)

Elemento opcional, colocado após a folha de aprovação, onde o autor presta homenagem ou dedica seu trabalho. Esta folha não deve conter o título (dedicatória) nem o indicativo numérico.

1.7 Agradecimento (s)

Esta folha deve conter o título (Agradecimento ou Agradecimentos), sem indicativo numérico, centralizado, sendo elemento opcional, colocado após a dedicatória, onde o autor faz agradecimentos dirigidos àqueles que contribuíram de maneira relevante à elaboração do trabalho.

1.8 Epígrafe

Elemento opcional, colocado após os agradecimentos. Folha onde o autor apresenta uma citação, seguida de indicação de autoria, relacionada com a matéria tratada no corpo do trabalho. Esta folha não deve conter o título (epígrafe) nem o indicativo numérico. Podem também constar epígrafes nas folhas de abertura das seções primárias.

Observação: o conjunto dos itens relacionados à dedicatória (s), agradecimento (s) e epígrafe deve conter no máximo cinco páginas.

1.9 Resumo na língua vernácula

Esta folha deve conter o título (Resumo), sem indicativo numérico, centralizado, conforme a ABNT NBR 6024, sendo elemento obrigatório, escrito em português, em parágrafo único, de forma concisa e objetiva dos pontos relevantes, fornecendo a essência do estudo. O resumo deve conter no máximo 500 palavras, espaço simples entre linhas, seguido, logo abaixo, das palavras representativas do conteúdo do trabalho, isto é, palavras-chave e/ou descritores. Estes descritores devem ser integrantes da lista de "Descritores em Ciências da Saúde", elaborada pela BIREME e disponível nas bibliotecas médicas ou na Internet (<http://decs.bvs.br>). Todas as palavras-chave necessitam serem separadas entre si e finalizadas por ponto.

1.10 Resumo na língua estrangeira - Abstract

Esta folha deve conter o título (Abstract), sem indicativo numérico, centralizado, sendo elemento obrigatório, escrito em inglês, com as mesmas características do resumo na língua vernácula. O resumo deve conter no máximo 500 palavras, espaço simples entre linhas. Deve ser seguido das palavras representativas do conteúdo do trabalho, isto é, palavras-chave e/ou descritores, na língua.

1.11 Lista de ilustrações

Elemento opcional, que deve ser elaborado de acordo com a ordem apresentada no texto, com cada item designado por seu nome específico, acompanhado do respectivo número da página. Quando necessário, recomenda-se a elaboração de lista própria para cada tipo de ilustração (desenhos, esquemas, fluxogramas, fotografias, gráficos, mapas, organogramas, plantas, quadros, retratos e outros). Esta folha deve conter o título (Lista de ilustrações), sem indicativo numérico, centralizado.

1.12 Lista de tabelas

Elemento opcional, elaborado de acordo com a ordem apresentada no texto, com cada item designado por seu nome específico, devidamente numeradas, acompanhado do respectivo número da página. Esta folha deve conter o título (Lista de tabelas), sem indicativo numérico, centralizado.

1.13 Lista de abreviaturas e siglas

Elemento opcional, que consiste na relação alfabética das abreviaturas e siglas utilizadas no texto, seguidas das palavras ou expressões correspondentes grafadas por extenso. Esta folha deve conter o título (Lista de abreviaturas e siglas), sem indicativo numérico, centralizado.

A abreviatura é a redução gráfica de um nome ou de uma seqüência de nomes, resultando em um outro único nome conciso com o mesmo significado.

É necessário que, antes da primeira aparição no texto de uma abreviação ou sigla, se coloque por extenso o nome ou seqüência de nomes que a originou, colocando o nome abreviado entre parênteses. Em seguida, deve-se usar sempre a sigla ou abreviação. Deve-se evitar, todavia, a utilização de siglas ou abreviaturas nos títulos.

1.14 Lista de símbolos

Elemento opcional, que deve ser elaborado de acordo com a ordem apresentada no texto, com o devido significado. Esta folha deve conter o título (Lista de símbolos), sem indicativo numérico, centralizado.

1.15 Sumário

Esta folha deve conter o título (Sumário), sem indicativo numérico, centralizado e os elementos pré-textuais não devem figurar neste item.

O sumário é a enumeração das principais divisões, seções e outras partes do trabalho, na mesma ordem e grafia em que a matéria nele se sucede, deve ser localizado como o último elemento pré-textual, considerado elemento obrigatório, cujas partes são acompanhadas do(s) respectivo(s) número(s) da(s) página(s).

Exemplo:

12 Aspectos Clínicos da Amebíase..... 45

2. Textuais — Modelo de Tese ou Dissertação com Inclusão de Artigos

2.1 Apresentação

Texto preliminar no início do manuscrito que servirá de preparação aos estudos. Deve conter a caracterização e a relevância do problema (argumentos que estabelecem a legitimidade do estudo científico), a hipótese/pergunta condutora da pesquisa (proposição que visa a fornecer uma explicação verossímil para um conjunto de evidências e que deve estar submetida ao controle da experiência), os objetivos da tese ou da dissertação (finalidades que devem ser atingidas), os métodos adequados para testar as hipóteses. Os objetivos devem ser claramente descritos, com frases curtas e concisas, e as informações sobre os artigos, relacionando com os objetivos e referência ao periódico que será/foi submetido.

Observação: neste item, havendo citação de autores no texto seguir as normas vigentes da ABNT NBR 10520 (Informação e documentação - Citações em documentos – Apresentação).

2.2 Revisão da Literatura (estudo quantitativo) / Referencial Teórico (estudo qualitativo)

A revisão da literatura é um levantamento que focaliza os principais tópicos dos temas a serem abordados. Esta revisão deverá dar subsídios para as hipóteses levantadas pelo autor.

O referencial teórico ancora, explica ou compreende o objeto do estudo sendo construído a partir de uma teoria ou por construtos: “idéias e termos categoriais, princípios condutores, opiniões influentes ou conceitos essenciais adotados, em uma teoria ou área de estudo” (Carvalho, 2003, p.424)². Desta forma esta construção deve articular ao objeto do estudo com alguma teoria ou alguns construtos vindos de uma revisão de literatura.

A revisão da literatura ou o referencial teórico pode ser um capítulo da dissertação ou da tese ou ser um artigo de revisão sobre o tema da tese, submetido ou publicado em revista indexada pelo doutorando ou mestrando, como autor principal. Neste caso, o artigo inserido deve seguir as normas da revista, onde foi publicado ou submetido. Se for o caso, a comprovação da submissão deverá ser incluída no item: anexos.

Neste capítulo deve seguir as normas vigentes da ABNT: referências (Conjunto padronizado de elementos descritivos retirados de um documento, que permite sua identificação individual - NBR 6023) **e apresentação de citações** (Menção, no texto, de uma informação extraída de outra fonte - NBR 10520). **Em caso do artigo de revisão ser submetido ou publicado, seguir as normas de instruções aos autores da revista.**

2.3 Métodos (estudo quantitativo) / Caminho Metodológico (estudo qualitativo)

Detalhar o necessário para que o leitor possa reproduzir o estudo, criticar e analisar as soluções encontradas pelo mestrando ou doutorando frente aos problemas surgidos na execução do projeto. A análise dos dados deve ser escrita de modo a permitir a avaliação crítica das opções feitas.

Neste item, quando se tratar de estudo qualitativo a expressão “Métodos” pode ser substituída pelas expressões: “Caminho Metodológico”, “Percurso Metodológico”, entre outras.

2.4 Resultados — Artigos Originais

Neste capítulo deverão ser colocados os artigos originais resultantes do trabalho de Tese ou de Dissertação, tendo como autor principal o aluno da Pós-Graduação. Estes trabalhos deverão ser submetidos ou publicados em revistas científicas indexadas (formatados de acordo com as normas do periódico que foi/será submetido pelo doutorando ou mestrando como autor principal). No caso do doutorando, a comprovação da submissão dos artigos deverá ser incluída no item: anexos.

2.5 Considerações Finais

Neste capítulo deve-se expor as conseqüências das observações realizadas. É o momento de emitir eventuais generalizações. Não deve ser repetições dos resultados, mas sim uma boa síntese deles. Constitui-se de respostas

² CARVALHO, Vilma de. Sobre construtos epistemológicos nas ciências: uma contribuição para a enfermagem. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 4, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-11692003000400003&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 18 Mar 2008.

às indagações feitas, isto é, às enunciadas na introdução e detalhadas nos objetivos. O autor deverá se posicionar frente ao problema estudado e poderá incluir recomendações, inclusive discutir novas hipóteses e conseqüentemente novos estudos e experimentos.

3. Pós-textuais

3.1 Referências

Conjunto padronizado de elementos descritivos, retirados de um documento, que permite sua identificação individual. Esta folha, elemento obrigatório, deve conter o título (Referências), sem indicativo numérico, centralizado. As referências são alinhadas à esquerda, devendo seguir as normas da ABNT NBR 6023, exceto as dos capítulos que foram enviados para publicação.

Neste item são citadas **apenas** as referências da introdução, dos métodos/procedimento metodológico e da revisão bibliográfica (quando não for um artigo que será submetido a uma Revista indexada). As referências dos artigos estão contempladas nos próprios artigos, conforme as normas de “instruções aos autores”.

3.2 Apêndice

Textos ou documentos elaborados pelo autor da dissertação/tese com a finalidade de complementar sua argumentação, sem prejuízo da unidade nuclear do trabalho. Esta folha, elemento opcional, deve conter o título (**Apêndice**), sem indicativo numérico, centralizado.

O (s) apêndice (s) é identificado por letras maiúsculas consecutivas, travessão e pelos respectivos títulos. Excepcionalmente utilizam-se letras maiúsculas dobradas, na identificação dos apêndices, quando esgotadas as 23 letras do alfabeto.

Exemplo:

APÊNDICE A – Avaliação numérica de células inflamatórias totais aos quatro dias de evolução

APÊNDICE B – Avaliação de células musculares presentes nas caudas em regeneração

3.3 Anexos

Texto ou documento não elaborado pelo autor e que serve de fundamentação, comprovação ou ilustração. Esta folha, elemento opcional, deve conter o título (Anexo), sem indicativo numérico, centralizado.

O (s) anexo (s) são identificados por letras maiúsculas consecutivas, travessão e pelos respectivos títulos. Excepcionalmente utilizam-se letras maiúsculas dobradas, na identificação dos anexos, quando esgotadas as 23 letras do alfabeto.

Exemplo:

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO B – Documentação de encaminhamento do artigo ao periódico

III REGRAS GERAIS DE FORMATAÇÃO

4. Formato

Os textos devem ser apresentados em papel branco, formato A4 (21 cm x 29,7 cm), digitados na frente das folhas, com exceção da folha de rosto cujo verso deve conter a ficha catalográfica, impressos em cor preta, podendo utilizar outras cores somente para as ilustrações.

O projeto gráfico é de responsabilidade do autor do trabalho.

Recomenda-se, para digitação, o texto na cor preta, sendo que as gravuras podem ser cores livres. A fonte Times New Roman, tamanho 12 para todo o texto, excetuando-se as citações de mais de três linhas, notas de rodapé, paginação e legendas das ilustrações e das tabelas que devem ser digitadas em tamanho menor e uniforme.

No caso de citações de outros autores, com mais de três linhas, um recuo de 4 cm da margem esquerda do texto deve ser observado.

O alinhamento para o texto é justificado.

5. Margem

As folhas devem apresentar margem esquerda e superior de 3 cm; direita e inferior de 2 cm.

6. Espacejamento

Todo o texto deve ser digitado ou datilografado com espaço 1,5, excetuando-se as citações de mais de três linhas, notas de rodapé, referências, legendas das ilustrações e das tabelas, ficha catalográfica, natureza do trabalho, objetivo, nome da instituição a que é submetida e área de concentração, que devem ser digitados ou datilografados em espaço simples. As referências, ao final do trabalho, devem ser separadas entre si por dois espaços simples.

Os títulos das seções devem começar na parte superior da mancha e ser separados do texto que os sucede por dois espaços 1,5, entrelinhas. Da mesma forma, os títulos das subseções devem ser separados do texto que os precede e que os sucede por dois espaços 1,5.

Na folha de rosto e na folha de aprovação, a natureza do trabalho, o objetivo, o nome da instituição a que é submetido e a área de concentração devem ser alinhados do meio da mancha para a margem direita.

7. Notas de rodapé

As notas devem ser digitadas ou datilografadas dentro das margens, ficando separadas do texto por um espaço simples de entrelinhas e por filete de 3 cm, a partir da margem esquerda.

8. Indicativos de seção

O indicativo numérico de uma seção precede seu título, alinhado à esquerda, separado por um espaço de caractere.

9. Paginação

Todas as folhas do trabalho, a partir da folha de rosto, devem ser contadas sequencialmente, mas não numeradas. A numeração é colocada, a partir da primeira folha da parte textual, em algarismos arábicos, no canto superior direito da folha, a 2 cm da borda superior, ficando o último algarismo a 2 cm da borda direita da folha. Havendo apêndice e anexo, as suas folhas devem ser numeradas de maneira contínua e sua paginação deve dar seguimento à do texto principal.

10. Numeração progressiva

Para evidenciar a sistematização do conteúdo do trabalho, deve-se adotar a numeração progressiva para as seções do texto. Os títulos das seções primárias, por serem as principais divisões de um texto, devem iniciar em folha distinta. Destacam-se gradativamente os títulos das seções, utilizando-se os recursos de negrito, itálico ou grifo e redondo, caixa alta ou versal, e outro, no sumário e de forma idêntica, no texto.

Recife, 05 de junho de 2009.

Coordenação da Comissão dos Coordenadores dos Programas de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde.

ANEXO C



INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Objective and policy

The **ABE&M** journal accepts contributions in clinical and basic Endocrinology and related sciences in the following categories: (1) Original Article, (2) Review and Mini-Review Article, (3) Clinical Case Report, (4) Special Case, (5) Perspectives, (6) Controversies, (7) Memories, (8) Editorials, and (9) Letters to the Editor. Manuscripts (MS) should be written in Portuguese or English and should follow the instructions given by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), also known as the Vancouver Group (online at: <http://www.icmje.org>).

Authorship

All persons designated as authors should take responsibility for authoring the MS and for having participated sufficiently in the work to thus take public responsibility for its content. Credit for authorship should be based solely on substantial contribution during: (i) design, planning, execution, analysis, and interpretation of the results, (ii) drafting or revision of the article in an intellectually important capacity, and (iii) final approval of the version to be published. Participation limited to raising funds, collecting data, general supervision or heading a research group does not constitute authorship.

The Editors may request justification for the inclusion of authors during the revision process, especially if the total number of authors exceeds six.

The authors should make it clear whether or not there is a potential conflict of interest, and this information should be included in the Acknowledgements section.

The epistemological concepts and fundaments, data, experiments, research sources, and conclusions stated in the signed MS are entirely the responsibility of the author(s). Papers submitted to the ABE&M will undergo linguistic review by reviewers qualified by the Editorial Board. This review will neither affect authorship of the paper nor will it relieve the author(s) of responsibility regarding this work of intellectual creation.

Submission of articles

Starting on January 1, 2009, every manuscript should be submitted electronically at <http://www.abem-sbem.org.br>. The manuscript should be in Word (2003) format (filename.doc) with the option of including supplementary articles. Every manuscript should be submitted exclusively to the ABE&M journal.

When the MS is submitted, the author(s) should send a letter describing the article to the Editor-in-Chief. This letter should include information on potential conflicts of interest, referrals of reviewers or even a request to exclude a specific potential reviewer, provided a compelling reason is given.

Manuscript Review

Every manuscript submitted to the ABE&M, which complies with the "Instructions for Authors" and the journal's editorial policy, will be analyzed by the Editorial Board for evaluation of its content and scientific quality. Once the manuscript has been approved in this phase, it will be sent on for peer review to reviewers of recognized competence in the subject, whose anonymity is guaranteed during the entire review process. The final decision on acceptance or rejection of the MS is made by the Editors.

Accepted manuscripts

All published manuscripts become the property of Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia and may not be reproduced, republished, or published using electronic means without authorization. Once the article has been accepted for publication, the author(s) implicitly transfer the copyright to the ABE&M. For editorial reasons, the Editors reserve the right to make slight graphic or wording modifications to the text, without interfering with its content.

Preparation of Manuscripts

1. ORIGINAL ARTICLE

Original Article is a scientific report of the results of original research that has not been published or submitted for publication elsewhere.

Manuscripts should be typed, double spaced, and formatted on letter-size (216 x 279 mm) or A4 (212 x 297 mm) paper, with at least 2.5 cm margins on each side. Each of the following sections should begin on a new

page: (A) Title page, (B) Abstract and Keywords in Portuguese, (C) Abstract and Keywords in English, (D) Complete text, (E) Acknowledgements, (F) References, (G) Tables (each with a title and legend), (H) Figure legends, and (I) Figures. The pages should be numbered consecutively starting with the title page.

A. Title Page

The Title Page should contain: (a) MS title (in Portuguese and English), (b) name and institutional affiliation of all authors, (c) name of the Service(s) and/or Department(s) and Institutions(s) where work was done, (d) name and full address (including e-mail) of the author responsible for correspondence, (and) a "running title" of up to 40 characters (including spaces).

B/C. Abstract in Portuguese and Abstract in English

The second page should contain a semi-structured Abstract in English (containing: Objective, Methods, Results, and Conclusions), consisting of up to 150 words. On a separate page, the Abstract in Portuguese should be presented, which should be a faithful translation of the abstract into the Portuguese language. At the end of the both Abstracts, English and Portuguese, 4 to 6 keywords should be given, in order to facilitate later indexation. These keywords (descriptors) should comply with Index Medicus standards, which can be consulted at: <http://decs.bvs.br>.

D. Text

The Text should be divided into the following four sections: (I) Introduction, (II) Methods, (III) Results, and (IV) Discussion.

I. Introduction: The Introduction should state the purpose of the paper, summarizing the rationale for the study and its scientific relevance. Review of the subject should be succinct and should avoid inclusion of results or conclusions which are presented later in the paper.

II. Methods: The Methods section should include a description of the experimental model employed (patients or laboratory animals), with indications of the study's approval by the Hospital Ethics Committee or Research Institute where the study was carried out, in accordance with the Helsinki Declaration and the Ethical Principles on Animal Experimentation of the Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA).

There should be a description of the methods employed, citing the main devices and equipment used (name of the manufacturer and/or origin of the material in parentheses) with technical details of the procedures in sufficient detail to allow their reproduction. Widely established methods may be cited using references. Statistical methods should be described with enough detail to enable those with access to the original data to verify the results.

III. Results: Results should be presented in a logical sequence within the text, avoiding repetition of the data shown in tables or figures; only important observations should be emphasized.

Units of Measurement - The measurements and their respective abbreviations should be in line with the International System of Units (IS, <http://physics.nist.gov/cuu/Units>). Measurements of length, height, weight, and volume should be given in metric system units (meter, kilogram, liter) or their decimal multiples; temperatures should be given in degrees Celsius (°C), blood pressure in millimeters of mercury (mmHg), and the hematological and chemical values should be given using the traditional metric system.

IV. Discussion: The Discussion section should comment on new and important aspects covered in the study in relation to the available literature. In this section, focus should also be given to the conclusions reached. Avoid repeating results or information already presented in other sections.

Special attention should be paid to the implications of the findings, their limitations, and even recommendations for future studies.

E. Acknowledgements

On a new page, include: (i) contributions requiring acknowledgement, but not justifying authorship, (ii) acknowledgement of technical, financial, and material assistance, including governmental assistance and/or assistance from pharmaceutical laboratories and, (iii) Conflict of interest (obligatory): descriptions of funding that may represent a potential conflict of interest and/or a statement that there was no conflict of interest that might have interfered with the impartiality of the scientific work.

F. References (up to 40 in original articles)

References should be numbered consecutively in the order of their appearance in the text and identified by Arabic numerals between parentheses, as shown in the example:

"There were new advances in molecular medicine (3), followed by advances in the area of applied genetics (4-6), which..." When there are references in tables and figures, the order of these references should correspond to the order in which the tables and figures are mentioned in the text.

Journal titles should be abbreviated according to the style used in the Index Medicus and according to the reference format recommended by the ICMJE, as shown online at http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

The exactness of references contained on the list and the correct reference in the text are the responsibility of the author(s).

Papers accepted and not yet published may be included by providing the name of the journal followed by the year and (in press). References to abstracts presented at congresses should be avoided.

We recommend the use of bibliographic reference management software (e.g.: EndNote, Reference Manager) - select "Vancouver" style. Some examples:

Article in Journals (If there are *more than six authors*, only the first six should be named, followed by et al.)
Suszko MI, Lo DJ, Suh H, Camper SA, Woodruff TK. Regulation of the rat follicle-stimulating hormone beta-subunit promoter by activin. *Mol Endocrinol* 2003;17(3):318-32.
Thomas TZ, Wang H, Niclasen P, O'Bryan MK, Evans LW, Groome NP, et al. Expression and localization of activin subunits and follistatins in tissues from men with high grade prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82(11):3851-8.

Electronic article released on the Internet before the printed version is published:

Yu WM, Hawley TS, Hawley RG, Qu CK. Immortalization of yolk sac-derived precursor cells. *Blood*. 2002 Nov 15;100(10):3828-31. Epub 2002 Jul 5.

Electronic article released on the Internet without a printed version:

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Chapter in a Book:

Conte FA, Grumbach MM. Abnormalities of sexual determination and differentiation. In: Greenspan FS, Gardner DG, editors. *Basic & clinical endocrinology*. 6th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.p.509-46.

Book:

Leder P, Clayton DA, Rubenstein E. *Introduction to molecular medicine*. New York: Scientific American; 1994.

Database on the Internet:

Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). c1999 [updated 2001 Nov 20; cited 2002 Aug 12]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/archive/20061212/mesh/jablonski/syndrome_title.html
MeSH Browser [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2002 - [cited 2003 Jun 10]. Meta-analysis; unique ID: D015201; [about 3 p.]. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Files updated weekly

G. Tables

Each table should be presented on a separate sheet. It should be typed, double spaced, and numbered, using Arabic numerals, in accordance with its appearance in the text. There should be a brief title on the top of the page along with explanations, a legend, and statistics appropriately indicated in the footer.

H/I. Figures and Legends

Figures should be originally prepared using one of these file extensions: TIFF (Tagged Image File Format), JPG or JPEG, EPS (Encapsulated PostScript). The letters, numbers, and symbols inserted in the figures should be clear and large enough so as to remain legible following substantial reduction for publication. The titles and legends for the figures should be given on a separate sheet, and never inside the figure itself. During the initial submission process, figures may be inserted into the word or PowerPoint file; however, once the manuscript is accepted, they should be sent in their original files with a minimum resolution of 300 dpi. Standard printing of the publication supports only two colors (black - red), for this reason, multicolored figures should be avoided. Including a colored figure will incur cost (R\$ 900/each figure), which will be paid by the authors. Payment will be requested by the editor in due time.

2. REVIEW OR MINI-REVIEW ARTICLE

A Review Article is a broad and systematic critical evaluation of the literature on a certain subject and should contain the procedures adopted, with a clear outline of the limits of the topic, ending with the author's conclusions. Articles in this category are requested by the Editors to authors with proven experience in the field. It should have a Title (in Portuguese and English), Running Title of up to 40 characters, Abstract in Portuguese/Abstract in English (structuring is not necessary), Descriptors/Keywords, Text (with or without subsections), Acknowledgements and References. The general instructions for Page Title, Figures/Tables and References are the same as for Original Articles.

Reviews should not have more than 30 standard pages, including at most 60 references, and mini-reviews should not have more than 15 standard pages, with at most 20 references. Mention of previously published articles in the journal, as well as inclusion of illustrations such as tables, figures, graphs, or a combination of these, is recommended. The author should mention the source and/or request authorization for use of previously published figures.

3. CLINICAL CASE REPORT

This section is used to publish interesting clinical cases and clinical cases that show some originality, unusual or non-conventional aspect. It should show interesting clinical, laboratorial, and progression-related aspects, which should be duly documented. It should have a Title (in Portuguese and English), Running Title of up to 40 characters, Abstract in Portuguese/Abstract in English (structuring is not necessary), Descriptors/Keywords, Text (with or without subsections), Acknowledgements, and References. The general instructions for Page Title, Figures/Tables, Acknowledgements and References are the same as for Original Articles.

4. SPECIAL CASE

In this section, cases of special educational interest, which have been duly studied and presented in clinical meetings at well-known national Endocrinology centers or services, are examined. The MS should necessarily include an abstract of the case and a general discussion presented by the audience attending the meeting, with their full names and titles. The material should be edited beforehand by one of the people responsible for the case or the scientific meeting. The authors of the MS should be limited to the presenter(s) and the person or

people who discussed the case, along with the date and location of the presentation and the name and address of the person responsible for the MS. Include Title Page, Abstract in Portuguese, Abstract in English, Keywords Acknowledgements and References.

5. PERSPECTIVES

The purpose of this section is to serve as a vehicle for spreading new ideas and concepts in the different areas of Endocrinology, including basic, application, clinical, teaching, and training areas. The articles can cover: (a) interpretive essays, which use the research data of the author(s) in order to develop new ideas, (b) research proposals for collaborative studies with different centers, (c) innovative essays dealing with the interrelationship of Endocrinology with other areas, (d) passages from the history of Brazilian or International Endocrinology including critical analysis of events, figures, or institutions. The general instructions are the same as for Original Articles and Reviews.

6. CONTROVERSIES

The manuscripts presented in this section are requested by the Editors. The objective of this section is to highlight topics in clinical Endocrinology, particularly those related to diagnosis and treatment of frequent endocrine diseases, whose management is not sufficiently standardized and which may, therefore, present different management options.

7. MEMORIES

This section aims to remember and honor people, institutions, and situations of importance or historical relevance to Endocrinology, especially Brazilian Endocrinology. The MS may be submitted spontaneously, or upon request from the editors, by authors who witnessed the situation or events from a close range.

8. EDITORIALS

Editorials are written by the Editors, covering diverse topics within the specialty and/or relative to the Journal, or requested to specialists, invited by the Editorial Board, with the purpose of providing comments concerning an article in the current issue of the Journal with special interest for the readers.

9. LETTERS TO THE EDITOR

Includes letters that aim to comment on or discuss articles recently published in the journal or briefly discuss new research or significant scientific findings. The text is limited to 8 pages (A4 or letter) including Acknowledgements and up to 15 references.