



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA

LARISSA NOBRE LOPES
TAINÁ REZENDE FERREIRA ALVES

AVALIAÇÃO ELETROCORTICOGRÁFICA, ELETROCARDIOGRÁFICA E ENZIMAS
HEPÁTICAS ALT E AST APÓS ADMINISTRAÇÃO DE DOSE TÓXICA DE
ACETAMINOFENO EM RATOS WISTAR

Belém

2022

LARISSA NOBRE LOPES
TAINÁ REZENDE FERREIRA ALVES

AVALIAÇÃO ELETROCORTICOGRÁFICA, ELETROCARDIOGRÁFICA E ENZIMAS
HEPÁTICAS ALT E AST APÓS ADMINISTRAÇÃO DE DOSE TÓXICA DE
ACETAMINOFENO EM RATOS WISTAR

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Medicina, do
Campus Instituto de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal do Pará, como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy

Belém

2022

LARISSA NOBRE LOPES
TAINÁ REZENDE FERREIRA ALVES

**AVALIAÇÃO ELETROCORTICOGRÁFICA, ELETROCARDIOGRÁFICA E
ENZIMAS HEPÁTICAS ALT E AST APÓS ADMINISTRAÇÃO DE DOSE TÓXICA
DE ACETAMINOFENO EM RATOS WISTAR**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado para obtenção de grau em
Medicina pela Universidade Federal do Pará.**

Banca examinadora:

Prof. Dr. Moisés Hamoy / UFPA

(Orientador)

Prof. Msc. Rômulo Augusto Feio Farias / UFPA

(Membro)

Profª Dra. Vanessa Jóia de Mello / UFPA

(Membro)

Apresentado em: ____ / ____ / ____ **Conceito:** _____

RESUMO

Introdução: O acetaminofeno é o medicamento de livre prescrição mais utilizado no mundo como analgésico e antipirético e apesar de ser considerado seguro quando utilizado em doses terapêuticas, é responsável pelas causas mais comuns de intoxicação por drogas, que pode ocorrer devido ao uso de superdosagem intencional ou não intencional, podendo resultar em insuficiência hepática e alterações eletrofisiológicas. **Objetivo:** Identificar a ocorrência de alterações eletrocorticográficas, eletrocardiográficas e hepáticas em ratos Wistar induzidos à intoxicação por paracetamol. **Métodos:** Estudo de desenho experimental utilizando ratos Wistar, machos, pesando entre 200 a 230g. Os animais foram divididos nos seguintes grupos: A – controle com solução fisiológica 0,9% via gavagem (n=9); B – grupo acetaminofeno, receberá dose de 1g/kg via oral de acetaminofeno (n=9). Foram realizados registros eletrocorticográficos, eletrocardiográficos e enzimas hepáticas (AST e ALT) nos períodos de 24, 48, 72 e 96 horas após a administração da droga. **Resultados:** Observou-se redução progressiva da potência da eletrocorticografia de acordo com a progressão do tempo de observação após a administração do acetaminofeno. No grupo tratado com a droga, a potência média foi cerca de 50% mais baixa na amplitude das oscilações cerebrais em relação ao controle. Em todos os tipos de ondas (alpha, beta, delta, gamma e theta) houve diferença significativa às 96 horas após a aplicação. Quanto ao registro eletrocardiográfico, no grupo acetaminofeno, observou-se diminuição da atividade cardíaca e alterações no seguimento RR, PQ e QT após 72 e 96 horas, além de aumento de duração do QRS a partir de 48 horas da administração de dose tóxica aguda, mantendo ritmo sinusal. No estudo também foi identificado alterações no formato da onda T, a qual apresentou maior irregularidades e abertura. Por fim, observou-se aumento das atividades das transaminases AST e ALT, configurando danos hepáticos com a dosagem utilizada no estudo. **Conclusão:** No sistema nervoso central, observou-se uma redução progressiva da amplitude de todas as ondas cerebrais na eletrocorticografia (*delta*, *theta*, *beta* e *gamma*), com exceção da onda alpha, que apresentou aumento de atividade. A redução da maioria das ondas cerebrais corrobora com a ideia de a droga atuar como inibidora do sistema nervoso central, correspondendo aos efeitos analgésicos centrais promovidos pela mesma. Acerca da hepatotoxicidade, as alterações descritas corroboram com os danos hepáticos, já amplamente conhecidos,

decorrentes da toxicidade do acetaminofeno, demonstrado pelo aumento dos níveis das transaminases AST e ALT. Com relação as alterações eletrocardiográficas, observou-se redução da atividade cardíaca e alteração nos segmentos eletrocardiográficos, mantendo o ritmo sinusal. Todas as variáveis analisadas apresentaram suas alterações mais significativas a partir de 72h da administração da dose tóxica do acetaminofeno.

Descritores: Acetaminofeno, Eletrocorticografia, Eletrocardiografia, Transaminases, Enzimas hepáticas, Ratos Wistar.

ABSTRACT

Introduction: Acetaminophen is the most widely used over-the-counter drug in the world as an analgesic and antipyretic, and although it is considered safe when used in therapeutic doses, it is responsible for the most common causes of drug intoxication, which can occur due to intentional or unintentional overdose, and may result in liver failure and electrophysiological changes. **Objective:** To identify the occurrence of electrocorticographic, electrocardiographic, and hepatic alterations in wistar rats induced to paracetamol intoxication. **Methods:** Experimental design study using male Wistar rats weighing 200-230g. The animals were divided into the following groups: A - control with 0.9% saline solution via gavage (n=9); B - acetaminophen group, receiving 1g/kg of acetaminophen orally (n=9). Electrocorticographic, electrocardiographic records and liver enzymes (AST and ALT) were performed in the periods of 24, 48, 72 and 96 hours after drug administration. **Results:** A progressive reduction in electrocorticography power was observed according to the progression of observation time after acetaminophen administration. In the group treated with the drug, the mean power was about 50% lower in the amplitude of brain oscillations compared to the control. In all wave types (alpha, beta, delta, gamma, and theta) there was a significant difference at 96 hours after application. As for the electrocardiographic record, in the acetaminophen group, a decrease in cardiac activity and alterations in the RR, PQ, and QT follow-up were observed after 72 and 96 hours, in addition to an increase in the QRS duration as of 48 hours after the administration of the acute toxic dose, maintaining sinus rhythm. In the study it was also identified changes in the shape of the T wave, which showed greater irregularities and opening. Finally, it was observed an increase in the activities of AST and ALT transaminases, configuring liver damage with the dosage used in the study. **Conclusion:** In the central nervous system, there was a progressive reduction in the amplitude of all brain waves on electrocorticography (delta, theta, beta and gamma), with the exception of the alpha wave, which showed increased activity. The reduction of most brain waves corroborates the idea that the drug acts as an inhibitor of the central nervous system, corresponding to the central analgesic effects promoted by it. Regarding hepatotoxicity, the alterations described corroborate the liver damage, already widely known, resulting from the toxicity of acetaminophen, demonstrated by the increase in the levels of AST and ALT transaminases. Regarding the electrocardiographic

changes, there was a reduction in cardiac activity and changes in the electrocardiographic segments, maintaining sinus rhythm. All the variables analyzed showed their most significant changes after 72h of the administration of the toxic dose of acetaminophen.

Keywords: Acetaminophen, Electrocardiography, Electrocardiography, Transaminases, Liver enzymes, Wistar rats.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 PROBLEMA	10
1.2 HIPÓTESE	11
1.3 OBJETIVO	11
1.3.1 OBJETIVO GERAL	11
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
1.4 JUSTIFICATIVA	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
3. METODOLOGIA	22
3.1 TIPO DE ESTUDO	22
3.2 AMBIENTE DA PESQUISA	22
3.3 ANIMAIS	22
3.4 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS	23
3.5 ELETROFISIOLOGIA	23
3.5.1 ELETROCORTICOGRAMA	23
3.5.2 ANÁLISE DOS DADOS ELETROFISIOLÓGICOS	23
3.5.3 ELETROCARDIOGRAMA	24
3.6 FUNÇÃO HEPÁTICA	24
3.7 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	24
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
4. RESULTADOS	25
4.1 ALTERAÇÃO DO REGISTRO ELETROCORTICOGRÁFICO	25
4.2 ALTERAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA	29
4.3 ELEVAÇÃO DAS TRANSAMINASES (ALT E AST)	33
5. DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	36
7. REFERÊNCIAS	38

1. INTRODUÇÃO

O paracetamol, acetaminofeno ou N-acetil-p-aminofenol é um anti-inflamatório não esteroide derivado do para-aminofenol, utilizado pela primeira vez em 1893, porém só passou a ser utilizado em larga escala a partir de 1949 após seu reconhecimento como principal metabólito ativo da acetanilida e fenacetina. Na prática clínica, é um dos analgésicos e antipiréticos mais utilizados no mundo, pois não apresenta os efeitos colaterais comuns de sua classe, sendo muito bem tolerado pelos pacientes, além de ter um custo acessível e ser um medicamento de livre prescrição. É a primeira escolha como analgésico oral em tratamentos de longo período, como no tratamento sintomático de dor leve a moderada da osteoartrite, e também nos casos de pacientes que possuem contraindicação ao uso de outros AINES, por exemplo, no tratamento de úlceras gástricas (LUCAS *et al.*, 2005; GOODMAN, 2006; JÓZWIAK-BEBENISTA e NOWAK, 2014).

O paracetamol pode ser utilizado com segurança (quando respeitada a dose terapêutica) por todas as faixas etárias, incluindo o período gestacional e neonatal. Ele pode ser encontrado na forma de comprimidos, efervescentes, suspensão, pó, supositórios retais e via intravenosa, sendo muito utilizado nos serviços de saúde hospitalares. Apesar de sua ampla utilização mundial por mais de meio século, seu mecanismo de ação ainda não foi totalmente elucidado, mas as pesquisas sobre o assunto estão cada vez mais avançadas e demonstraram sua atuação no sistema nervoso central (LUCAS *et al.*, 2005; JÓZWIAK-BEBENISTA e NOWAK, 2014).

O paracetamol é uma droga amplamente utilizada na clínica para redução da dor (analgésico) ou redução da febre (antipirético). Pertence à classe de medicamentos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES). Seu mecanismo de ação envolve a inibição da enzima Cicloxigenase (COX), a qual é responsável pela síntese de prostaglandina H₂. Por isso, a enzima participa da sinalização celular dos processos inflamatórios (JOZWIAK-BEBENISTA; NOWAK, 2014; MCCRAE *et al.*, 2018).

Os principais sinais e sintomas decorrentes do quadro de intoxicação por paracetamol incluem náusea, vômito, mal-estar, palidez e diaforese. Com o agravamento do quadro, o paciente pode evoluir para uma insuficiência hepática fulminante com encefalopatia, coma ou hemorragia raramente exsanguinante. Ainda, há estudos que indicam efeitos teratogênicos do uso do paracetamol, como a

possibilidade de o feto ter seu desenvolvimento neuronal afetado, apresentando um risco aumentado de paralisia cerebral espástica (GOLDFRANK *et al.*, 2011; FAYS *et al.*, 2015; PETERSEN, 2017).

Além disso, é conhecido que a intoxicação por paracetamol provoca alterações cerebrais secundárias ao desenvolvimento de Falência Hepática Aguda (FHA). Entretanto, ele ultrapassa a barreira hemato-encefálica e é distribuído homogeneamente por todo o SNC. Assim, há evidências de sua ação no cérebro de forma direta, não apenas secundária, como por exemplo, acerca de dois conhecidos genes-alvo do fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2 (Nrf2), quinoneoxidoreductase 1 (Nqo1) e heme-oxigenase 1 (Ho-1) que, após tratamento com paracetamol, tiveram sua expressão significativamente aumentada. Ainda, há evidências adicionais de que ele aumenta a atividade enzimática do CYP2E1 neuronal e os níveis de proteína, levando à morte celular neuronal (GAHNEM *et al.*, 2015; GAHNEM *et al.*, 2016).

Os modelos de roedores demonstraram ação da droga sobre a modulação do humor. Em humanos, apresenta ação redutora do estresse, redução da ansiedade e redução da percepção de risco, com adoção de comportamentos arriscados para si ou para outros. No entanto, sua ação ansiolítica ocorre de forma droga-dependente. No entanto, seus efeitos *in vivo* sobre o SNC ainda não foram bem esclarecidos (CHEN *et al.*, 2018; GIACOMINI *et al.*, 2021).

A eletroencefalocorticografia é uma metodologia que utiliza o registro da atividade elétrica cerebral, podendo ser utilizada para identificar o funcionamento das mais diferentes áreas cerebrais. Seus resultados identificam as diferentes ondas cerebrais geradas pela atividade elétrica, tais como delta, gamma, alpha, theta e beta. (SANEI; CHAMBERS, 2007).

A onda Delta está associada às faixas de frequência de 0,5 à 4Hz e ocorre durante o sono profundo. As ondas Theta ocorrem nas faixas de frequência de 4 à 7,5Hz, estão presentes em crianças, mas podem ocorrer em adultos com algum tipo de estresse emocional. Já as ondas Alpha, situadas na frequência de 8 à 13Hz, indicam uma condição de consciência relaxada ou sem estímulo externo. As ondas Beta, ocorridas nas frequências 14 à 30Hz, são associadas à atividade mental intensa, à atenção concentrada em um estímulo externo e à resolução de problemas concretos (WEBSTER, 2010).

O paracetamol é amplamente utilizado por adultos e crianças, sendo o analgésico sem prescrição de maior uso no mundo, ocasionando um consumo

indiscriminado da droga. Dessa forma, apesar de ser uma droga bem tolerada, muitas pessoas estão expostas ao risco de superdosagem, o que pode acarretar em uma série de consequências ao organismo, com destaque aos danos hepáticos e cerebrais, que apresentam manifestações clínicas graves, podendo levar a morte, evidenciando a importância do estudo da sua toxicidade.

1.1 PROBLEMA

O paracetamol é o medicamento de livre prescrição mais utilizado no mundo como analgésico e antipirético e apesar de ser considerado muito seguro quando utilizado em doses terapêuticas, é responsável pelas causas mais comuns de intoxicação por drogas. Essa intoxicação pode ocorrer devido ao uso de superdosagem intencional ou não intencional, como no uso de doses diárias excedentes decorrentes do manejo incorreto da droga em tratamentos de dor intensa ou de febre persistente. (KOMINEK *et al.*, 2015; YESIL e ABDURRAHMAN, 2018)

O paracetamol sofre metabolização por sulfatação e glucuronidação no fígado, porém cerca de 10% é metabolizado pelo citocromo P450 resultando em um metabólito tóxico chamado de N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI). Quando utilizado em doses terapêuticas, esse metabólito tóxico é conjugado com a glutathione e eliminado do organismo pela urina, contudo, na presença de superdosagem do paracetamol a quantidade de NAPQI excede o suprimento de glutathione, com consequente acúmulo do metabólito, o qual se liga aos componentes hepáticos causando lesões hepatocelulares, podendo evoluir para insuficiência hepática. (YESIL e ABDURRAHMAN, 2018; GOLDFRANK *et al.*, 2011)

Os avanços nas pesquisas a respeito do mecanismo de ação da droga demonstraram que o paracetamol possui uma importante atividade no sistema nervoso central. Ele atravessa a barreira hematoencefálica e possui um mecanismo de ação central inibindo a COX, uma parte do paracetamol é metabolizado no cérebro em N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI), uma substância tóxica. (GOLDFRANK *et al.*, 2011; GHANEM *et al.*, 2016).

Gosselin *et al* (2017) relataram um caso de ingestão suicida de paracetamol, quetiapina, AAS e etanol. Após 12 horas da admissão, lesão hepática grave era evidente e os biomarcadores cardíacos deterioraram-se inesperadamente. Foram observadas elevações localizadas do segmento ST no eletrocardiograma, mas angiografia descartou infarto do miocárdio. Na autópsia, os achados histológicos

foram indicativos de miocardite tóxica aguda e concluiu-se que eram causados por intoxicação por acetaminofeno. A miocardite tóxica é uma complicação extremamente rara da overdose de paracetamol. Foi relatado apenas quatro vezes na literatura, apesar do amplo uso indevido de paracetamol.

Diante disso, o presente estudo levanta o seguinte problema: A intoxicação por paracetamol, decorrente de sua superdosagem, ocasiona alterações eletrocorticográficas, eletrocardiográficas e hepáticas em ratos wistar?

1.2 HIPÓTESE

A intoxicação por paracetamol ocasiona alterações eletrocorticográficas, eletrocardiológicas e hepáticas em ratos wistar.

1.3 OBJETIVO

1.3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo geral identificar a ocorrência de alterações eletrocorticográficas, eletrocardiográficas e hepáticas em ratos wistar induzidos à intoxicação por paracetamol no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais (LFTPN), da Universidade Federal do Pará, tendo como benefício conscientizar a população sobre o risco à saúde do uso indiscriminado da droga.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar possíveis alterações eletrocorticográficas decorrentes da intoxicação por uso do paracetamol.
- Verificar alterações nas forças cerebrais Delta (1-4 Hz), theta (4-8 Hz), Alpha (8-12 Hz), Beta (12-28 Hz) e Gamma (28-40 Hz) avaliando suas preponderâncias (JALILIFAR *et al.* 2018).
- Analisar a condição cerebral na intoxicação por paracetamol.
- Demonstrar possíveis alterações de enzimas hepáticas (AST e ALT) decorrentes da intoxicação por paracetamol.
- Conhecer possíveis alterações eletrocardiográficas decorrentes da intoxicação por paracetamol.

1.4 JUSTIFICATIVA

O paracetamol é uma droga bem tolerada que não compartilha dos efeitos colaterais das demais drogas anti-inflamatórias não esteroidais, classe de medicamentos a qual pertence, sendo adquirida sem prescrição médica. (GOODMAN, 2006). É o analgésico sem prescrição mais utilizado no mundo (CHIEW *et al.*, 2018). Isso ocasiona um consumo indiscriminado, resultando na principal consequência de superdosagem do medicamento, a intoxicação hepática.

O paracetamol é a droga mais utilizada em pediatria como analgésico e antipirético, sendo administrado em todas as faixas etárias, incluindo pacientes neonatais (MUND *et al.*; 2015). A intoxicação grave em crianças aparenta ser menos frequente quando comparada a idade adulta devido a uma melhor metabolização hepática, contudo, a frequência de envenenamento pelo paracetamol continua em níveis constantemente elevados, especialmente entre os adolescentes podendo levar à insuficiência hepática, a qual, em alguns casos, pode ser fatal (MUND *et al.*, 2015; KOMINEK *et al.*, 2015). A intoxicação por paracetamol em crianças pode ocorrer por meio da superdosagem deliberada, exposição não intencional ou equívocos na administração da droga pelos pais ou responsáveis, os quais desconhecem os riscos dessa medicação (ALCÂNTARA; ALBUQUERQUE; VIERA, 2003).

Encontrou-se ainda um relato de caso que identificou uma deterioração inesperada dos biomarcadores cardíacos e elevações localizadas do segmento ST no eletrocardiograma após 12 horas da admissão de um paciente com intoxicação por acetaminofeno, quetiapina, AAS e etanol, onde concluiu-se que as alterações observadas foram causadas pela intoxicação por acetaminofeno (GOSSELIN *et al.*, 2017).

Além disso, sabe-se que o paracetamol atravessa facilmente a barreira hematoencefálica e que a isoforma CYP2E1 está presente no cérebro. Ou seja, pode-se concluir que há a metabolização do paracetamol em N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI) no cérebro (GHANEM *et al.*, 2016).

Portanto, apesar dos benefícios já conhecidos da administração do paracetamol, é de grande importância o estudo da toxicidade desse medicamento, pois além da intoxicação por via hepática (encefalopatia hepática), acredita-se que o paracetamol promova uma ação tóxica direta no tecido cerebral. Ainda, baseado em estudo inicial que encontrou alteração eletrocardiográfica e, considerando a dificuldade de encontrar publicações a respeito desta temática, identificamos a

necessidade de verificar as possíveis alterações eletrocardiográficas decorrentes da intoxicação pela droga.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O paracetamol, acetaminofeno ou N-acetil-p-aminofenol é um anti-inflamatório não esteroideal derivado do para-aminofenol. Este medicamento foi utilizado pela primeira vez em 1893, ganhando popularidade apenas em 1949 ao ser reconhecido como o principal metabólito ativo da fenacetina e acetanilida (GOODMAN, 2006). Atualmente, é uma das mais importantes drogas de venda sem receita médica do mundo, sendo amplamente utilizado por todas as faixas etárias e durante o período gestacional. Apesar de pertencer ao grupo dos anti-inflamatórios não esteroidais, o paracetamol não compartilha dos efeitos adversos comuns do grupo, por isso é melhor tolerado como analgésico e antipirético, embora seja menos eficaz como anti-inflamatório, visto que sua atividade anti-inflamatória é fraca (GRAHAM *et al.*, 2013).

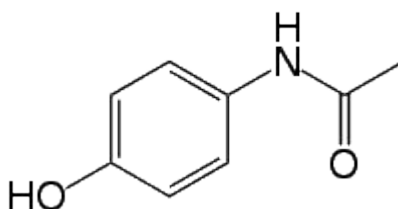


Figura 1: Fórmula estrutural do paracetamol.

Fonte: BORGES *et al.*, 2018.

Por apresentar um bom efeito como analgésico e antipirético, as principais indicações clínicas do paracetamol compreendem o tratamento de febre e dor de leve a moderada, como cefaleia, dor pós-parto, dor pós-operatório, dor crônica do câncer, mialgia moderada e artralgia. Em crianças, seu uso como analgésico e/ou antipirético é mais seguro quando comparado aos outros AINES como a aspirina (SILVA, 2009). Além disso, o paracetamol é considerado uma boa alternativa para o ácido acetilsalicílico para os pacientes que possuem contraindicações ao uso do mesmo, como aqueles que apresentam alterações da coagulação (hemofílicos), pacientes com úlcera péptica, entre outros (GOODMAN, 2006).

O Paracetamol é uma droga comercializada em diversas apresentações, como na forma de cápsulas, comprimidos de 500 a 1.000 mg cada, gotas ou solução,

xarope, pós e pastilhas. Pode ser encontrado sozinho ou em associações (SEBBEN *et al.*, 2010). Sua dose oral convencional é de 325-1.000mg/dose e a sua dose diária total não deve ser superior à 4.000mg devido ao risco de intoxicação. Em crianças pode-se utilizar uma dose de 10mg/kg (GOODMAN, 2006).

Após administração oral, o paracetamol sofre rápida absorção pelo trato gastrointestinal por difusão passiva com cinética de primeira ordem ocorrendo principalmente no intestino delgado, diante disso, a taxa de esvaziamento gástrico influencia na sua absorção (CLISSOLD, 1986). Com a administração da dose terapêutica, o pico de concentração plasmática é de 5 a 20 µg/ml ocorrendo no intervalo de tempo de 30 a 60 minutos e apresenta a meia-vida plasmática de 2 horas em pessoas saudáveis, podendo diminuir em pacientes com hipertireoidismo e aumentar em pacientes com hepatite (SILVA, 2009). O fármaco possui uma distribuição uniforme na maioria dos líquidos corporais, contudo, a sua ligação às proteínas plasmáticas não é significativa quando utilizado em doses terapêuticas, porém pode-se observar 20-50% da droga ligada à proteínas plasmáticas durante a intoxicação aguda (GOODMAN, 2006).

Em doses terapêuticas, o paracetamol sofre metabolização hepática sendo conjugado com ácido glicurônico (aproximadamente 60%), sulfato (cerca de 35%) ou cisteína (cerca de 3%), além disso, pode-se detectar uma pequena porção de metabólitos desacetilados e hidroxilados (GOODMAN, 2006; SILVA, 2009). Cerca de 10% da droga sofre oxidação por via hepática do citocromo P450 através da CYP2E1, resultando na formação de N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI), um metabólito altamente reativo, o qual é inativado ao sofrer conjugação com a glutathione, formando conjugados não tóxicos de cisteína e mercapto e, em seguida, são excretados na urina (CLISSOLD, 1986; GOLDFRANK *et al.*, 2011).

Segundo Prescott (1980), o metabolismo do paracetamol é dependente da idade e da dose utilizada pelo paciente. Em jovens e adultos, a conjugação da droga com ácido glicurônico é a via dominante, já em crianças e neonatos essa via de conjugação é deficiente e a via principal é a conjugação com sulfato.

A principal via de excreção do paracetamol é a renal. Ao utilizar doses terapêuticas, 90% a 100% da droga pode ser recuperada na urina na sua forma conjugada com sulfato ou ácido glicurônico ou cisteína, e apenas 2 a 5% do fármaco é excretado de forma inalterada na urina (SILVA, 2009; CLISSOLD, 1986). O paracetamol é um ácido orgânico fraco e moderadamente solúvel em lipídios, diante

disso, ele sofre uma considerável filtração glomerular e extensa reabsorção tubular. A sua excreção é independente do pH urinário, mas pode estar relacionada com o fluxo urinário (MORRIS; LEVYX, 1984).

O paracetamol é um analgésico e antipirético muito bem tolerado e não apresenta os efeitos adversos comuns à classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) quando utilizado em doses terapêuticas (até 4g diárias). A administração da droga não possui nenhum tipo de associação com o aparecimento de erosões gastrointestinais, ao contrário do que se observa na utilização de outros AINES como a aspirina (IVEY, 1983). Além disso, também não são observados efeitos prejudiciais sobre os sistemas cardiovascular e respiratório, não ocorrem alterações no equilíbrio ácido-básico, não tem efeito sobre as plaquetas, tempo de sangramento e/ou excreção de ácido úrico (GOODMAN, 2006). Quando comparado a aspirina, por exemplo, é menos provável que o paracetamol produza reações de hipersensibilidade urticariforme e/ou broncoespástica, contudo, segundo Settipane (1981), cerca de 5 a 6% dos pacientes sensíveis à aspirina apresentam sensibilidade cruzada com o paracetamol.

O mecanismo de ação do paracetamol é amplamente estudado, contudo ainda não foi totalmente elucidado. Sabe-se que o paracetamol atravessa a barreira hematoencefálica e tem uma distribuição homogênea no sistema nervoso central quando utilizado tanto em doses terapêuticas quanto em doses tóxicas, possuindo um mecanismo de ação central. Como os outros AINES, o paracetamol também demonstrou agir na inibição da COX, contudo, o mecanismo de inibição não ocorre por meio da ligação direta do paracetamol ao local ativo da enzima, estudos apontam que ele reduz a forma ativa da COX tornando-a cataliticamente deficiente. Diante disso, a função do paracetamol depende das condições intracelulares e da localização celular, em condições onde a concentração de peróxidos é alta, o paracetamol não é ativo. Isso explica porque o paracetamol é ativo no cérebro, onde os níveis de peróxidos são baixos, e não nos locais periféricos de inflamação. (GOLDFRANK *et al.*, 2011; GHANEM *et al.*, 2016).

As propriedades antipiréticas e analgésicas do paracetamol ocorrem predominantemente pela inibição indireta central da COX e a diminuição na síntese de prostaglandina E2. Contudo, estudos recentes descrevem um novo mecanismo de ação envolvendo a modulação do sistema canabinóide endógeno para explicar as propriedades analgésicas. Esses estudos têm como base a desacetilação do

paracetamol em P-aminofenol que sofre conjugação com ácido araquidônico por meio da enzima amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) formando o N-araquidinoil-fenolamina (AM404) no cérebro, medula espinhal e gânglios da raiz dorsal. O AM404 é um potente ativador dos receptores do subtipo 1 do vanilóide (TRPV1) e possui semelhanças estruturais com a anandamida, um endocanabinóide, tornando-o um agonista fraco dos receptores canabinóides do tipo 1 (CB1) e 2 (CB2) e um inibidor do transportador de membrana de anandamida. Isso resulta no aumento dos níveis de canabinóides endógenos, os quais estão presentes nos centros reguladores da temperatura e da dor no cérebro. Diante disso, além do mecanismo de ação por meio da inibição da COX centralmente, as vias de sinalização vanilóide e canabinóide também atuam nas ações farmacológicas do paracetamol (GHANEM *et al.*, 2016).

Além disso, um estudo desenvolvido por Blecharz-Klin *et al.* (2019) intitulado *Hypothalamus: Response to early paracetamol exposure in male rats offspring*, avaliou o efeito do tratamento com paracetamol na neurotransmissão hipotalâmica na prole de ratos e demonstrou um efeito significativo da droga na neurotransmissão dopaminérgica e noradrenérgica, alterando a concentração de ácido glutâmico no hipotálamo, centro regulador da temperatura, podendo explicar sua ação antipirética.

A segurança da dosagem apropriada de paracetamol resulta da disponibilidade de doadores de elétrons, como glutatona (GSH) reduzida e outros compostos contendo tiol (S-H). Após a dose terapêutica, o suprimento e rotatividade de GSH superam em muito o necessário para desintoxicar o NAPQI, evitando toxicidade. Porém, após overdose, a taxa e quantidade de NAPQI excedem o suprimento e rotatividade de GSH, resultando em um NAPQI livre que se liga rapidamente aos componentes hepáticos (GOLDFRANK *et al.*, 2011).

sinalização de JNK. Em consequência de translocação de p-JNK para as mitocôndrias, é fornecido um segundo sinal que amplifica o estresse oxidativo e promove a formação de MPT. Mais especificamente, p-JNK se liga a proteína 5 de ligação ao domínio SH3 (Sh3bp5 ou Sab) na membrana mitocondrial externa, promovendo a produção de ERO mitocondrial por um mecanismo ainda não totalmente compreendido. Isso resulta na produção de EROs suficientes para induzir o MPT. Dando suporte ao mecanismo dessa via, foi demonstrado que a inibição da via JNK ou Sab protege contra a hepatotoxicidade do paracetamol (GAHNEM *et al.*, 2016).

Com relação à necroptose, é uma forma descrita de morte celular mediada pelo necroptossoma, um complexo proteico. Esse complexo está envolvido na iniciação da necroptose e contém a proteína quinase-1 interativa com o receptor (RIPK1) e RIPK3 entre suas proteínas. A necroptose é inibida pelas necrostatinas (Nec), incluindo a Nec-1. Essas substâncias atuam como inibidores de necrose visando o RIPK1. Seu uso experimental forneceu evidências de que a necrose induzida por TNF é um processo regulado por quinase. Na ausência ou inibição da caspase-8 por manipulação genética ou inibidores da caspase (como z-VAD), é promovida a interação entre RIPK3 e seu substrato Mixed Lineage Kinase Like (MLKL), o que resulta em ruptura da membrana celular e morte celular. De fato, estudos mostraram que o inibidor de RIPK1, Nec-1, protege contra a hepatotoxicidade de paracetamol in vivo em camundongos e, também, in vitro. Isso sugere fortemente que a necroptose contribui para o mecanismo de toxicidade do paracetamol (GAHNEM *et al.*, 2016).

A superdosagem de paracetamol é a principal causa de Falência Hepática Aguda (FHA) em diversos países do mundo. A FHA definida como uma lesão aguda e grave, com encefalopatia, em pacientes sem doença hepática prévia, sendo de mau prognóstico. Durante sua progressão, o aparecimento da Encefalopatia Hepática (EH) é indicativo de piora da função hepática. A fisiopatologia da EH é multifatorial, sendo o excesso de concentração de amônia no sangue um dos fatores mais importantes em sua gênese (SBH; GAHNEM *et al.*, 2015; GAHNEM *et al.*, 2016).

A overdose concomitante de benzodiazepínicos ou analgésicos é frequente em pacientes admitidos com intoxicação por paracetamol. Como evidências de superdosagem concomitante há a benzodiazepina, que apresentou um fator de risco independente no desenvolvimento de EH e disfunção renal. Já os analgésicos opioides foram um fator de proteção no desenvolvimento de EH. O ácido

acetilsalicílico mostrou-se como um fator de risco no desenvolvimento de EH e morte ou transplante hepático. Os AINES tenderam para um resultado mais favorável. Assim, overdose concomitante de benzodiazepina ou ácido acetilsalicílico foi associada a uma toxicidade mais grave, enquanto a overdose concomitante de analgésicos opióides foi associada a uma menor toxicidade (SCHMIDT; DALHOFF, 2002).

É geralmente aceito que as alterações cerebrais produzidas pela intoxicação por paracetamol são secundárias ao desenvolvimento de FHA. No entanto, ele ultrapassa prontamente a barreira hematoencefálica e é distribuído homogeneamente por todo o SNC. O CYP2E1, uma das isoformas do CYPs envolvidas na bioativação do paracetamol pelo fígado, também é expresso no cérebro. Sendo assim, isso indica que ele pode ser metabolizado pelas células do cérebro para produzir o intermediário reativo tóxico NAPQI *in situ* (GHANEM *et al.*, 2016).

Há evidências, por exemplo, acerca de dois conhecidos genes-alvo do fator nuclear 2 relacionado ao eritroide 2 (Nrf2), quinoneoxidoreductase 1 (Nqo1) e heme-oxigenase 1 (Ho-1). O Nrf2 é o fator de transcrição que impulsiona a expressão gênica mediada por elemento de resposta antioxidante (ARE). Assim, em um suporte adicional a uma resposta Nrf2 no cérebro, após o tratamento com paracetamol, a expressão de Nqo1 e Ho-1 foi significativamente aumentada por ele. O mRNA do cérebro e a expressão proteica de Nqo1 aumentaram 24 horas após a administração de paracetamol, enquanto os níveis de mRNA de Ho-1 aumentaram após 6h (GHANEM *et al.*, 2015).

Evidências adicionais que apoiam os potenciais efeitos deletérios *in situ* do paracetamol no cérebro vêm de estudos que mostram que ele aumenta a atividade enzimática do CYP2E1 neuronal e os níveis de proteína, levando à morte celular neuronal através de mecanismos mediados pelas mitocôndrias que envolvem liberação do citocromo c e ativação da caspase 3 (GHANEM *et al.*, 2016).

Além disso, estudos indicam efeitos da exposição de fetos ao paracetamol. Existe a possibilidade de o feto ter seu desenvolvimento neuronal afetado, assim como um risco aumentado de paralisia cerebral espástica em crianças pré-natal expostas a doses dele. Porém, não se deve excluir a possibilidade de confusão com por doenças subjacentes (FAYS *et al.*, 2015; PETERSEN, 2018).

O reconhecimento e o tratamento precoces de pacientes com intoxicação por paracetamol são essenciais para minimizar a morbimortalidade. O curso clínico da

toxicidade aguda por paracetamol pode ser dividido em quatro estágios, descritos no quadro abaixo.

ESTÁGIO I
<ul style="list-style-type: none">• Ainda não ocorreu lesão hepática.• Pacientes com hepatotoxicidade grave podem ser assintomáticos.• Os achados clínicos, quando presentes, são inespecíficos e podem incluir náusea, vômito, mal-estar, palidez e diaforese.• Índices laboratoriais de função hepática são normais.
ESTÁGIO II
<ul style="list-style-type: none">• Representa o início da lesão hepática.• A aspartato aminotransferase (AST) é a medida mais sensível e amplamente disponível para detectar o início da hepatotoxicidade.• As alterações da AST sempre precedem evidências de disfunção hepática real (tempo prolongado de protrombina (TP), razão normalizada internacional (INR), aumento da concentração de bilirrubina, hipoglicemia e acidose metabólica).• o início da elevação do AST é mais comum dentro de 24 horas após a ingestão, mas é quase universal em 36 horas. Em pacientes mais graves, ocorre em até 12 horas.• Os sintomas e sinais durante o estágio II variam com a gravidade da lesão hepática.
ESTÁGIO III
<ul style="list-style-type: none">• Definido como o tempo de hepatotoxicidade máxima, ocorre mais comumente entre 72 e 96 horas após a ingestão.• A manifestação clínica do estágio III inclui insuficiência hepática fulminante com encefalopatia, coma ou hemorragia raramente exsanguinante.• Os resultados de estudos de laboratório são variáveis. Concentrações de AST e alanina aminotransferase (ALT) acima de 10.000 UI / L são comuns.

<ul style="list-style-type: none"> • Mais importante que o grau de elevação da concentração de aminotransferase, anormalidades no TP e INR, glicose, lactato, creatinina e pH são determinantes essenciais do prognóstico e tratamento.
ESTÁGIO IV
<ul style="list-style-type: none"> • As fatalidades por insuficiência hepática fulminante geralmente ocorrem entre 3 e 5 dias após uma overdose aguda. A morte resulta de complicações únicas ou combinadas ou de falência de vários órgãos, incluindo hemorragia, síndrome do desconforto respiratório agudo, sepse e edema cerebral. • Os pacientes que sobrevivem a esse período atingem o estágio IV, definido como a fase de recuperação. • A taxa de recuperação varia, na maioria dos casos, AST, pH, TP e INR e lactato são normais em 7 dias em sobreviventes de overdoses agudos.

Quadro 1: Curso clínico da toxicidade aguda por paracetamol.

Fonte: GOLDFRANK *et al.*, 2011.

Com relação ao manejo da overdose por paracetamol, a administração de carvão ativado (CA) logo após a ingestão pode diminuir o número de pacientes com paracetamol acima da linha de tratamento. O esvaziamento gástrico não é considerado para pacientes com overdose isolada de acetaminofeno, pois a absorção gástrica é muito rápida. Apesar de o ideal ser administrar o CA de 1-2h após a ingestão do paracetamol, não é contraindicada a administração em horas mais tardias. Se a administração de CA retardada ou repetida for indicada devido à suspeita de absorção retardada ou co-participantes, uma estratégia usando um protocolo de N-acetilcisteína (NAC) IV deve ser considerado. Como alternativa, pode-se administrar NAC via oral e CA com diferença de 1-2h entre eles, dando ao NAC a prioridade da primeira dose. Em casos incomuns, como resultado de co-participantes, o momento da apresentação e a indisponibilidade de NAC IV, NAC oral e CA podem ser administrados simultaneamente (GOLDFRANK *et al.*, 2011).

Além disso, realizam-se medidas de suporte, como controle de náusea e vômito, lesão hepática, disfunção renal e outras manifestações. O transplante de

fígado pode aumentar a sobrevivência de um grupo selecionado de pacientes graves com insuficiência hepática fulminante induzida por acetaminofeno (GOLDFRANK *et al.*, 2011).

3. METODOLOGIA

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo de desenho experimental.

3.2 AMBIENTE DA PESQUISA

A pesquisa será realizada no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais – ICB/UFPA.

3.3 ANIMAIS

Foram utilizados 45 ratos da linhagem *Wistar*, com 12 semanas de idade, do sexo masculino, pesando entre 200 a 230g, provenientes do Biotério da Universidade Federal do Pará e mantidos no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais, sob condições de livre acesso a água e alimentação, com temperatura ambiente de 23-25°C e ciclo claro-escuro de 12h.

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais: a) Grupo Controle (n=9) receberá solução fisiológica 0,9% via gavagem; b) Grupo acetaminofeno (n=9) receberá a dose de 1g/kg V.O. de acetaminofeno (dose tóxica aguda) (MCGILL *et al.* 2012).

Este grupo foi acompanhado com registro eletrocorticográfico (ECoG) e registro eletrocardiográfico (ECG) nos períodos de 24, 48, 72, 96 horas após administração do acetaminofeno. Cada registro teve duração de 5 minutos.

A pesquisa foi regida segundo os preceitos da legislação nacional para utilização e criação de animais para experimentação e os Princípios Éticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) com parecer aprovado pelo comitê de ética CEUA nº 1649221220 (ID 001621).

3.4 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

Para a realização do trabalho foram utilizadas as seguintes substâncias químicas: anestésico Cloridrato de Cetamina 50mg/kg, obtido do Laboratório Köing (Santana de Parnaíba, SP, Brasil); Cloridrato de Xilazina 5mg/kg, obtido do laboratório Vallée (Montes Claros, MG, Brasil), o anestésico local Lidocaína 2%, proveniente do laboratório Hipolabor (Sabará, MG, Brasil), para implantes de eletrodo; Acetaminofem 1g/kg (paracetamol gotas) Aché Laboratório Farmacêutico AS (Guarulhos São Paulo).

3.5 ELETROFISIOLOGIA

3.5.1 ELETROCORTICOGRAMA

Os implantes de eletrodos para aquisição do Eletrocorticograma (ECoG) foram realizados na coordenada Bregma -0,96 e ± 1 mm para lateral de cada hemisfério representado pelo córtex motor (Paxios 2005). No quinto dia após a cirurgia, os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de dados, composto por um amplificador de alta impedância (Grass Technologies, P511), monitorado por um osciloscópio (Protek, 6510), os dados foram continuamente digitalizados em uma taxa de 1 KHz por um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX), armazenados em disco rígido e processados através de um software especializado (LabVIEW express). O eletrodo de registro estará localizado no lado direito do hemisfério, e do lado esquerdo o eletrodo de referência. Todo o experimento foi executado dentro da gaiola de Faraday.

3.5.2 ANÁLISE DOS DADOS ELETROFISIOLÓGICOS

Para as análises dos sinais de uma ferramenta foi construída usando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para os gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida utilizando a biblioteca PyQt4. Os gráficos de amplitude demonstram a diferença de potencial entre os eletrodos de referência e de registro. Nos sinais foram observadas 1000 amostras por segundo. As análises dos registros foram feitas até 40 Hz, e as bandas foram analisadas de acordo com Jalilifar *et al.* (2017) e Hamoy *et al.* (2018), que corresponde: Delta (1-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alpha (8-12 Hz), Beta (12-28 Hz) e Gamma (28-40 Hz).

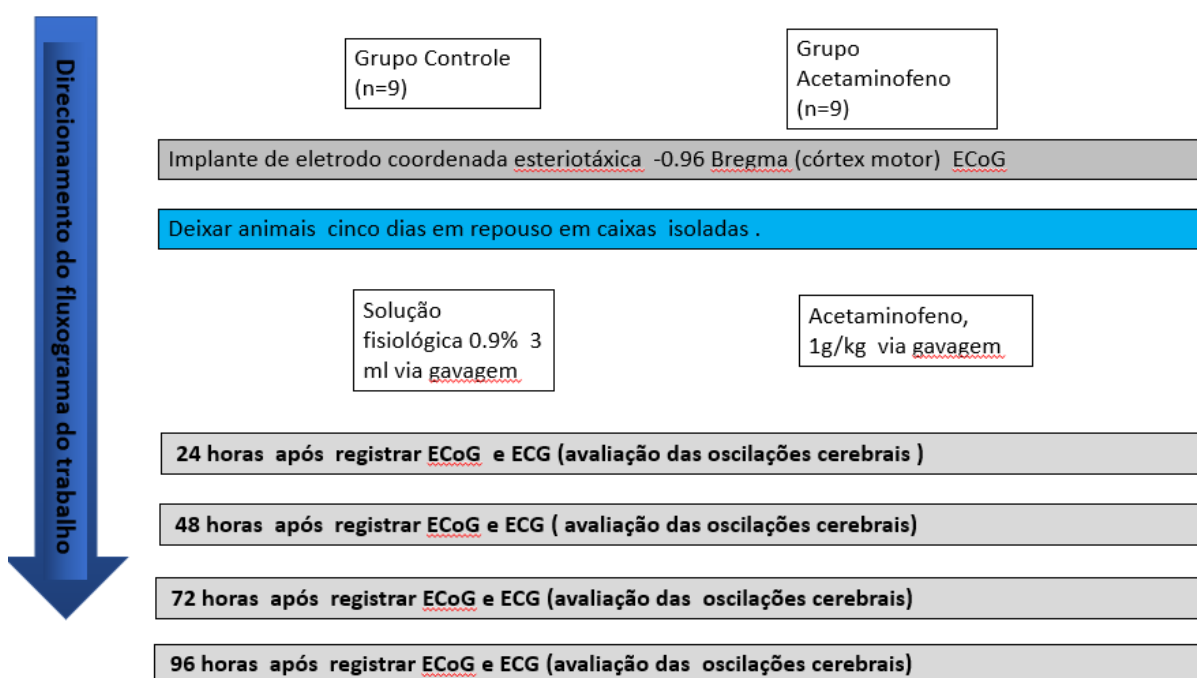
3.5.3 ELETROCARDIOGRAMA

A atividade eletrocardiográfica foi obtida na derivação D-II, para evitar movimentação excessiva foi aplicado 2,5 mg/kg i.p. de Diazepam, os eletrodos foram confeccionados de forma não conjugada, o eletrodo de referência foi posicionado em baixo da axila direita (0,5 cm) e o eletrodo de registro fixado no decimo espaço intercostal , (3,5 cm) abaixo da axila esquerda, obedecendo o vetor de registro. Cada registro teve duração de 5 minutos e os dados que foram analisados: Frequência cardíaca (bpm), Intervalo R-R (ms), intervalo P-Q (ms) duração de QRS (ms), Intervalo QT (ms).

3.6 FUNÇÃO HEPÁTICA

Após o experimento eletrocardiográfico foi coletado 1mL de sangue através de punção cardíaca, para análise da função hepática, o sangue armazenado em frasco contendo EDTA para a retirada do plasma, seguido de análise pelo Kit Labtest (ALT e AST) usando a espectrofotometria calibrado na absorbância de 340 nm.

3.7 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL



3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados por meio de comparação entre médias. Foi aplicado análise de variância ANOVA, seguida de teste de Tukey. Foi considerado um nível de significância $p < 0,05$. Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism ®5.

4. RESULTADOS

4.1 ALTERAÇÃO DO REGISTRO ELETROCORTICOGRÁFICO

No registro controle pode ser observado regularidade no traçado eletrocorticográfico, o que pode ser notado a partir da amplificação do registro e espectograma demonstrando maior intensidade de energia nas frequências abaixo de 10 Hz (Figura 3 A), a média de potência obtida no grupo foi de $0.1418 \pm 0.01239 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ (Figura 4 A).

Após o período de 24 horas da administração do acetaminofeno 1g/Kg VO, apresenta característica muito semelhante ao grupo controle, o traçado eletrocorticográfico mantendo a regularidade e espectograma com maior distribuição de energia abaixo de 10 Hz (Figura 3 B). A média de amplitude foi $0.1318 \pm 0.02316 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, não demonstrou diferença estatística para o grupo controle (Figura 4 A). Após a administração de acetaminofeno 48 horas, o traçado eletrocorticográfico se manteve regular, muito semelhante ao grupo controle, o espectograma com característica semelhante ao controle, e intensidade de energia abaixo de 10 Hz (Figura 3 C), a média de potência obtida após 48 horas da administração do acetaminofeno foi de $0.1169 \pm 0.002794 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ demonstrou diferença estatística para o grupo controle (Figura 4 A).

Para o grupo avaliado 72 horas após a administração de acetaminofeno pode ser observada irregularidade no traçado com variações de amplitude, característico com maior intensidade de força abaixo dos 10 Hz (Figura 3 D). A média de potência foi de $0.08829 \pm 0.01215 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ e demonstrou diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas (Figura 4 A).

O grupo registrado 96 horas após a administração do acetaminofeno apresentou irregularidades no traçado eletrocorticográfico, porém o espectograma com maior intensidade de potência nas frequências abaixo de 10 Hz (Figura 3 E). O registro apresentou média de potência de $0.06527 \pm 0.01887 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ e

demonstrou diferença estatística para os grupos controle, 24 horas, 48 horas (Figura 4 A).

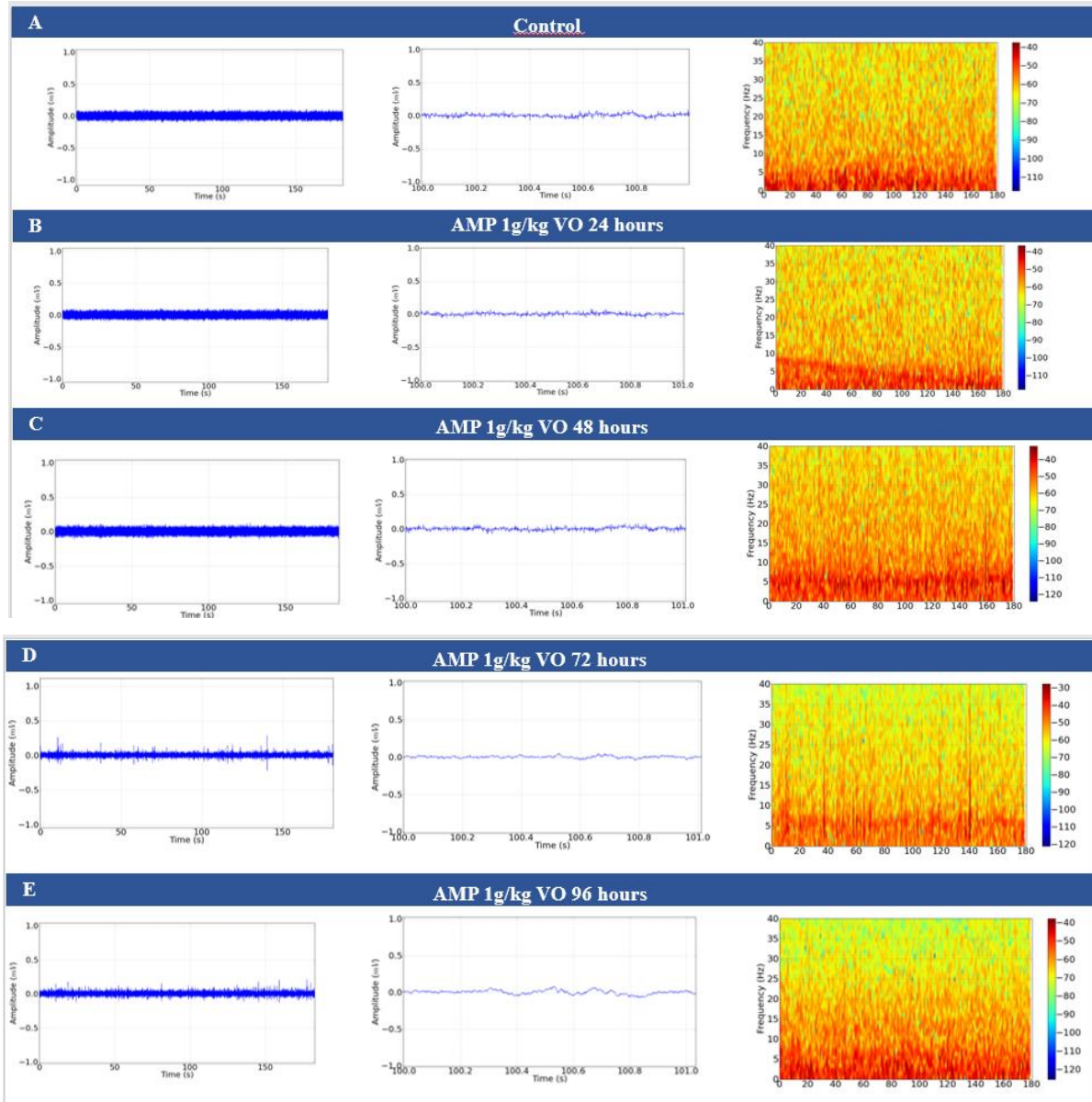


Figura 3 - Demonstrativo dos registros obtidos após administração de acetaminofeno na dose de 1g/kg VO, registros com duração de três minutos (esquerda), amplificação dos registros (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita). Registro com traçado electrocorticográfico (ECoG) controle (Figura 3 A); Registro ECoG obtido após 24 horas da administração de acetaminofeno (Figura 3 B); Traçado ECoG obtido 48 horas após administração de acetaminofeno (Figura 3 C); Registro ECoG obtido em 72 horas após administração do acetaminofeno (Figura 3 D); Registros obtidos 96 horas após administração do acetaminofeno (Figura 3 E).

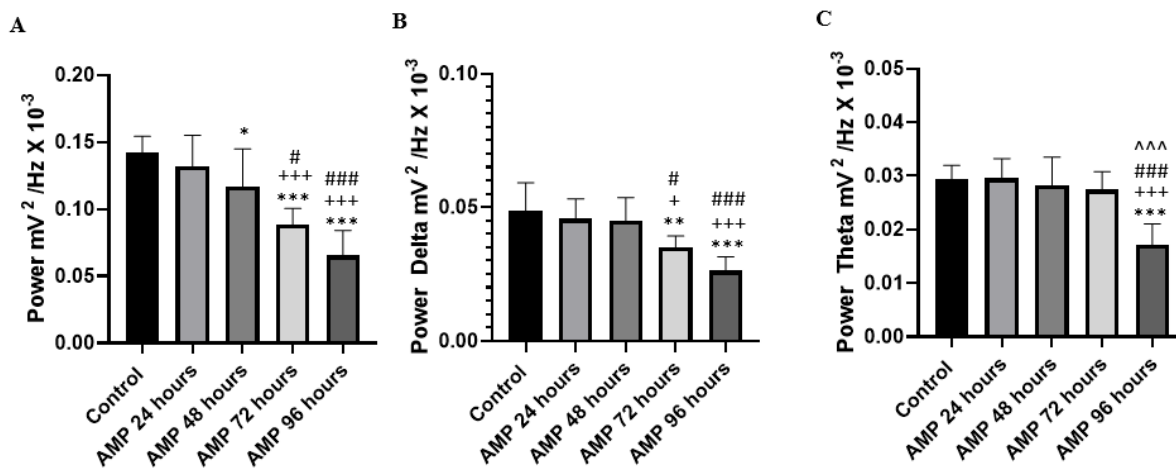


Figura 4 - Gráfico demonstrando a potências da atividade captado pelos eletrodos após a administração de acetaminifeno 1g/kg VO (Figura 4 A), Avaliação da potência da atividade nas oscilações em delta após administração de acetaminofeno (Figura 4 B); Análise das potências das oscilações em theta (Figura 4 C). (***) indica diferença estatística para o controle; (+++) indica diferença estatística para grupo AMP 24 horas; (###) indica diferença estatística para o grupo AMP 48 horas; (^^^) indica diferença estatística para o grupo AMP 72 horas. Após ANOVA e teste de Turkey, (*) P<0.05; (**) P<0.01; (***) P<0.001.

A média de oscilações cerebrais em delta para o grupo controle foi de $0.04863 \pm 0.01062 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ que não indicou diferença estatística para os grupos de 24 horas ($0.04573 \pm 0.007410 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e 48 horas ($0.04489 \pm 0.008746 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$). Para o grupo avaliado 72 horas após a administração de acetaminofeno a média foi $0.03494 \pm 0.008746 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ não apresentou diferença estatística para o grupo avaliado 96 horas após administração do acetaminofeno a média $0.02625 \pm 0.005277 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, porém estes grupos apresentaram diferença estatística para o controle, 24 horas e 48 horas $F(4-40)=13.38$; $P<0.0001$ (Figura 4 B).

A média das oscilações cerebrais em theta para o grupo controle foi de $0.02932 \pm 0.002654 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, não demonstrou diferença estatística para os grupo 24 horas ($0.02956 \pm 0.003664 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), 48 horas ($0,02820 \pm 0.005300 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e 72 horas ($0.02742 \pm 0.003375 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), porém todos os grupos mantiveram diferença estatística para o grupo de 96 horas ($0.01706 \pm 0.004002 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) $F(4-40)=16.29$; $P<0.0001$ (Figura 4 C).

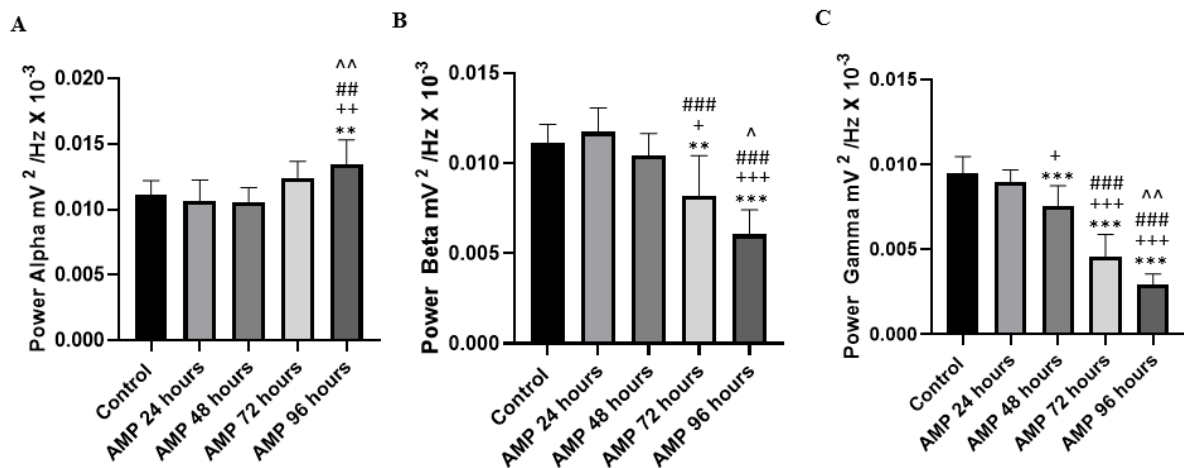


Figura 5 - Gráfico demonstrando a potências nas oscilações em alfa após a administração de acetaminofeno 1g/kg VO (Figura 5 A); Avaliação da potência da atividade nas oscilações em Beta após administração de acetaminofeno (Figura 5 B); Análise das potências das oscilações em Gamma (Figura 5 C). (***) indica diferença estatística para o controle; (+++) indica diferença estatística para grupo AMP 24 horas; (###) indica diferença estatística para o grupo AMP 48 horas; (^^^)^ indica diferença estatística para o grupo AMP 72 horas. Após ANOVA e teste de Turkey, (*) $P < 0.05$; (**) $P < 0.01$; (***) $P < 0.001$.

A média das oscilações cerebrais em alfa para o grupo controle foi de $0.01108 \pm 0.001132 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, não demonstrou diferença estatística para os grupo 24 horas ($0.01062 \pm 0.001621 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), 48 horas ($0.01059 \pm 0.001091 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e 72 horas ($0.01243 \pm 0.001235 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), porém todos os grupos mantiveram diferença estatística para o grupo de 96 horas ($0.01346 \pm 0.001853 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) $F(4-40) = 7.159$; $P = 0.0002$ (Figura 5 A).

Para as oscilações em beta o grupo controle ($0.01111 \pm 0.001048 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), grupo 24 horas ($0.01175 \pm 0.001319 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e grupo 48 horas ($0.01043 \pm 0.001222 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) não apresentaram diferença estatística. Para o grupo 72 horas com média de $0.008207 \pm 0.002229 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença estatística para os grupos controle, tratado 24 horas e tratado 48 horas. Para o grupo 96 horas a média para beta foi de $0.006058 \pm 0.001360 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, apresentou diferença estatística para os grupos controle, 24 horas, 48 horas e 72 horas. $F(4-40) = 22.21$; $P < 0.0001$ (Figura 5 B).

A média de oscilações cerebrais em Gamma para o grupo controle foi de $0.009525 \pm 0.0009545 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ que não indicou diferença estatística para os grupos de 24 horas ($0.008946 \pm 0.0007535 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), porém mantiveram

diferença estatística para o grupo 48 horas ($0.007572 \pm 0.001187 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$). Para o grupo avaliado 72 horas após a administração de acetaminofeno a média foi $0.004577 \pm 0.001308 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$ apresentou diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas. A média de oscilações gamma para o grupo de 96 horas após administração do acetaminofeno a média $0.002908 \pm 0.0006483 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, apresentou diferença estatística para o controle, 24 horas 48 horas e 72 horas. $F(4-40) = 73.22$; $P < 0.0001$ (Figura 5 C).

4.2 ALTERAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA

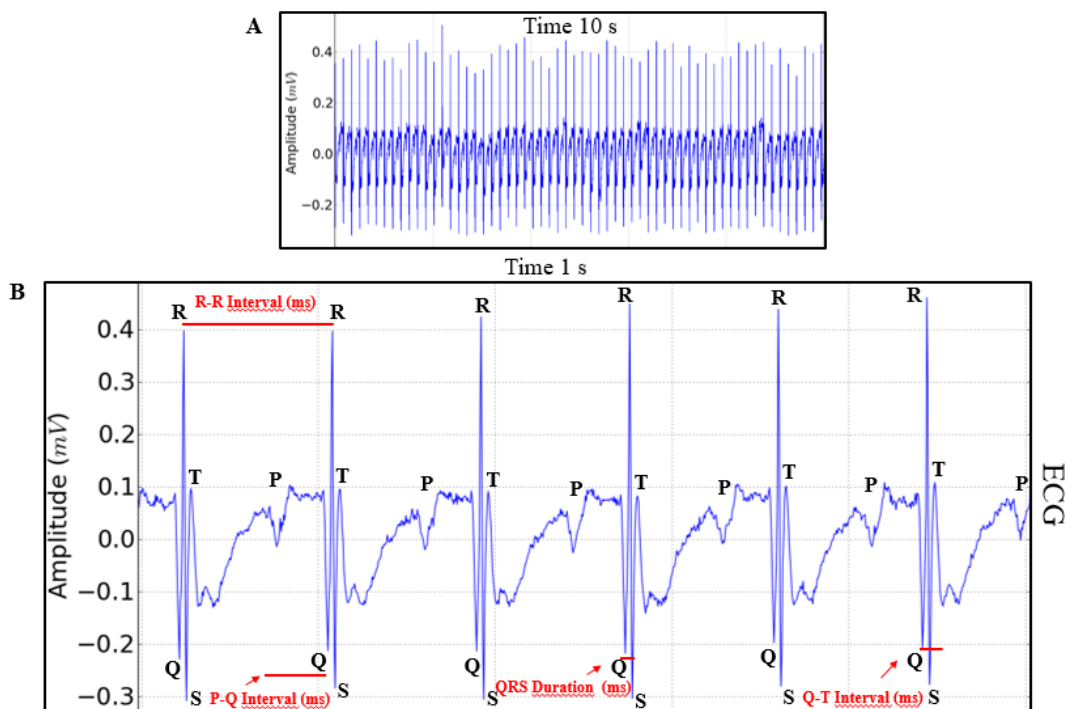


Figura 6 – Eletrocardiograma controle em derivação D-II no rato (Figura 6 A), Ampliação do registro em 1 segundo e nos traços em vermelho representa os intervalos a serem analisados: Intervalo R-R (ms), Intervalo P-Q (ms), Intervalo Q-T (ms), Duração do complexo QRS (ms) (Figura 6 B).

Atividade cardíaca do rato no grupo controle na derivação D-II demonstrando a amplitude do registro com duração de 10 segundos (Figura 6 A), após a amplificação em 1 segundo, pode ser observado o ritmo sinusal, apresentando todas as deflagrações cardíacas, com atividade atrial representado pela onda P, atividade ventricular representada pelo complexo QRS e repolarização ventricular onda T (Figura 6 B).

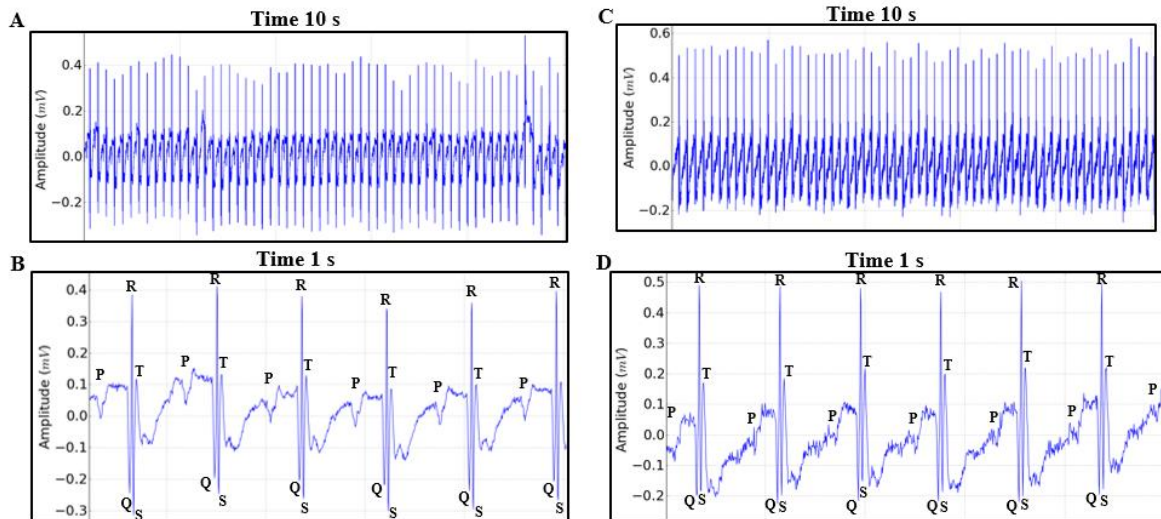


Figura 7 – Eletrocardiograma na derivação D-II no rato com duração de 10 segundos para o grupo 24 horas (Figura 7 A), Ampliação de 1 segundo demonstrando ritmo sinusal para o grupo 24 horas (Figura 7 B), Traçado eletrocardiográfico com duração de 10 segundos para o grupo 48 horas (Figura 7 C), ampliação do registro em 1 s demonstrando as deflagrações cardíacas para o grupo 48 horas (Figura 7 D).

Os grupos que receberam acetaminofeno 1 g/kg VO avaliados 24 e 48 horas (Figura 7 A, B, C e D), pode ser observado ritmo sinusal, com todas as deflagrações cardíacas com atividade cardíaca semelhante ao grupo controle.

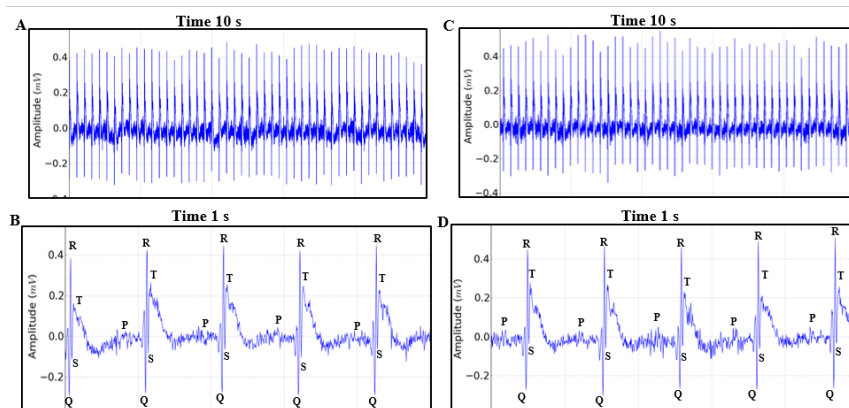


Figura 8 – Eletrocardiograma na derivação D-II no rato com duração de 10 segundos para o grupo 72 horas (Figura 8 A), ampliação de 1 segundo para o grupo 72 horas, demonstrando as características do traçado eletrocardiográfico (Figura 8 B), traçado eletrocardiográfico com duração de 10 segundos para o grupo 96 horas (Figura 8 C), ampliação do registro em 1s demonstrando as deflagrações cardíacas para o grupo 96 horas (Figura 8 D).

A partir das 72 horas de intoxicação foi mantido o ritmo sinusal (Figura 8 A e B), porém, pode ser observada diminuição na atividade cardíaca quando comparada ao controle (Figura 8 B). O grupo 96 horas apresentou diminuição da atividade cardíaca, com ritmo sinusal (Figura 8 C e D). Uma das alterações nos registros foi o formato da onda T que apresentou maior abertura e irregularidades (Figura 8).

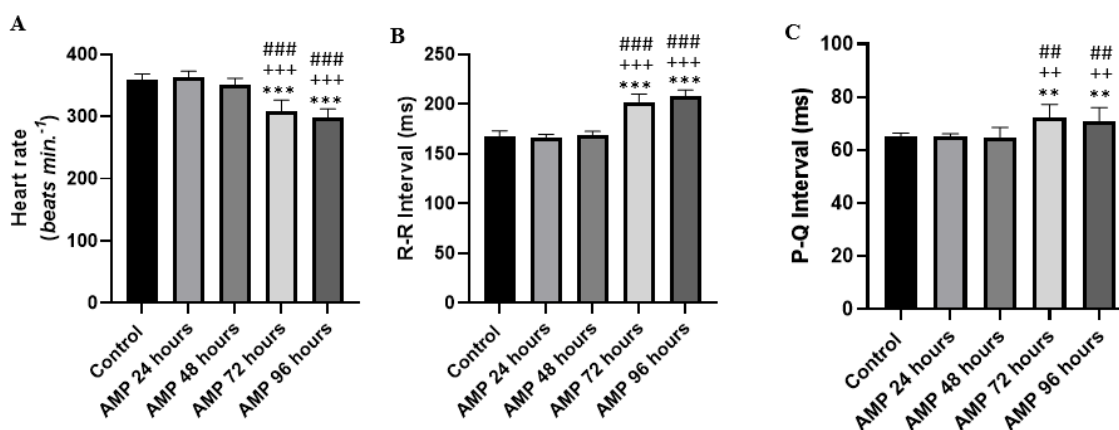


Figura 9 – Médias de frequência cardíaca (bpm) registradas nos grupos controle, 24 horas, 48 horas, 72 horas e 96 horas após a administração do acetaminifeno (Figura 9 A), Avaliação das médias de intervalos R-R (ms) dos eletrocardiogramas para os grupos (Figura 9 B), Avaliação das médias de intervalos P-Q (ms) para os grupos (Figura 9 C). (***) indica diferença estatística para o controle; (+++) indica diferença estatística para grupo AMP 24 horas; (###) indica diferença estatística para o grupo AMP 48 horas; (^^^) indica diferença estatística para o grupo AMP 72 horas. Após ANOVA e teste de Turkey, (*) P<0.05; (**) P<0.01; (***) P<0.001.

A atividade cardíaca dos grupos foi feita a partir da análise eletrocardiográfica onde a frequência cardíaca para o grupo controle teve média de 358.3 ± 10.31 bpm, não apresentou diferença estatística para os grupos 24 e 48 horas com médias respectivas de 363.1 ± 9.854 e 351.1 ± 10.54 bpm. A frequência cardíaca para o grupo 72 horas e 96 horas apresentaram média de $307.8 \pm 18,56$ e 298.7 ± 14.45 bpm, apresentaram diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas ($F(4, 40) = 48.92$ P<0.0001) (Figura 9 A).

As médias de intervalo R-R não apresentaram diferença estatística entre os grupos controle, 24 horas e 48 horas com médias respectivas de 167.8 ± 5.333 ms, $166,7 \pm 2.784$ ms e $168,3 \pm 4.213$ ms. Para os grupos 72 horas e 96 horas apresentaram médias de intervalo R-R de 202.2 ± 7.759 ms e 207.6 ± 6.640 ms,

apresentaram diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas ($F(4, 40)=120,8$; $P<0.0001$) (Figura 9 C).

A avaliação das médias do intervalo P-Q não demonstraram diferenças estatística entre os grupos controle, 24 horas e 48 horas, que apresentaram médias respectivas de 64.94 ± 1.4434 ms, 65.19 ± 0.9610 ms e 64.89 ± 3.621 ms. Para os grupos de 72 horas e 96 horas as médias foram de 72.21 ± 5.028 ms e 71.08 ± 4.959 ms, apresentaram diferença estatística para os grupo controle, 24 horas e 48 horas ($F(4, 40)=9.134$; $P<0.001$) (Figura 9 C).

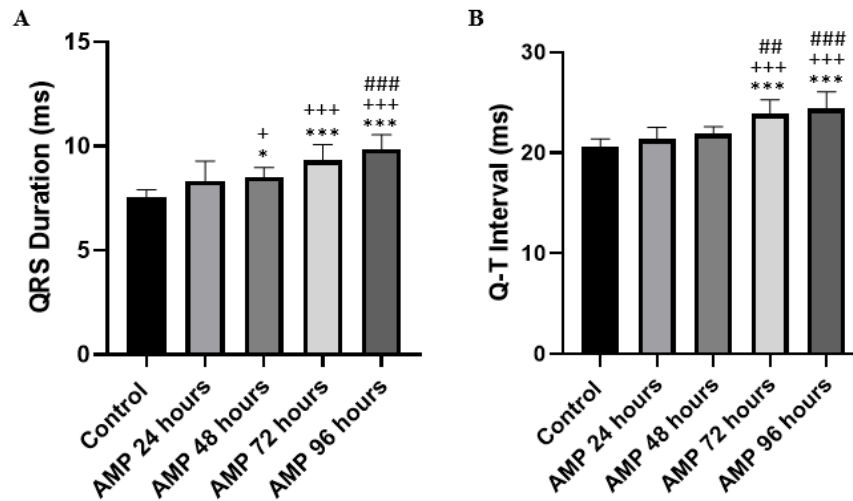


Figura 10 – Avaliação das médias de duração do complexo QRS (ms) para os grupos (Figura 10 A), Avaliação das médias de intervalos Q-T (ms) para os grupos (Figura 10 B). (***) Indica diferença estatística para o controle; (+++) Indica diferença estatística para grupo AMP 24 horas; (###) Indica diferença estatística para o grupo AMP 48 horas; (^^^) Indica diferença estatística para o grupo AMP 72 horas. Após ANOVA e teste de Turkey, (*) $P<0.05$; (**) $P<0.01$; (***) $P<0.001$; (n= 9).

Na análise da duração de QRS não foram observadas diferenças entre os grupos controle e 24 horas que apresentaram médias de 7.567 ± 0.3428 ms e 8.333 ± 0.9460 ms. Para o grupo de 48 horas a média foi de 8.522 ± 0.4466 ms, apresentou diferença estatística para o grupo controle. O grupo de 72 horas apresentou média 9.332 ± 0.7513 ms apresentou diferença estatística para os grupos controle e 24 horas. A média de duração de QRS para o grupo de 96 horas foi de 9.857 ± 0.6882 ms, apresentou diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas. ($F(4,40)=15.87$; $P<0.0001$) (Figura 10 A).

Para o intervalo Q-T os grupos controle, 24 horas e 48 horas apresentaram médias respectivas de 20.59 ± 0.8023 ms, 21.40 ± 1.145 ms e 21.91 ± 0.6990 ms não apresentaram diferença estatística. Para os grupos 72 horas e 96 horas as médias foram de 23.89 ± 1.411 ms e 24.41 ± 1.677 ms, apresentam diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas ($F(4,40) = 16.72$; $P < 0.0001$) (Figura 10 B).

4.3 ELEVAÇÃO DAS TRANSAMINASES (ALT E AST)

Para avaliação da função hepática após administração de acetaminofeno 1g/kg VO, foi feita a medida de atividade da ALT, para o grupo controle a média foi de 36.47 ± 7.881 U/L, não demonstrou diferença estatística para o grupo 24 horas com média de 39.80 ± 12.67 U/L. Para o grupo 48 horas a atividade da ALT teve média de 81.85 ± 15.87 U/L, apresentou diferença estatística para os grupos controle e 24 horas. Para o grupo 72 horas a média foi $76,84 \pm 12.23$ U/L, apresenta diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas. Para o grupo de 96 horas a média de atividade foi de 99.00 ± 12.77 U/L apresentou diferença estatística para os grupos controle, 24 horas, 48 horas e 72 horas. ($F(4,40)=43.07$; $P < 0.0001$) (Figura 11 A).

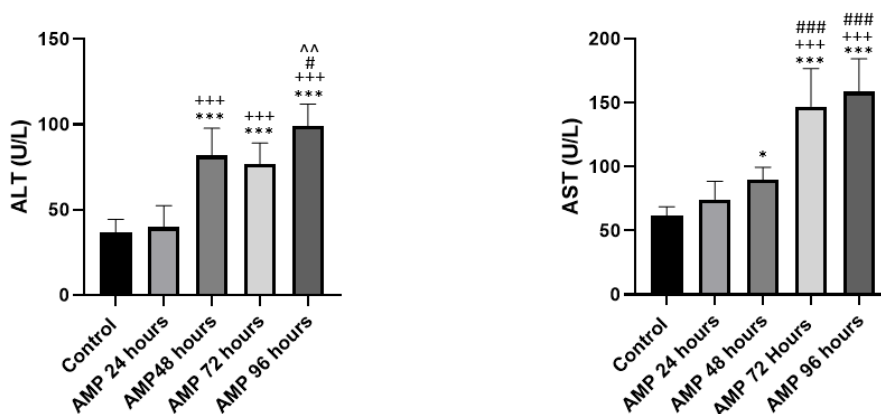


Figura 11 – Demonstra a média de atividade de ALT (U/L) nos grupos controle, 24 horas, 48 horas, 72 horas e 96 horas (Figura 11 A), Avaliação das médias de atividade de AST (U/L), para os grupos (Figura 11 B). (***) indica diferença estatística para o controle; (+++) indica diferença estatística para grupo AMP 24 horas; (###) indica diferença estatística para o grupo AMP 48 horas; (^^^) indica diferença estatística para o grupo AMP 72 horas. Após ANOVA e teste de Turkey, (*) $P < 0.05$; (**) $P < 0.01$; (***) $P < 0.001$; (n = 9).

Para avaliação da atividade da função hepática após administração do acetaminofeno foi avaliado a atividade da AST, para o grupo controle a média foi

61.60±7.159 U/L, não apresentou diferença estatística para o grupo 24 horas (74.48±14.13 U/L). Para o grupo 48 horas a média foi de 89.69±9,892 U/L demonstrou diferença estatística para o grupo controle. A atividade da AST para os grupos 72 horas e 96 horas tiveram médias respectivas de 147.1 ± 29.65 U/L e 158.6 ± 25.85 U/L e tiveram diferença estatística para os grupos controle, 24 horas e 48 horas (F(4, 40)= 45.57 P<0.0001) (Figura 11 B).

5. DISCUSSÃO

Observou-se redução progressiva da potência da eletrocorticografia de acordo com a progressão do tempo de observação após a administração do acetaminofeno 1g/Kg por via oral. No grupo tratado com acetaminofeno, a potência média foi cerca de 50% mais baixa na amplitude das oscilações cerebrais em relação ao controle.

Os resultados observados primeiramente nos registros eletrocorticográficos demonstraram variações significativas para onda *gamma* a partir das 48 horas de observação. Em 72 horas, as ondas *gamma*, *beta* e *delta* apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao grupo controle. Em todos os tipos de ondas (alpha, beta, delta, gamma e theta) houve diferença significativa às 96 horas após a aplicação.

É importante destacar que, dentre as variações encontradas, somente a onda alpha apresentou aumento de sua atividade, enquanto as demais apresentaram redução. A onda alpha é a onda dominante durante a vigília, sendo associada ao tempo da percepção visual, estado de consciência, inibição cognitiva sensorial e coordenação social (LEFEBVRE *et al.*, 2018).

Pacientes com dor crônica demonstraram elevação da amplitude de potência, especialmente de ondas de baixa frequência, como as ondas delta e theta, em áreas cerebrais como o córtex pré-frontal e o córtex somatossensorial primário. Em ratos, foi demonstrado que as dores de origem neuropática apresentam aumento de amplitude em região somatossensorial primária (LEBLANC *et al.*, 2016). Outra área cerebral implicada no processamento da dor é o ventral-posterolateral do tálamo (LEBLANC *et al.*, 2014).

Nossos achados são correspondentes aos efeitos analgésicos centrais promovidos pelo acetaminofeno. Acredita-se que estes efeitos estejam relacionados à interferência na via de dor descendente serotoninérgica, por meio do receptor 5-hidroxi-triptamina tipo 3 (5-HT₃), observado em modelos animais (ALLOUI *et al.*, 2002;

ANDERSON, 2008). Outra hipótese é a ação indireta sobre as vias serotoninérgicas pela diminuição da síntese de prostaglandinas (PG) por meio do receptor EP3 (GRAHAM; SCOTT, 2005). No entanto, as ações do acetaminofeno no sistema nervoso central ainda são pouco esclarecidas e precisam de mais estudos (GHANEM *et al.*, 2016).

A redução das ondas cerebrais beta, delta, gamma e theta (Figuras 4 e 5), encontrada neste estudo, sugerem que o acetaminofeno ou qualquer de seus metabólitos podem afetar direta ou indiretamente as vias envolvidas na geração desses ritmos, podendo inibir as funções associadas às oscilações cerebrais e corroborando o fato de que a droga age como um inibidor do SNC.

Quanto ao registro eletrocardiográfico, no grupo acetaminofeno, observou-se diminuição da atividade cardíaca e alterações nos intervalos R-R, P-Q e Q-T após 72 e 96 horas, além de aumento de duração do QRS a partir de 48 horas da administração de dose tóxica aguda, mantendo ritmo sinusal. No estudo, também foi identificadas alterações no formato da onda T, a qual apresentou maior irregularidades e abertura.

Apesar do nosso estudo ter encontrado alterações nos registros eletrocardiográficos e na atividade cardíaca, esse assunto ainda é muito divergente, pois além da escassez de pesquisas não foi encontrado consenso na literatura quanto aos possíveis danos cardíacos relacionados à intoxicação por acetaminofeno. Por exemplo, os estudos desenvolvidos por Kakarla *et al* (2010) e McCrae *et al* (2018), não identificaram mecanismos do paracetamol relacionado ao aumento do risco cardiovascular ou de possíveis alterações eletrocardiográficas.

Em nossos resultados, o aumento da atividade de ALT e AST observado foi estatisticamente significativo a partir de 48 horas da administração da dose tóxica de acetaminofeno quando comparado ao grupo controle, apresentando um maior aumento nos grupos de 72 horas e 96 horas (Figura 11).

As transaminases, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) são utilizadas como sensíveis marcadores de danos teciduais, principalmente danos hepatocelulares decorrentes de toxicidade por drogas ou doenças, observando-se o aumento da atividade dessas enzimas no sangue. A lesão hepática induzida por drogas, promove liberação de proteínas enzimáticas do tecido danificado na circulação sanguínea, diante disso, os níveis sanguíneos das

transaminases aumentam significativamente, podendo variar de 10 a 100 vezes acima do valor de normalidade (KOBAYASHI, SUZUKI, SUGAI, 2020).

No presente estudo, semelhante à literatura, os ratos submetidos a dose tóxica de acetaminofeno de 1g/kg de peso corporal exibiram aumento das atividades das transaminases AST e ALT, indicando que esta dosagem de acetaminofeno configurou danos hepáticos. O dano hepático prejudica a função de transporte dos hepatócitos, produzindo danos à membrana plasmática resultando em extravasamento e perda da integridade celular, além do aumento da atividade enzimática de AST e ALT (LLAVENIL S. *et al.*, 2016).

6. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou as alterações eletrofisiológicas no sistema nervoso central, cardíaco e hepático após a administração via oral de dose tóxica (1g/kg) de acetaminofeno. As alterações hepáticas aqui descritas corroboram com os danos hepáticos, já amplamente conhecidos, decorrentes da toxicidade do acetaminofeno, demonstrado pelo aumento dos níveis das transaminases AST e ALT. Com relação as alterações eletrocardiográficas, observou-se redução da atividade cardíaca e alteração nos segmentos eletrocardiográficos, mantendo o ritmo sinusal.

No sistema nervoso central, observou-se uma redução progressiva da amplitude de todas as ondas cerebrais na eletrocorticografia (beta, delta, gamma e theta), com exceção da onda alpha, que apresentou aumento de atividade. A redução da maioria das ondas cerebrais corrobora com a ideia de a droga atuar como inibidora do sistema nervoso central, correspondendo aos efeitos analgésicos centrais promovidos pela mesma.

Todas as variáveis analisadas apresentaram suas alterações mais significativas a partir de 72h da administração da dose tóxica do acetaminofeno. Porém, apesar dos nossos resultados apontarem para alterações semelhantes à literatura, no que diz respeito ao dano hepático resultar em dano cerebral, principalmente por meio da encefalopatia hepática, não é possível afastar a possibilidade da intoxicação por acetaminofeno causar um dano cerebral direto, considerando, ainda, que as principais alterações eletrofisiológicas e hepáticas ocorreram no mesmo intervalo de tempo de observação.

Os resultados das alterações eletrofisiológicas e das enzimas hepáticas aqui descritos são de importante contribuição com estudos futuros que visarão definir, com

mais detalhes, os efeitos tóxicos associados à superdosagem desse analgésico e antipirético de prescrição livre amplamente utilizado no mundo.

7. REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, D.A.; ALBUQUERQUE, V.L.M; VIEIRA, L.J.E.S. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**. 16 (1-2): 10-16 Jun 2003.
- ALLOUI, A. *et al.* **Paracetamol exerts a spinal, tropisetron-reversible, antinociceptive effect in an inflammatory pain model in rats**. *European Journal of Pharmacology*. Elsevier science B.V. Mar 2002.
- ANDERSON, B. J. **Paracetamol (Acetaminophen): Mechanisms of action**. *Paediatric Anaesthesia*. Blackwell Publishing Ltd. 2008.
- BLECHARZ-KLIN, K. *et al.* Hypothalamus – Response to early paracetamol exposure in male rats offspring. **International Journal Of Developmental Neuroscience**. [S. l.], v. 76, n. 1, p. 1-5. Elsevier. Mai 2019.
- BORGES, R. *et al.* Avanços químicos no planejamento e desenvolvimento de derivados do paracetamol. **Química Nova**. [S. l.], v. 41, n. 10, p.1167-1177. Set 2018.
- CHEN, Z. *et al.* **Anxiety- and activity-related effects of paracetamol on healthy and neuropathic rats**. *Pharmacology Research and Perspectives*. [S. l.], v. 6, n. 1, 2018.
- CHIEW, A. L. *et al.* **Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose**. *Cochrane Database Of Systematic Reviews*, [s.l.], p.1-74, Fev. 2018.
- CLISSOLD, S. P. **Paracetamol and Phenacetin**. *Springer Science and Business Media LLC - Drugs*, [s.l.], v. 32, n. 4, p. 46-59, Nov. 1986.
- FAYS, L. *et al.* **Use of paracetamol during pregnancy and child neurological development**. *Developmental Medicine & Child Neurology*, [s.l.], v. 57, n. 8, p. 718-724, Abr. 2015.
- GHANEM, C. I. *et al.* Acetaminophen from liver to brain: new insights into drug pharmacological action and toxicity. **Pharmacological Research**, [s.l.], v. 109, p. 119-131, Jul. 2016.
- GHANEM, C. I. *et al.* **Role of nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in the transcriptional regulation of brain ABC transporters during acute acetaminophen (APAP) intoxication in mice**. *Biochemical Pharmacology*, [s.l.], v. 94, n. 3, p. 203-211, Abril 2015.
- GIACOMINI, Ana C. V. V. *et al.* **Putative anxiolytic-like behavioral effects of acute paracetamol in adult zebrafish**. *Behavioural Brain Research*, [S. l.], v. 409, Abril.

- GOLDFRANK, L.R. *et al.* **Toxicologic Emergencies**. 9ª edição. New York: McGraw-Hill, 2011.
- GOODMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2006.
- GOSSELIN *et al.* **Toxic Myocarditis Caused by Acetaminophen in a Multidrug Overdose**. The American Journal of Forensic Medicine and Pathology. 2017.
- GRAHAM, G. G. *et al.* **The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings**. Springer Science and Business Media LLC, v. 21, n. 3, p.201-232, Mai, 2013.
- GRAHAM, G.; SCOTT, K. **Mechanism of action of paracetamol**. American journal of therapeutics, [S. l.], v. 12, p. 46–55, 2005.
- IVEY, K. J. **Gastrointestinal effects of antipyretic analgesics**. The American Journal Of Medicine, [s.l.], v. 75, n. 5, p. 53-64, Nov. 1983.
- JALILIFAR M. *et al.* **Quantitative Analysis of the Antiepileptogenic Effects of Low Frequency Stimulation Applied Prior or After Kindling Stimulation in Rats**. Frontiers of Physiology. v. 9, 2018.
- JÓZWIAK-BEBENISTA, M.; NOWAK, J. Z. **Paracetamol: mechanism of action, applications and safety concern**. Acta poloniae pharmaceutica. v. 71, n. 1, p. 11 - 23. Fev. 2014
- KAKARLA, S. K. *et al.* **Chronic acetaminophen attenuates age-associated increases in cardiac ROS and apoptosis in the Fischer Brown Norway rat**. Basic Research in Cardiology, [S. l.], v. 105, n. 4, p. 535–544, 2010.
- KOBAYASHI, A.; SUZUKI, Y.; SUGAI, S. **Specificity of transaminase activities in the prediction of drug-induced hepatotoxicity**. The Journal Of Toxicological Sciences. Japanese Society of Toxicology. [S.L.], v. 45, n. 9, p. 515-537. 2020.
- KOMINEK, K. *et al.* **Intentional and accidental paracetamol poisoning in childhood - a retrospective analysis**. Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online). v. 69, n.6, p. 452-456, Abril 2015.
- LEBLANC, B. W. *et al.* **Electroencephalographic signatures of pain and analgesia in rats**. Pain, [S. l.], v. 157, n. 10, p. 2330–2340, 2016.
- LEBLANC, B. W. *et al.* **Cortical theta is increased while thalamocortical coherence is decreased in rat models of acute and chronic pain**. Pain, [S. l.], v. 155, n. 4, p. 773–782, 2014.

- LEFEBVRE, A. *et al.* **Alpha Waves as a Neuromarker of Autism Spectrum Disorder.** *Frontiers in Neuroscience.* v. 12, p. 1-13, 1 out. 2018.
- LLAVENIL S, *et al.* **Acetaminophen Induced Hepatotoxicity in Wistar Rats—A Proteomic Approach.** 21(2):161. *Molecules.* 2016.
- LUCAS, R. *et al.* **Cellular mechanisms of acetaminophen: role of cyclooxygenase.** *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology.* v. 19, n.6, p. 635-637, Abril 2005.
- MCCRAGE, J. C. *et al.* **Long-term adverse effects of paracetamol – a review.** *British Journal of Clinical Pharmacology, [S. l.],* v. 84, n. 10, p. 2218–2230, 2018.
- MCGILL, M. R. *et al.* **Acetaminophen-induced liver injury in rats and mice: comparison of protein adducts, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the mechanism of toxicity.** *Toxicology And Applied Pharmacology, [S.L.],* v. 264, n. 3, p. 387-394, nov. 2012.
- MORRIS, M. E.; LEVYX, G. **Renal Clearance and Serum Protein Binding of Acetaminophen and Its Major Conjugates in Humans.** *Journal Of Pharmaceutical Sciences, [s.l.], Elsevier BV,* v. 73, n. 8, p. 1038-1041, Ago. 1984.
- MUND, M. E. *et al.* **Paracetamol as a toxic substance for children: aspects of legislation in selected countries.** *Journal Of Occupational Medicine And Toxicology, [s.l.],* v. 10, n. 1, p. 1-7, Dez. 2015.
- PETERSEN, T. G. *et al.* **Use of paracetamol, ibuprofen or aspirin in pregnancy and risk of cerebral palsy in the child.** *International Journal Of Epidemiology, [s.l.],* v. 47, n. 1, p. 121-130, Nov. 2017.
- PRESCOTT, L. **Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin.** *British Journal Of Clinical Pharmacology, [s.l.],* v. 10, n. 2, p. 291-298, Abr. 1980.
- SANEI, S.; CHAMBERS, J. A. **EEG Signal Processing.** The Atrium, Southern Gate, Chichester, England.: John Wiley&Sons Inc, 2007.
- SBH (Sociedade Brasileira de Hepatologia). **Falência hepática aguda.** Disponível em: <http://www.sbhepatologia.org.br/pdf/FASC_HEPATO_27_FINAL.pdf> Acesso em: 29 abr 2020.
- SCHMIDT, L. E.; DALHOFF, K. **Concomitant overdosing of other drugs in patients with paracetamol poisoning.** *British Journal Of Clinical Pharmacology, [s.l.],* v. 53, n. 5, p. 535-541, Maio 2002.

- SEBBEN, V. C. *et al.* **Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica de paracetamol.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, [s.l.], v. 46, n. 2, p. 143-148, Abr. 2010.
- SETTIPANE, G. A. **Adverse Reactions to Aspirin and Related Drugs.** Archives Of Internal Medicine, [s.l.], v. 141, n. 3, p. 328-332, Fev. 1981.
- SILVA, P. **Farmacologia.** 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- TAS, N. *et al.* **Acute acetaminophene-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity; therapeutic effect of dexmedetomidine.** Bratislavske lekarske listy. v. 120, n.4, p. 270-276. Abr. 2019.
- WEBSTER, J. G. **Medical Instrumentation Application and Design.** 4ª ed., [s.l.]: John Wiley&Sons Inc, 2010.
- YESIL, Y.; ABDURRAHMAN A. O. **Evaluation of the children with acute acetaminophen overdose and intravenous N-acetylcysteine treatment.** Pakistan journal of medical sciences. v. 34, n. 3, p. 590-594, Maio 2018.