

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

LUZIENE DALMASCHIO BIASUTTI DE OLIVEIRA

**Efeitos do Sulfato de Magnésio Intracerebroventricular nas
Crises Convulsivas Induzidas pelo Pentilenotetrazol em
Ratos**

**Vitória
Abril de 2006**

LUZIENE DALMASCHIO BIASUTTI DE OLIVEIRA

**Efeitos do Sulfato de Magnésio Intracerebroventricular nas
Crises Convulsivas Induzidas pelo Pentilenotetrazol em
Ratos**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ester Miyuki Nakamura Palacios

Co-Orientador: Prof. Dr. Henrique A. Futuro Neto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ester Miyuki Nakamura Palacios.

Vitória

Abril de 2006

Efeitos do Sulfato de Magnésio Intracerebroventricular nas Crises Convulsivas Induzidas pelo Pentilenotetrazol em Ratos

LUZIENE DALMASCHIO BIASUTTI DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Prof^a. Dr^a. Niura Aparecida de Moura Ribeiro Padula, UNESP-SP

Prof. Dr. Henrique Futuro de Azevedo Neto – Co-orientador, UFES-ES

Prof. Dr. Nyam Florencio da Silva, UFES-ES

Prof^a. Dr^a. Ester Miyuki Nakamura Palacios – Orientadora, UFES-ES

Prof. Dr. José Geraldo Mill
Coordenador do PPGCF – UFES

Abril de 2006

Agradecimentos:

A Deus que não só me deu o dom da vida, mas a cima de tudo vem me abençoando e privilegiando com uma existência repleta de graças e vitórias.

A minha mãe que sempre foi exemplo de amor e dedicação, não só no lar, mas também no ambiente de trabalho. Ensinou-me acima de tudo a ser forte.

A meu pai, de quem muito me orgulho, deu exemplo de que nenhum problema é tão grande que não possa ser superado.

Às minhas irmãs, Luana e Letícia, por simplesmente existirem.

Aos meus “Roneys”: meu esposo por seu estímulo, amor, dedicação e paciência, e por ser sem dúvida a pessoa que mais acredita e investe em meu potencial; e ao meu filho que com seu amor incondicional e sua alegria faz tudo na vida ter sentido. Meus verdadeiros tesouros.

A Professora Ester que viabilizou este sonho, através de sua orientação, atenção, esmero e paciência. Exemplo de ética, determinação e brilhantismo.

Ao Professor Henrique sem o qual este trabalho seria no mínimo incompleto.

A Dra Niura que me ensinou tudo o que sei em epilepsia e eletroencefalografia. Sempre incentivadora do pensamento crítico.

A Dra Márcia, minha querida mestra, por ser quem é e por estar sempre presente em minha jornada.

A Paula e Felipe meus fiéis escudeiros.

Mário e Josidéia sem os quais o trabalho seria mais árduo.

A Josué, técnico do laboratório, que me socorreu por diversas vezes na arte de bem cuidar dos animais e do material de laboratório.

Lista de Abreviaturas

- ANOVA:** Análise de variância
- ATP:** Trifosfato de adenosina
- BDNF:** “Brain-Derived Neurotrophic Factor”
- Cl⁻:** íon Cloro
- CTCG:** Crise tônico-clônica generalizada
- DAEs:** Drogas Antiepilépticas
- DZP:** Diazepam
- EAATs:** Transportadores gliais de aminoácidos excitatórios
- EEG:** Eletroencefalograma ou Registro eletroencefalográfico
- ELT:** Epilepsia do Lobo Temporal
- Icv:** intracerebroventricular
- ILAE:** “International League Against Epilepsy”
- Ip:** intraperitoneal
- Magnie Trail:** “Magnesium Sulfate for Prevention of Eclampsia”
- Mg⁺⁺:** íon Magnésio
- MgSO₄:** Sulfato de Magnésio
- µg:** micrograma
- µm:** Micromêtro
- NMDA:** N-metil-D-Aspartado
- NO:** óxido nítrico
- OMS:** Organização Mundial de Saúde
- PKC:** proteína quinase C
- PT1:** Eletrodo parieto-temporal esquerdo
- PT2:** Eletrodo parieto-temporal direito
- PTZ:** Pentilenotetrazol
- SAL:** Solução fisiológica a 0,9%

Índice de Figuras

Figura 1	Osciloscópio, amplificador e filtros	30
Figura 2	Computador e programa de digitalização de sinais eletrofisiológicos (Biopac, ACK 3,5)	31
Figura 3	Cânula para administração icv e o pino de proteção interna	32
Figura 4	Eletrodo de 3 polos para registro eletroencefalográfico	33
Figura 5	Cabo de conexão	33
Figura 6	Animal posicionado no estereotáxico com exposição do bregma	35
Figura 7	Cirurgia estereotáxica	36
Figura 8	Representação esquemática do protocolo experimental	38
Figura 9	Amostra inicial do registro eletroencefalográfico bipolar	41
Figura 10	Registro eletroencefalográfico bipolar, após MgSO ₄	42
Figura 11	Registro eletroencefalográfico de crise parcial complexa	43
Figura 12	Registro eletroencefalográfico de crise mioclônica	43
Figura 13	Registro eletroencefalográfico de crise tônica	44
Figura 14	Registro eletroencefalográfico de crise clônica	44
Figura 15	Registro eletroencefalográfico de CTCG	45
Figura 16	Registro eletroencefalográfico de crise parcial com Generalização secundária	46
Figura 17	Latência de crises epiléticas	51
Figura 18	Período de crises	52
Figura 19	Latência de crises epiléticas mioclônica	53
Figura 20	Frequência de crises epiléticas mioclônica	54
Figura 21	Latência de crises epiléticas tônico-clônica generalizada	55
Figura 22	Frequência de crises epiléticas tônico-clônica generalizada	56
Figura 23	Latência de crises epiléticas tônica generalizada	57
Figura 24	Frequência de crises epiléticas tônica generalizada	58
Figura 25	Latência de crises epiléticas clônica generalizada	59
Figura 26	Frequência de crises epiléticas clônica generalizada	60
Figura 27	Latência de crises epiléticas focais com generalização secundária	61
Figura 28	Frequência de crises focais com generalização secundária	62
Figura 29	Latência de crises epiléticas do tipo parcial complexa	63
Figura 30	Frequência de crises epiléticas do tipo parcial complexa	64
Figura 31	Fotografia de cortes histológicos ilustrando as vias de entrada da cânula intracerebroventricular (icv) e os ventrículos laterais	66

Índice de Tabelas

Tabela1	Drogas de primeira e segunda linha de escolha no tratamento das epilepsias	22
Tabela 2	Caracterização das crises induzidas pela administração ip do PTZ de acordo com o padrão de EEG correspondente.	47

SUMÁRIO

1. RESUMO	11
2. ABSTRACT	12
3. INTRODUÇÃO	13
3.1. Crises Epilépticas	13
3.2. Epileptogênese	15
3.3. Modelos Experimentais de Epilepsia	19
3.4. Drogas Antiepilépticas	21
3.5 O Magnésio e o Receptor NMDA	24
4. OBJETIVOS	28
4.1. Objetivo Geral	28
4.2. Objetivos Específicos	28
5. MATERIAIS E MÉTODOS	29
5.1. Animais	29
5.2. Drogas	29
5.3. Equipamentos utilizados para o registro eletroencefalográfico	30
5.4. Cânulas intracerebroventriculares	31
5.5. Eletrodos e cabo de conexão	32
5.6. Procedimentos	34
5.6.1 Cirurgia Estereotáxica	34
5.6.2 Administração de drogas	36
5.6.3 Registro Eletroencefalográfico (EEG)	37
5.6.4 Protocolo Experimental	37
5.6.5 Localização da cânula icv	39
5.6.6 Análise de Resultados	40
6. RESULTADOS	41
6.1. Caracterização das crises convulsivas induzidas pelo PTZ ip: registro EEG e observação comportamental	41
6.2. Avaliação comportamental e eletroencefalográfica após administração de drogas	48
6.3. Efeito do MgSO ₄ icv na latência de crises convulsivas induzidas pelo PTZ ip em geral	50
6.4. Efeito do MgSO ₄ icv sobre o período de crises convulsivas induzidas pelo PTZ ip	51

6.5. Avaliação dos efeitos do MgSO ₄ na ocorrência de crises generalizadas do tipo mioclônica induzidas pelo PTZ ip	53
6.5.1. Efeitos do MgSO ₄ na latência para primeira crise generalizada do tipo mioclônica induzidas pelo PTZ ip	53
6.5.2. Efeitos do MgSO ₄ na freqüência de crises generalizadas do tipo mioclônica induzidas pelo PTZ ip	54
6.6. Avaliação dos efeitos do MgSO ₄ na ocorrência de crises generalizadas do tipo tônico-clônica (CTCG) induzidas pelo PTZ ip	55
6.6.1. Efeitos do MgSO ₄ na latência para primeira CTCG induzida pelo PTZ ip	55
6.6.2. Efeitos do MgSO ₄ na freqüência de CTCG induzidas pelo PTZ ip	56
6.7. Avaliação dos efeitos do MgSO ₄ na ocorrência de crises generalizadas do tipo tônica induzidas pelo PTZ ip	57
6.7.1. Efeitos do MgSO ₄ na latência para primeira crise generalizada do tipo tônica induzida pelo PTZ ip	57
6.7.2. Efeitos do MgSO ₄ na freqüência de crises generalizadas do tipo tônica induzidas pelo PTZ ip	58
6.8. Avaliação dos efeitos do MgSO ₄ na ocorrência de crises generalizadas do tipo clônica induzidas pelo PTZ ip	59
6.8.1. Efeitos do MgSO ₄ na latência para primeira crise generalizada do tipo clônica induzida pelo PTZ ip	59
6.8.2. Efeitos do MgSO ₄ na freqüência de crises generalizadas do tipo clônica induzidas pelo PTZ ip	60
6.9. Avaliação dos efeitos do MgSO ₄ na ocorrência de crises focais com generalização secundária induzidas pelo PTZ ip	61
6.9.1. Efeitos do MgSO ₄ na latência para primeira crise focal com generalização secundária induzida pelo PTZ ip	61
6.9.2. Efeitos do MgSO ₄ na freqüência de crises focais com generalização secundária induzidas pelo PTZ ip	62
6.10. Avaliação dos efeitos do MgSO ₄ na ocorrência de crises parciais complexas induzidas pelo PTZ ip	63
6.10.1. Efeitos do MgSO ₄ na latência para primeira crise parcial c complexa induzida pelo PTZ ip	63
6.10.2. Efeitos do MgSO ₄ na freqüência de crises parciais complexas induzidas pelo PTZ ip	64

6.11. Confirmação histológica do adequado posicionamento das cânulas intracerebroventriculares	65
7. DISCUSSÃO	67
7.1. O Modelo de Epilepsia Experimental	67
7.2. Análise comportamental associada ao registro eletroencefalográfico	68
7.3. Efeitos Experimentais do Sulfato de Magnésio $MgSO_4$	71
7.4. Efeito paradoxal do sulfato de magnésio ($MgSO_4$)	71
7.5. Farmacocinética do sulfato de magnésio ($MgSO_4$)	74
7.6. Usos clínicos do magnésio	75
8. CONCLUSÕES	80
9. REFERÊNCIAS	82
10. ANEXO	94

1. RESUMO

A imensa maioria das drogas antiepilépticas atuais exerce sua ação mediante a influência nos receptores gabaérgicos ou na função dos canais iônicos. Poucos são os agentes que atuam modulando o sistema glutamatérgico. O sulfato de magnésio ($MgSO_4$) é utilizado a muitos anos na prevenção de crises epiléticas na eclampsia, doença específica da gestação que cursa com hipertensão arterial, proteinúria e crises epiléticas e/ou coma. Postula-se uma ação antiepilética do $MgSO_4$ através de um antagonismo não-competitivo do receptor NMDA do glutamato. Neste estudo buscamos verificar os efeitos centrais do $MgSO_4$ em crises induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) administrado intraperitonealmente em ratos. Foram comparados os efeitos da administração intracerebroventricular (icv) entre 3 doses de $MgSO_4$ (32, 100 e 320 μg) e os de solução salina, no padrão dos diversos tipos de crises convulsivas quimicamente induzidas por PTZ, por meio de observação comportamental aliada ao registro eletroencefalográfico simultâneo de todos os animais do estudo. A combinação destes procedimentos possibilitou a caracterização de diferentes tipos de crises induzidas pelo PTZ: crises generalizadas dos tipos mioclônicas, tônicas, clônicas e tônico-clônicas, e ainda, crises parciais complexas e crises parciais com generalização secundária. A dose intermediária de $MgSO_4$ (100 μg) mostrou-se eficaz no aumento da latência para o início de crises em geral, bem como na redução do período em que os animais apresentaram crises durante o experimento, sendo esses resultados significativamente diferentes do controle salina. Essa dose também aumentou a latência para a primeira crise generalizada do tipo mioclônica e reduziu a frequência deste tipo de crise, mas não de modo estatisticamente significante. A menor dose do $MgSO_4$ (32 μg) aumentou de forma significativa a latência para a primeira crise parcial complexa comparada à salina. Já a maior dose (320 μg) do $MgSO_4$ mostrou-se inócua ou mesmo prejudicial para a maioria dos parâmetros observados neste estudo para as crises convulsivas induzidas pelo PTZ. Esses resultados sugerem que o sulfato de magnésio, dependendo de sua dose, pode ser um agente adjuvante em potencial no tratamento profilático de crises epiléticas em geral, não somente na eclampsia.

2. ABSTRACT

Almost all of antiepileptic drugs currently in use act through an influence in gabaergic neurotransmission or by means of ion channels mechanisms. There are, however, only few agents acting at glutamatergic neurotransmission. The magnesium sulfate (MgSO_4) has been used for many years in the prevention of seizures in eclampsia, a specific disease of pregnancy manifested by hypertension, proteinuria and seizures or even coma. This compound probably acts through a non-competitive antagonism of Mg^{2+} at NMDA (N-Methyl-D-aspartate) receptors. The present study examined the effects of MgSO_4 administered intracerebroventricularly (icv) at different doses (32, 100 and 320 μg) on different types of seizures induced by pentylenetetrazole (PTZ) administered intraperitoneally in rats. Behavioral responses after PTZ administration were observed and registered by two experimenters. A simultaneous brain electrical activity was measured through an adapted electroencephalographic apparatus connected to electrodes implanted bilaterally in posterior parietal-temporal region. This combined procedures allowed the characterization of different types of seizures induced by PTZ in rats such as myoclonic, tonic, clonic and tonic-clonic generalized seizures and also partial complex seizures with or without following generalization. MgSO_4 icv at a dose of 100 μg increased the latency for the first seizure of any kind and also reduced the total period in which animals presented seizures during the experiment as compared to control treatment (saline followed by PTZ). This dose of MgSO_4 also increased the latency for the first myoclonic jerk and reduced the frequency of this type of seizure, but at nonstatistical manner. The smallest dose of MgSO_4 (32 μg) increased significantly the latency for the first partial complex seizure as compared to control treatment. However, the major dose (320 μg) of MgSO_4 showed no effect or it was even harmful for the most parameters observed in this study for PTZ-induced seizures. These results suggested that the magnesium sulfate can be of a clinical importance as an adjuvant agent in the treatment and prevention of epilepsy depending on its dose.

3. INTRODUÇÃO

3.1 Crises Epilépticas

A denominação crise epiléptica é dada à manifestação clínica de atividade neuronal cerebral epileptiforme (excessiva e/ou hipersincrônica), usualmente auto-limitada (Blume-Chair et al, 2001).

A atividade elétrica anormal durante a crise epiléptica, e por vezes no período interictal, pode ser detectada no homem pelo registro eletroencefalográfico (EEG) através de eletrodos distribuídos na superfície do couro cabeludo. A eletroencefalografia vem, então, revolucionando todo o campo da epileptologia (Niedermeyer, 1999). Existem padrões eletroencefalográficos típicos que podem ser correlacionados com vários estágios de sono e vigília, e com alguns processos fisiopatológicos como os que ocorrem nas crises epilépticas (Kandel et al, 2000).

Em ratos, apesar de diversos estudos (Krauss et al, 1989; Link et al, 1991; Hallak et al, 1993; Cotton et al, 1993; Mason et al, 1994; Standley et al, 1998; Snead e Cortez, 1998) referirem o uso do registro eletroencefalográfico durante protocolos experimentais de epilepsia, não há clareza de como este registro é realizado, e nem mesmo há descrição dos diversos tipos de crise observados e de sua correlação eletroencefalográfica.

As crises epilépticas podem ser inicialmente classificadas como parciais (focais) ou generalizadas. Uma crise é considerada parcial, quando as manifestações clínicas e eletroencefalográficas, desde o princípio, são consistentes com a ativação de apenas parte de um hemisfério cerebral. É dita generalizada quando a semiologia inicial e o registro eletroencefalográfico sugerem o envolvimento de ambos os hemisférios cerebrais (Guerreiro et al, 2000).

As manifestações clínicas de uma crise parcial dependem da região cortical onde se inicia, da propagação ou não da atividade elétrica, e das vias corticais envolvidas. Os locais mais comuns de início de crises epilépticas são os lobos temporais (Sander et al, 1999).

Convulsão é um termo leigo, que se refere a episódios de contrações musculares involuntárias, epilépticas ou não, excessivas e anormais, usualmente bilaterais, podendo ser contínuas ou intermitentes (Blume-Chair et al, 2001). É,

portanto, um tipo de crise com manifestações motoras não podendo ser utilizada como sinônimo de crise epiléptica, e cujo uso na literatura médica vem sendo desencorajado pela Liga Internacional contra Epilepsia (Engel, 2001). Apesar disso, neste trabalho o termo convulsão ainda é utilizado como sinônimo de crise epiléptica em respeito à linha de pesquisa experimental que mantém o uso desta nomenclatura.

Existem dois subgrupos de crises parciais: crises parciais simples, em que há preservação do nível de consciência e envolvimento hemisférico unilateral e crises parciais complexas, que são associadas à alteração ou perda da consciência e, geralmente, têm acometimento de ambos os hemisférios cerebrais (ILAE, 1989).

Dentre as crises generalizadas destacam-se: tônico-clônica generalizada (Grande Mal), tônica generalizada e crise de ausência (Pequeno Mal). Nesse último tipo de crise há um breve lapso de consciência, geralmente inferior a 30 segundos de duração, podendo ser acompanhado de fenômenos motores menores como: mioclonias breves ou crises de atonia (Adams et al, 1997).

Sob a designação de Estado de Mal Epiléptico (EME) está toda crise epiléptica que não evidencia sinais de término após o tempo de duração médio esperado para a grande maioria das crises daquele tipo na maior parte dos pacientes, ou crises recorrentes sem retorno à função cerebral de base (Blume-Chair et al, 2001). O EME é visto como uma emergência médica que requer tratamento efetivo imediato, com a finalidade de prevenir o dano neuronal, que pode levar ao desenvolvimento de epilepsia ou a outras seqüelas neurológicas (Treiman, 2001), além de representar risco de morte.

Conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS), epilepsia é um distúrbio cerebral crônico, com várias etiologias possíveis, caracterizado por crises epilépticas recorrentes não desencadeadas por fator exógeno definido (ILAE, 1989). Parece acometer cerca de 1% da população mundial (Köhling, 2002; Sena, 2002). E, na atualidade, a maioria dos especialistas restringe seu diagnóstico a pessoas que têm duas ou mais crises, e nesse caso o risco de recorrência é de cerca de 70 a 80 % (Camfield e Camfield, 2000).

A ocorrência de crises epilépticas em pessoas que não têm epilepsia, ou seja de crises ditas sintomáticas, é algo bem comum (Norman et al, 1998). Na verdade, qualquer desordem capaz de alterar o ambiente que envolve os neurônios cerebrais pode causar crises epilépticas (Yamamoto et al, 2004). São

exemplos de crises sintomáticas aquelas que acontecem, exclusivamente, em vigência de: distúrbios hidroeletrólíticos (hiponatremia, hipomagnesemia, hipocalcemia, estados hiperosmolares), distúrbios metabólicos (hipoglicemia, uremia, doenças da tireóide), febre, hipóxia, traumatismo craniano, hemorragias intracranianas, acidentes vasculares cerebrais, doenças infecciosas encefálicas (meningites, encefalites, abscessos cerebrais), tumores intracranianos, falência orgânica, uso de substâncias que diminuem o limiar para crises epiléticas (álcool, cocaína), abstinência medicamentosa (narcóticos) e a drogas de abuso (álcool), exposição a toxinas (intoxicação por monóxido de carbono), dentre inúmeras outras causas. Em geral essas crises são resolvidas com a eliminação do fator precipitante.

Uma síndrome epilética é caracterizada pela associação de um ou mais tipos de crises epiléticas, padrões eletroencefalográficos (durante as crises e entre elas), levando-se em consideração outros fatores como: idade de início, exame neurológico, componente genético e aspectos evolutivos (Cypel e Yacubian, 1998).

A maioria dos pacientes epiléticos, se tratada de maneira adequada, conseguirá um controle total ou quase total de suas crises. Aproximadamente 60 a 70% dos pacientes ficarão livres de crises após o tratamento com droga antiepilética (Verrotti et al, 2003). A melhor estratégia terapêutica a ser utilizada depende, essencialmente, do diagnóstico correto quanto ao tipo de crise e de síndrome epilética (Bustamante et al, 2001). Assim, uma vez que se estabelece o tipo de crise, uma droga apropriada para este tipo é administrada se o paciente já teve uma ou mais crises (Browne et al, 2001). No caso de uma única crise generalizada, de rápida duração, que cedeu espontaneamente, já existe consenso quanto a não indicação do uso de droga antiepilética. Há, ainda, evidências circunstanciais, que sugerem a ocorrência de remissão espontânea da epilepsia em até 30% dos casos (Kwan e Sander, 2004).

3.2 Epileptogênese

O termo epileptogênese é aplicado a uma variedade de mudanças bioquímicas, anatômicas e fisiológicas que culminam com a recorrência de crises

epilépticas espontâneas. Inúmeros mecanismos estão envolvidos sem, entretanto, haver consenso sobre o que é causa ou efeito do processo (Stables et al, 2002).

A Epilepsia do Lobo Temporal corresponde à cerca de 30 % das epilepsias cujo local de início da crise pode ser detectado, e na maioria desses casos o desenvolvimento da doença segue um esquema pré-determinado composto por três fases: a um insulto cerebral inicial (malformação genética, traumatismo craniano, acidente vascular cerebral, infecção ou estado de mal epilético) se segue um período de latência, onde ocorreria a epileptogênese e, conseqüentemente a recorrência de crises espontâneas, ou o que denominamos Epilepsia (Pitkänen, 2002).

Partindo do princípio de que os neurônios são células excitáveis, é lógico assumir que crises epiléticas resultariam, direta ou indiretamente, de modificações na excitabilidade de um neurônio ou de um grupo neuronal (Kandel et al, 2000).

Assim, acredita-se que quase todos os tipos de crises epiléticas ocorrem por um predomínio da excitação sobre a inibição do sistema nervoso central (Maguire et al, 2002), exceção feita às crises do tipo ausência que possuem um mecanismo particular (Mares, 1998).

As crises generalizadas do tipo ausência parecem ser originadas de interações anormais tálamo-corticais, que seriam mediadas por canais de cálcio do tipo T (Baldauf, 2002).

Na verdade, suspeita-se que muitos tipos de alterações moleculares e uma gama de mecanismos celulares e fisiológicos podem levar a crises epiléticas, fazendo da epileptogênese um processo multifatorial (Dudek et al, 2002), ainda não totalmente esclarecido.

Recentemente, avanços em estudos familiares e genéticos têm possibilitado o estabelecimento da relação entre modificações em canais iônicos e proteínas com certas formas de epilepsia (Mello, 2000).

Os canais de sódio e de potássio são responsáveis pelo potencial de ação, havendo uma fase de despolarização mediada pela abertura dos canais de sódio e uma de repolarização causada pela abertura dos canais de potássio e pela inativação dos canais de sódio. Já foram mapeadas mutações em genes para subunidades dos canais de sódio voltagem dependentes (SCN1B, SCN1B e SCN2A) que levariam a um aumento da corrente de sódio, gerando uma grande despolarização durante o potencial de ação e, conseqüentemente, um aumento da

tendência a disparos neuronais repetitivos, levando à hiperexcitabilidade neuronal que estaria relacionada à ocorrência de crises generalizadas em vigência de febre, por exemplo (Chang e Lowenstein, 2003).

Os padrões distintos de manifestações clínicas de crises parciais e generalizadas podem ser atribuídos aos diferentes padrões de atividade dos neurônios corticais (Kandel et al, 2000). As crises parciais seriam causadas por descargas localizadas, ocasionais, súbitas, excessivas e rápidas de neurônios da matéria cinzenta, enquanto as crises generalizadas ocorreriam, secundariamente, quando o tecido cerebral normal vai sendo invadido pela atividade crítica iniciada no foco anormal.

Assim, uma função sináptica defectiva teria papel importante na epileptogênese, sendo caracterizada por redução da atividade sináptica gabaérgica (inibitória) e/ou aumento da atividade sináptica glutamatérgica (excitatória) (McNamara, 2001).

A ativação de receptores gabaérgicos induz a um grande influxo celular de íons cloreto, levando à hiperpolarização do potencial de membrana, inibindo a geração de novos potenciais de ação e reduzindo a excitabilidade neuronal (Bem-Ari e Holmes, 2005).

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do Sistema Nervoso Central dos mamíferos, e parece estar envolvido como agente neurotóxico em diversas doenças neurológicas, incluindo epilepsia, isquemia (Muir e Lees, 1995), e doenças neurodegenerativas como a Doença de Alzheimer. O glutamato influencia outros sistemas neurotransmissores e participa de inúmeras atividades fisiológicas cerebrais, como: neurogênese, neurodesenvolvimento, neurotransmissão (cortico-cortical, cortico-límbica e cortico-subcortical), plasticidade sináptica e neurodegeneração (Tankosic, 2004).

Distúrbios na neurotransmissão excitatória mediada pelo glutamato vêm sendo implicados como fatores críticos para a epileptogênese (Crino et al, 2002), destacando-se alterações em receptores, em especial os do tipo seletivamente sensível ao N-metil-D-aspartato (NMDA) e em transportadores, particularmente os transportadores gliais de aminoácidos excitatórios (EAATs) (Ueda et al, 2002).

Sabe-se que a expressão de subunidades e a composição dos receptores glutamatérgicos são regulados durante o desenvolvimento neuronal, de forma que mudanças na atividade sináptica excitatória durante este período crítico, poderiam levar a alterações a longo prazo na neurotransmissão excitatória e, inclusive a um

aumento da suscetibilidade a crises epilépticas durante a vida adulta (Zhang et al, 2004).

Já existe sugestão de classificação de epilepsia parcial conforme correlações neuroquímicas/funcionais, a partir de estudo de receptores glutamatérgicos em tecido epiléptico cortical humano, que seria: um subtipo com atividade epileptiforme espontânea com aumento da densidade de receptores NMDA e outro subtipo com atividade epileptiforme não-espontânea em que se observa diminuição da densidade desse tipo de receptor (Zilles et al, 1999).

No caso dos Distúrbios de Migração Neuronal, uma das principais causas de epilepsias refratárias ao tratamento farmacológico, já foi constatado um aumento da densidade e eficácia (“up regulation”) de receptores glutamatérgicos pelos neurônios displásicos, o que estaria diretamente relacionado à geração de crises (Min-Cheol, et al, 2002). Os transportadores glutamatérgicos, envolvidos na remoção do glutamato da fenda sináptica e, portanto na manutenção extracelular do glutamato abaixo dos níveis neurotóxicos, também vêm sendo relacionados à geração de crises epilépticas, já tendo sido documentada a redução da expressão do transportador EAAT2 em cérebros de pacientes epilépticos bem como em modelos experimentais de epilepsia (Maguire et al, 2002).

Além disso, já foi documentado aumento transitório da concentração extracelular de glutamato durante crises epilépticas no hipocampo ipsilateral à estimulação bem como no lado contra-lateral após abrasamento, sendo esse aumento maior nas crises generalizadas (Tsuru et al, 2002).

Recentemente, disfunções mitocondriais também vêm sendo aventadas como causas potenciais de crises epilépticas e de epilepsia refratária. O que é possível já que a fosforilação oxidativa mitocondrial é a principal fonte neuronal de trifosfato de adenosina (ATP) e a mitocôndria participa da homeostase intracelular de cálcio, podendo modular a excitabilidade neuronal e a transmissão sináptica (Kunz, 2002).

As células da glia, que durante muito tempo foram consideradas apenas como meras células de suporte, hoje vem sendo vistas como participantes importantes do processo de epileptogênese. Estariam, por exemplo, envolvidas na regulação das concentrações extracelulares do potássio e do glutamato, e sua disfunção poderia resultar em hiperexcitabilidade neuronal (Chang e Lowenstein, 2003).

A interrupção das crises é um mecanismo ativo, cuja falência resulta em estado de mal epilético. Dentre os sistemas envolvidos no término das crises epiléticas e na depressão pós-ictal, que seria uma expressão duradoura dos mecanismos inibitórios, já foram responsabilizados os sistemas opióide e gabaérgico, especialmente os receptores GABA_B (Mares, 1998).

3.3 - Modelos Experimentais de Epilepsia

Os Modelos Experimentais de epilepsia são, geralmente, classificados em: modelos *in vitro* (fatias cerebrais) e *in vivo* (animais de experimentação), os últimos podendo ser divididos em modelos agudos ou crônicos. Os modelos agudos são fontes importantes para o esclarecimento de como as crises epiléticas ocorrem, enquanto os crônicos, por envolverem mudanças cerebrais funcionais e/ou estruturais, representam melhor o que ocorre na recorrência de crises da epilepsia e no período intercrítico (Jefferys, 2003).

Os modelos experimentais podem, ainda, ser classificados quanto ao mecanismo indutor de crises em: farmacológicos, por estimulação elétrica (abrasamento ou “kindling”, eletrochoque) ou por manipulação ou seleção genética (Sanabria e Cavalheiro, 2000).

Dentre os modelos farmacológicos merecem destaque: o bloqueio de receptores GABA_A com bicuculina ou picrotoxina e o bloqueio das correntes de potássio com 4-aminopiridina (Jefferys, 1998).

Preparações com fatias de cérebros de mamíferos vêm revolucionando o estudo das propriedades eletrofisiológicas dos neurônios, fornecendo informações importantes sobre a plasticidade sináptica, os mecanismos da epilepsia e as ações de drogas no cérebro (Kandel et al, 2000). A técnica utiliza fatias de cerca de 70-400 µm de tecido cerebral, que conservam a circuitaria e as referências celulares, acondicionadas em meio líquido (liquor artificial) que pode ser modificado de forma a propiciar a epileptogênese e o registro das propriedades elétricas neuronais. Esse tipo de experimento ainda pode ser combinado com simulações em computador que podem mostrar se as propriedades conhecidas do sistema em estudo são necessárias e suficientes para a epileptogênese (Jefferys, 2003).

Neste contexto, se destacam as preparações com fatias cerebrais em que a modificação do líquido cerebrospinal artificial é justamente a diminuição da

quantidade habitual de magnésio (Mg^{++}), o que resulta em desbloqueio do receptor glutamatérgico do tipo NMDA, e conseqüentemente em facilitação de descargas epileptiformes. Já foram descritas descargas epileptiformes pela exposição ao líquor com baixo Mg^{++} em cultura de neurônios do hipocampo e em fatias de neocórtex (Al-Noori et al, 1998).

Através dos modelos experimentais *in vivo* de epilepsia do lobo temporal, vem se demonstrando que crises epiléticas são geradas por modificações duradouras da eficácia sináptica (potenciação epilética de longa duração), através da remoção do bloqueio voltagem dependente do magnésio, ativação dos receptores NMDA e por um aumento da concentração do cálcio intracelular (Ben-Ari, 2001).

Exemplo importante deste tipo de modelo experimental é o da epilepsia espontânea induzida pela administração de doses elevadas de pilocarpina, um agonista colinérgico muscarínico, que foi implementado por um grupo brasileiro liderado por Esper Abrão Cavalheiro e ganhou vulto internacional por sua semelhança comportamental e eletrográfica com a Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) dos humanos. Ratos adultos que são submetidos à administração de pilocarpina apresentam ativação e lesão principalmente de estruturas límbicas (Al-Noori et al, 1998). O modelo experimental compreende a administração sistêmica de altas doses de pilocarpina (320 mg/Kg), gerando inicialmente um estado de mal epilético que é seguido por um período de semanas em que o animal se mantém assintomático, até evoluir com crises epiléticas espontâneas (Leite et al, 1990).

Todos esses modelos experimentais são importantes por possibilitarem esclarecimentos no campo da epileptogênese, bem como os testes com novas drogas antiepiléticas. Assim, as drogas que têm ação antiabrasamento, como o que pode ocorrer com o uso seriado do pentilenotetrazol (abrasamento químico) são drogas que têm potencial para utilização clínica bem sucedida como agentes antiepiléticos (Sena, 2002).

O pentilenotetrazol (PTZ) há muito tempo vem sendo usado para medir o limiar epilético dos animais (Arikan et al, 1999), mas o abrasamento químico com este agente é alcançado com experimentos 3 vezes por semana, em dias alternados, em que o rato é submetido à injeção intra-peritoneal de 30 mg/kg de PTZ, e é observado comportamentalmente, sendo que após 2 crises tônico-clônicas generalizadas consecutivas o animal é considerado como tendo

alcançado o abasamento. Se isso não ocorrer ao final de 25 sessões, o animal é retirado do experimento (Ripley et al, 2003).

Merece destaque o fato de o pentilenotetrazol poder ser utilizado como modelo experimental de diversos tipos de crises epiléticas. Doses baixas, de 20 a 40 mg/kg, de PTZ administradas intraperitonealmente resultam em crises do tipo ausência, enquanto doses maiores podem resultar em crises clônicas, tônicas e tônico-clônicas (Snead e Cortez, 1998). Além disso, doses subconvulsivantes como 10 mg/kg podem ser utilizadas em modelos experimentais para ansiedade (Corda et al, 1997).

Os mecanismos pelos quais o PTZ exerce suas ações pró-convulsivantes são apenas parcialmente compreendidos. Sabe-se que é um antagonista do receptor GABA_A pós-sináptico que se ligaria ao sítio de ligação da picrotoxina. Assim, ele suprimiria os efeitos inibitórios do GABA, levando a uma facilitação da despolarização neuronal (Eloqayli et al, 2003).

O estado de mal epilético induzido por pentilenotetrazol resulta em uma redução significativa da atividade da ATPase do córtex cerebral, o que pode ser o evento bioquímico inicial que desencadeia a morte neuronal (Oner et al, 2000). Além disso, crises breves induzidas por PTZ, podem gerar aumento rápido e transitório na expressão de uma grande classe de genes imediatos e de muitos fatores de transcrição (Cole et al, 2002).

Também existem indícios de que o óxido nítrico (NO) participa do “kindling” induzido por PTZ e que o fator neurotrófico derivado do cérebro (Brain-Derived Neurotrophic Factor – BDNF) pode contribuir com as mudanças plásticas NO-dependentes na excitabilidade neuronal (Han et al, 2000).

3.4 - Drogas Antiepiléticas

O termo antiepilético é utilizado para descrever medicamento que visa primariamente diminuir ou eliminar crises em pessoas com Epilepsia, mas que também é administrado para interromper crises agudas sintomáticas (Scheuer e Van Cott, 1998).

O tratamento para epilepsia deve sempre ser iniciado com uma droga de primeira linha (monoterapia), que é considerada a mais efetiva, para aquele determinado tipo de crise, e a menos tóxica. Se as crises não são controladas com

a dose padrão de uma droga de primeira linha, tenta-se usar a dose máxima tolerada, ou seja, aumenta-se a dose da medicação até onde não se tem os efeitos colaterais, se ainda assim o controle de crises não é alcançado é que se opta por agregar outra droga de primeira linha (politerapia) ou utiliza-se uma droga de segunda linha (Browne e Holmes, 2001).

A tabela 1 esclarece quais são as drogas convencionais, ou de primeira linha, para cada tipo de crise epiléptica e quais as drogas de segunda linha (McNamara, 2001).

Tabela 1: Drogas de primeira e segunda linha de escolha no tratamento das epilepsias

Tipo de crise epiléptica	Droga de primeira linha	Droga de segunda linha
Crises parciais simples e complexas	Carbamazepina, fenitoína e valproato.	Gabapentina, lamotrigina, levitiracetam, tiagabina, topiramato e zonisamida
Crises parciais com generalização secundária	Carbamazepina, fenobarbital, fenitoína, primidona e valproato.	Gabapentina, lamotrigina, levitiracetam, tiagabina, topiramato e zonisamida
Crises de ausência	Etossuximida e valproato.	Lamotrigina
Crises mioclônicas	Valproato	Lamotrigina e topiramato
Crises tônico-clônicas generalizadas	Carbamazepina, fenobarbital, fenitoína, primidona e valproato	Lamotrigina e topiramato

Dois mecanismos parecem exercer papel fundamental na ação das drogas antiepilépticas: a potencialização da ação do GABA e a inibição da função dos canais de sódio (Rang et al, 2001). Existindo, ainda, outros mecanismos possíveis: inibição dos canais de cálcio, inibição dos receptores de glutamato e inibição da anidrase carbônica.

A inibição dos canais de sódio responde pelo mecanismo de ação de diversos agentes antiepilépticos, dentre eles: fenitoína, carbamazepina, valproato, lamotrigina e topiramato. Por bloquear o portão de inativação dos canais de sódio, essas drogas atuam de forma a manter o canal aberto mas não funcionando, reduzindo a capacidade dos neurônios para disparar em altas frequências. Vale ressaltar que essa propriedade faz com que as drogas bloqueiem

preferencialmente a excitação das células que estão disparando repetitivamente, e quanto maior a frequência de disparo, maior o bloqueio gerado (Rang et al, 2001).

As drogas antiepilépticas que agem por potencialização da ação gabaérgica o fazem de diversas maneiras. Existem aquelas que agem por reduzir o metabolismo do GABA (Valproato de sódio, Vigabatrina, Tiagabina), outras agem no receptor GABA_A aumentando a entrada de Cl⁻ em resposta ao GABA (Benzodiazepínicos, barbitúricos e topiramato). Uma outra droga, a gabapentina, age na pré-sinapse promovendo a liberação de GABA (McNamara, 2001).

As drogas que possuem efeito antiausência parecem agir por bloqueio dos canais de Calcio tipo T talâmicos (Sena, 2002). São elas: Valproato, Etossuximida.

O topiramato, uma das mais novas e promissoras drogas antiepilépticas, inibe experimentalmente crises induzidas por eletrochoque, pentilenotetrazol e crises parciais e secundariamente generalizadas no modelo de abasamento. Parece que seu sucesso e amplo espectro clínico se devem aos diversos mecanismos de ação, alguns já citados acima, incluindo limitação da ativação de receptores glutamatérgicos do tipo AMPA-Kainato e uma inibição fraca da atividade da anidrase carbônica (MacNamara, 2001).

Os estudos ainda visam à descoberta da droga antiepiléptica ideal, cujas qualidades incluiriam: segurança, biodisponibilidade satisfatória, absorção enteral lenta, meia-vida longa, cinética linear, pequena ligação às proteínas séricas, ausência de indução ou inibição enzimática, ausência de metabólitos ativos e/ou tóxicos, excreção renal como droga inalterada (Yacubian, 2001). Em resumo, a droga ideal teria máximo efeito antiepiléptico, com facilidade de administração e ausência ou escassez de efeitos colaterais.

Quando as drogas antiepilépticas falham em deter o curso da epilepsia, procedimentos alternativos com Cirurgia para Tratamento da Epilepsia Refratária, a Estimulação Vagal e a Dieta Cetogênica ganham espaço na terapêutica.

Os procedimentos cirúrgicos para tratamento das epilepsias refratárias, visam à remoção da zona epileptogênica, que é a área cortical onde se origina a maioria, se não todas as crises do paciente. Quando este objetivo é possível e alcançado, os resultados são excelentes (Sousa e Cukiert, 2002).

A estimulação do nervo vago se apresenta como uma terapia adjuvante e paliativa no tratamento das epilepsias de difícil controle, cujo real mecanismo antiepiléptico permanece obscuro. É realizada por meio de um implante cirúrgico de um gerador de impulsos elétricos, no subcutâneo do hemitórax superior

esquerdo e por dois eletrodos (negativo e positivo), que estimulam cronicamente e de forma intermitente o nervo. O estímulo é levado pelas fibras aferentes viscerais gerais, gerando potenciais evocados no córtex cerebral, hipocampo, tálamo, no hipotálamo, na amígdala e no cerebelo (Burattini e Cukiert, 2002).

A dieta cetogênica foi elaborada na década de 1920 com o intuito de ampliar os efeitos benéficos do jejum, limitando o consumo de calorias e estabelecendo uma proporção entre gordura, carboidratos e proteínas, com resultados relativamente satisfatórios no controle das epilepsias refratárias (Elkis, 2002).

O ideal seria o desenvolvimento de uma droga antiepileptogênica, ou seja, que prevenisse ou ao menos retardasse a gênese e/ou o processo de desenvolvimento da epilepsia. Na atualidade, as drogas antiepilépticas podem ser consideradas antiepileptogênicas quando ao evitar as crises epilépticas, evitam a injúria neuronal e as alterações neurofisiológicas que levariam ao estabelecimento da epilepsia (Cole e Dichter, 2002).

3.5 – O Magnésio e o Receptor Glutamatérgico do tipo NMDA

O magnésio está envolvido nos processos neurais desde a pré-sinapse até os eventos pós-sinápticos, exercendo papel importante na excitabilidade tanto do Sistema Nervoso Periférico quanto do Sistema Nervoso Central (Chollet et al, 2001). Sabe-se, por exemplo, que a hipomagnesemia pode cursar com crises epilépticas sintomáticas.

Apesar de contraditórios, vários estudos vêm demonstrando que a deficiência de Magnésio participa da epileptogênese, inclusive com relato de níveis de magnésio significativamente menores no líquido de crianças com crises epilépticas (Yamamoto et al, 2003). Um estudo realizado com crianças entre 0 e 17 anos, dentre elas 80 epilépticas e 32 controles, encontrou correlação positiva entre baixos níveis séricos de magnésio e epilepsia, assim quanto mais severa a epilepsia, mais baixa a concentração plasmática deste íon (Benga e Benga, 1998).

Como já mencionado anteriormente, o glutamato é o mais abundante neurotransmissor excitatório do cérebro humano, estando armazenado em vesículas pré-sinápticas, e sendo liberado em resposta a uma despolarização da membrana neuronal pré-sináptica. Mecanismos de recaptação, nos neurônios pré-

sinápticos e nas células da glia, limitam a concentração sináptica do glutamato em condições fisiológicas (Muir e Lees, 1995).

Novos estudos sugerem que o estado de mal epilético no início da vida pode resultar em alterações permanentes nos receptores glutamatérgicos e na expressão dos genes dos transportadores, o que pode contribuir para um baixo limiar epilético (Zhang et al, 2004).

O glutamato esta intimamente envolvido na epileptogênese e na neurotoxicidade em geral. Neste contexto, destaca-se o receptor glutamatérgico ionotrópico do tipo NMDA, que está diretamente ligado a um canal iônico permeável aos íons cálcio, sódio e potássio. A ativação desse tipo de receptor é bastante complexa, sendo que glutamato e a glicina (co-agonista) devem estar ambos ligados ao receptor para que abertura do canal iônico ocorra (Kemp e McKernan, 2002). O receptor NMDA media potenciais pós-sinápticos excitatórios lentos, por meio da ativação da proteína quinase C (PKC) com conseqüente produção de óxido nítrico via ativação da óxido nítrico-sintetase pelo sistema cálcio-calmodulina. Uma conseqüência importante da ativação do receptor NMDA é o influxo do íon Cálcio para o interior do neurônio, pois quando há estimulação excessiva, é a entrada maciça desse íon que media o dano neuronal (Hallak et al, 1993). Vale ressaltar que o magnésio realiza bloqueio voltagem dependente desse tipo de receptor.

Estudos utilizando antagonistas NMDA no tratamento do estado de mal epilético, vem demonstrando efeito antiepileptogênico e neuroprotetor desses agentes, modificando o curso natural da epilepsia (Pitkänen, 2002).

O efeito neuroprotetor dos sais de magnésio vem sendo demonstrado, e seu uso é atrativo por ser barato, disponível e com segurança bem estabelecida, tendo sido utilizado por muitos anos na profilaxia da pré-eclâmpsia na América do Norte (Muir e Lees, 1995).

O sulfato de magnésio ainda é o agente mais comumente usado para o tratamento da eclâmpsia, doença específica da gravidez caracterizada por hipertensão arterial severa e crises epiléticas, e para profilaxia da mesma em pacientes com pré-eclâmpsia severa (Lu e Nightingale, 2000). Na eclâmpsia, evidências, a partir de meta-análise, indicam que o uso do magnésio reduz a mortalidade materna (Roberts et al, 2002). Além disso, estudos observacionais retrospectivos sugerem que a exposição intra-útero ao sulfato de magnésio pode estar correlacionada a risco menor de paralisia cerebral e hemorragia

intraventricular nos recém-nascidos (Kimberlin et al, 1999). Ainda na gestação, o sulfato de magnésio pode ser utilizado como agente tocolítico para inibição do trabalho de parto prematuro, (Petrie, 1981; Simchen et al, 1998).

Os experimentos em animais utilizando o sulfato de magnésio para controle de crises epiléticas induzidas por diferentes agentes também são contraditórios. Krauss et al, 1989, induziram crises com pentilenotetrazol em camundongos observando falha do uso parenteral do sulfato de magnésio no combate às crises, e dentre as justificativas estaria a diferença entre o nível sérico e o nível intraventricular cerebral alcançado. Este estudo sugere inclusive que talvez fossem necessárias doses mais altas para alcançar o sucesso terapêutico (Krauss et al, 1989).

Link et al., 1991, demonstraram que o sulfato de magnésio administrado endovenosamente após a indução das crises pelo pentilenotetrazol não atenuou a atividade epilética. Considerando-se que o magnésio bloqueia o influxo de cálcio para o interior do neurônio, por meio do receptor NMDA de maneira voltagem-dependente, os autores sugerem que a ausência de efeitos do sulfato de magnésio no estudo por eles conduzido se deveria ao fato de que os neurônios já estariam continuamente despolarizados durante o estado de mal epilético induzido pelo pentilenotetrazol, não havendo possibilidade do magnésio produzir sua ação (Link et al., 1991).

De forma oposta, Mason et al, 1994, comparando o efeito da difenilidantoína intravenosa com o de injeção intracerebroventricular de sulfato de magnésio no controle de crises induzidas por NMDA, em ratos, evidenciaram efeito profilático significativamente maior do sulfato de magnésio.

Hallak et al., 1996, desenvolveram estudo visando determinar o efeito da administração intraperitoneal de sulfato de magnésio em ratos, nos receptores NMDA cerebrais, que concluíram que o uso parenteral de sulfato de magnésio aumentou a inibição do canal iônico, efeito esse que se manteve com o tratamento crônico por duas semanas, com uma diminuição da sensibilidade do receptor NMDA aos seus agonistas glutamato e glicina.

Apesar de alguns pesquisadores sugerirem que os efeitos benéficos do sulfato de magnésio no tratamento da pré-eclâmpsia e da eclâmpsia possam ser atribuídos as suas ações periféricas como: bloqueio muscular e redução da resposta vascular às substâncias vasopressoras ou até mesmo a uma ação central puramente vascular (Belfort et al, 2003) outros sugerem uma ação central via

bloqueio do receptor NMDA (Cotton et al, 1993; Standley et al, 1998; Standley et al, 1998; Hallak, et al, 1999).

Vale ressaltar que até agora o sulfato de magnésio vem sendo utilizado clinicamente visando seu efeito antiepiléptico apenas na eclâmpsia/pré-eclâmpsia e nas situações em que a baixa dosagem sérica de magnésio possa ser a responsável por crises epilépticas sintomáticas, como o que pode ocorrer em recém-nascidos (Volpe, 2001) e etilistas crônicos. Porém, se sua ação pode ser atribuída ao bloqueio do receptor glutamatérgico NMDA, é possível também supor uma ação em crises epilépticas imersas em outros contextos clínicos.

Além disso, sugerindo não ser a eclâmpsia uma situação clínica totalmente à parte, já existem indícios de que ela pode ser fator de risco para Epilepsia de Lobo Temporal e Esclerose Hipocampal, que é o achado mais comum na epilepsia temporal intratável, sendo caracterizada por um padrão típico de perda neuronal, gliose e de reorganização sináptica (Lawn et al, 2004).

Destaca-se a importância do uso clínico do magnésio no combate a epilepsia por atuar no sistema glutamatérgico, enquanto a maioria das drogas antiepilépticas da atualidade agem no sistema gabaérgico ou em canais iônicos.

O magnésio tem ainda outros efeitos no cérebro: interfere na liberação de neurotransmissor mediada por cálcio e participa da depressão do disparo neuronal cortical (Krauss et al, 1989).

Dentre os possíveis efeitos colaterais, decorrentes do aumento da concentração sérica do magnésio, destacam-se: alteração do nível de consciência (que pode variar de sonolência e confusão mental até letargia ou coma), hipotensão arterial, alterações de condução cardíaca, fraqueza muscular e insuficiência respiratória. Esses efeitos indesejáveis e sua gravidade se correlacionam com os níveis séricos do magnésio (Harker e Majcher, 2000).

Na maioria dos pacientes, porém, os efeitos colaterais são discretos e transitórios, podendo ocorrer: rubor facial, cefaléia, turvação visual, náusea, nistagmo, letargia, hipotermia e retenção urinária e/ou fecal (Sibai, 1990).

As contra-indicações formais ao uso do sulfato de magnésio são: insuficiência renal e antecedente de isquemia cardíaca leve (Lu e Nightingale, 2000). Atenção especial, pelo maior risco de hipermagnesemia, deve ser dada aos pacientes com Doença de Addison, hipotireoidismo e em uso concomitante de lítium (Harker e Majcher, 2000).

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Determinar os efeitos da administração intracerebroventricular do sulfato de magnésio sobre os diferentes tipos de crises convulsivas induzidas pela administração sistêmica do pentilenotetrazol em ratos.

4.2. Objetivos Específicos

- Observar a atividade elétrica cerebral, por meio de registro eletroencefalográfico, após administração intracerebroventricular de diferentes doses de sulfato de magnésio;
- Observar a atividade elétrica cerebral, por meio de registro eletroencefalográfico, após administração intraperitoneal do pentilenotetrazol;
- Caracterizar os diferentes tipos de crises convulsivas induzidas pela administração intraperitoneal do pentilenotetrazol de acordo com o registro eletroencefalográfico simultâneo;
- Registrar a latência para a primeira crise convulsiva e a duração total das crises convulsivas induzidas pela administração intraperitoneal de pentilenotetrazol;
- Registrar a latência para primeira crise, frequência e duração de cada tipo de crise convulsiva induzida pela administração intraperitoneal de pentilenotetrazol.
- Observar os efeitos da administração de diferentes doses sulfato de magnésio icv, sobre os diferentes tipos de crises convulsivas induzidas pela administração ip de 60mg/Kg do pentilenotetrazol.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Animais

Foram utilizados 32 ratos Wistar machos, com cerca de 300 g de peso corporal no início dos experimentos, provenientes do Biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo. Antes do procedimento cirúrgico, que será descrito mais adiante, os animais, em número máximo de 6, eram mantidos nas mesmas gaiolas provenientes do biotério. Após o procedimento cirúrgico os mesmos foram alocados em gaiolas-casa individuais de acrílico de 3 mm de espessura (25 cm de comprimento, 15 cm de largura e 30 cm de altura), tendo livre acesso a água e alimento, em uma sala com temperatura controlada com ciclo claro-escuro natural (7 – 19 h).

Os cuidados e o manuseio de todos os animais que foram objeto deste estudo seguiram os princípios éticos de experimentação em animais preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), disponíveis no endereço eletrônico: www.cobea.org.br, e que correspondem aos princípios internacionais para pesquisa envolvendo animais experimentais.

5.2. Drogas

- **Sulfato de Magnésio ($MgSO_4$)** 50% 10 ml (Hypofarma, MG, BR), diluído em solução fisiológica a 0,9% nas concentrações de 6,4; 20 ou 64 mg/ml, para administrações intracerebroventriculares nas doses de 32, 100 e 320 μ g, respectivamente;
- **Pentilenotetrazol (PTZ)** *Pentylentetrazole* - 6,7,8,9-Tetrahydro-5H-tetrazolo-[1,5-a]azepine – Sigma-Aldrich, MO, USA), diluído em solução fisiológica a 0,9% na concentração de 60 mg/ml para administrações intraperitoneais na dose de 60 mg/kg.
- **Solução fisiológica a 0,9% (SAL)** foi empregada como solução controle para as administrações intracerebroventriculares e intraperitoneais.

- **Diazepam (DZP)** (Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S/A, São Paulo, Brasil) foi diluído em Tween 80 (2 gotas) e salina na concentração de 10 mg/ml.

Todas as soluções foram mantidas sob refrigeração a 4° C após as diluições.

5.3. Equipamentos utilizados para o registro eletroencefalográfico

- **Pré-amplificador AC** - (Neuro Log, Digitimer, UK, NL100) (Fig. 5)
- **Amplificador AC** - (NL 104) (Fig. 1)
- **Filtros** - (NL 126) (Fig. 1)
- **Osciloscópio** - (Tektronic, USA, 205) (Fig. 1)



Figura 1 – À esquerda observa-se o osciloscópio e à direita o amplificador e os filtros. Estes equipamentos constituem uma parte do sistema integrado para captação e digitalização do registro eletroencefalográfico.

- **Sistema de digitalização de sinais** - (Biopac, USA, MP100) (Fig. 2)
- **Computador** - (*Info Way*) contendo um programa de digitalização de sinais eletrofisiológicos (Biopac, ACK 3,5) (Fig. 2).

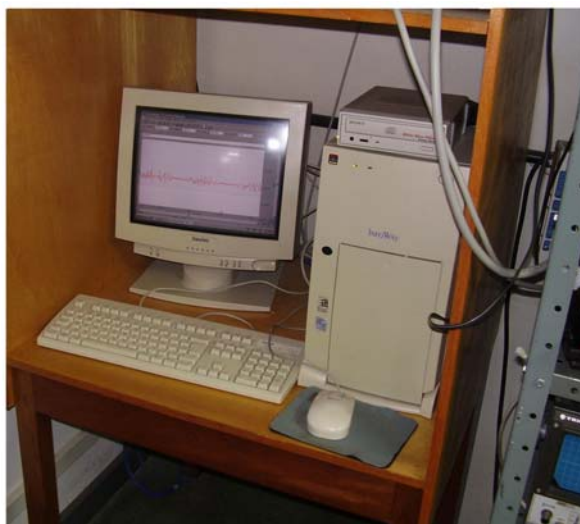


Figura 2 – Computador (*Info Way*) contendo um programa de digitalização de sinais eletrofisiológicos (Biopac, ACK 3,5), visível na tela do monitor.

Para se realizar o registro da atividade elétrica cerebral (eletroencefalografia) dos animais foi utilizado um sistema integrado onde os eletrodos eram conectados, por meio de um cabo de conexão confeccionado, ao pré-amplificador que se ligava ao amplificador, que era conectado a filtros e esses ao osciloscópio, que finalmente era conectado ao sistema de digitalização de sinais.

Os registros eram efetuados com amplificação de cerca de 2k (1k no pré-amplificador e 1k mais o ajuste fino no amplificador) e filtros de baixa frequência de 5 Hz e alta frequência de 70 Hz. Foi também utilizado filtro para 60 Hz.

Os registros eletroencefalográficos eram armazenados em arquivos individualizados em disco rígido (e posteriormente em CDs), que eram analisados simultaneamente com a observação comportamental sendo também possível revê-los a qualquer momento, bem como imprimi-los a partir dos arquivos originais.

5.4. Cânulas intracerebroventriculares

As cânulas para a administração intracerebroventricular (icv) foram confeccionadas artesanalmente a partir de agulhas hipodérmicas descartáveis (0,80 x 25 mm 21G1, Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas, Ltda., PR, BR),

sendo a agulha cortada na extensão de 4,0 mm de sua base de plástico, preservando-se 4,0 mm desta, que foi empregada para sustentar a cânula em uma prótese cirúrgica que será descrita mais adiante. Protetores internos para as cânulas foram confeccionados a partir de um fio de aço inoxidável para ortodontia no. 5 (Nmartins, PR, BR) (Fig. 3).



Figura 3 - Representação fotográfica da cânula para administração intracerebroventricular (icv) em ratos e o pino de proteção interna.

5.5. Eletrodos e cabo de conexão

O registro da atividade cerebral (eletroencefalografia) em animais foi feito por meio de fio de aço inoxidável com 250 μm de diâmetro externo (Stablohm 650 H-Poly Red, Califórnia Fine Wire Company, Grover City, CA, USA) revestido de material isolante exceto em 2 mm de sua extremidade final (Fig. 4).

Três destes fios com aproximadamente 2 cm de comprimento foram soldados em três unidades respectivas de soquete para circuito integrado (barra de pinos torneada, Trancham S/A Indústria e Comércio, BSPT 50 pinos, SP, BR), viabilizando três polos, dois dos quais (os externos) foram empregados para a captação da atividade cerebral por meio de uma pequena porção, em torno de 2 mm, não isolada do eletrodo soldada em parafusos afixados bilateralmente na calota craniana sobre o osso parietal posterior, o mais próximo possível ao osso temporal do rato. O eletrodo central foi empregado como pólo indiferente, que foi introduzido subcutaneamente na região cervical posterior em procedimento cirúrgico descrito a seguir. Foi utilizada uma derivação bipolar para a captação dos sinais eletrofisiológicos provindos destes eletrodos.

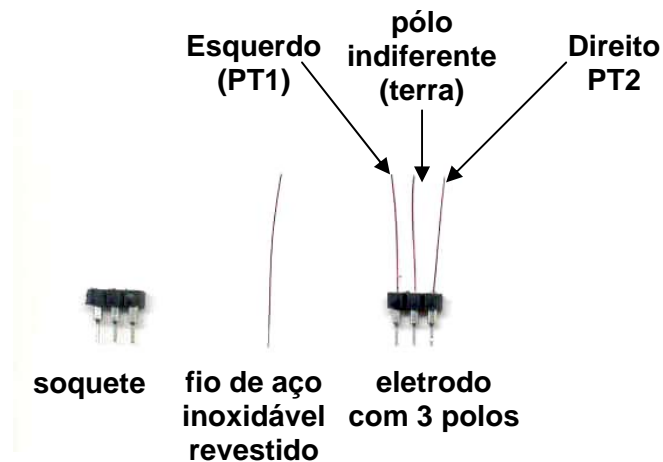


Figura 4 - Representação fotográfica do eletrodo de 3 polos para registro eletroencefalográfico em ratos.

Foi também confeccionado um cabo de conexão apresentando em uma de suas extremidades um soquete com três orifícios, feito do mesmo material para circuito integrado empregado na confecção dos eletrodos, o qual era conectado ao eletrodo de três polos implantado na cabeça dos animais. A outra extremidade do cabo de conexão era conectada ao pré-amplificador e assim ao sistema para registros eletrofisiológicos, descrito acima (Fig. 5).

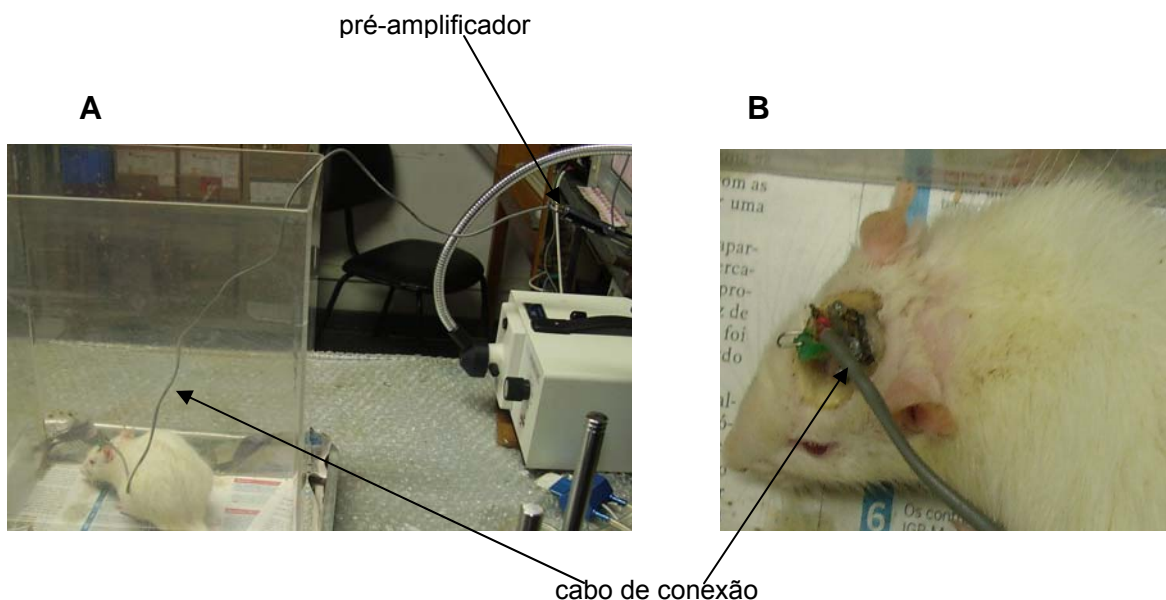


Figura 5 – Rato com os eletrodos implantados na transição têmporo-parietal bilateral conectado ao pré-amplificador (haste em preto no canto superior direito da figura) por meio de um cabo de conexão (A). Cabo de conexão conectado ao eletrodo de 3 pólos na cabeça do animal (B).

5.6. Procedimentos

5.6.1. Cirurgia Estereotáxica

Os animais foram anestesiados por administração intraperitoneal de hidrato de cloral a 10 % (400 mg/kg), submetidos à tricotomia da parte superior da cabeça e, em seguida, tiveram suas cabeças fixadas no aparelho estereotáxico (Modelo 51600 Stoelting, IL, USA). Após anestesia local adicional por meio de um botão subcutâneo com 0,2 ml de lidocaína a 1% com epinefrina, era realizada uma incisão elíptica na pele e tecido subcutâneo da região do vértex, com exposição do crânio e localização do bregma (Fig. 6).

Subseqüentemente eram realizadas limpeza e secagem da região exposta e perfuração do osso por intermédio de uma mini-furadeira (Dremel multipro + Kit, Stoelting, IL, USA), na localização do ventrículo lateral (B: - 0,3 mm, AP: -1,3 mm e L: - 4 mm) no qual foi implantada a cânula acima descrita (Fig. 3 e 7), e em outros quatro pontos: dois anteriores, para colocação de parafusos de aço inoxidável (0,8 x 1,8 mm, MX-080-2FL, Small Parts Inc., FL, USA) que serviram para fixar a prótese cirúrgica (Fig. 7A); e dois nas transições parieto-temporais bilateralmente, para colocação de outros dois parafusos nos quais eram soldados os eletrodos para obtenção de registro eletroencefalográfico mas que também serviram de adjuvantes da fixação da prótese cirúrgica (Fig. 7A e B). Por fim o campo cirúrgico foi preenchido por resina acrílica auto-polimerizável de secagem rápida (Polímero de metil metacrilato, JET, São Paulo, Brasil), soldando as peças em uma prótese sólida (Fig. 7C e D).



Figura 6 - Animal anestesiado (cloral hidratado 400 mg/kg ip), posicionado no estereotáxico e com a área cirúrgica já limpa evidenciando o bregma que serviu de referência para o implante da cânula intracerebroventricular (B: - 0,3 mm, AP: -1,3 mm e L: - 4 mm).

Ao final da cirurgia, os animais recebiam 24.000 UI de penicilina G benzatina intramuscular como agente profilático de infecção, eram mantidos em ambiente aquecido durante o período de recuperação anestésica antes de serem devolvidos à suas gaiolas-casa individuais.

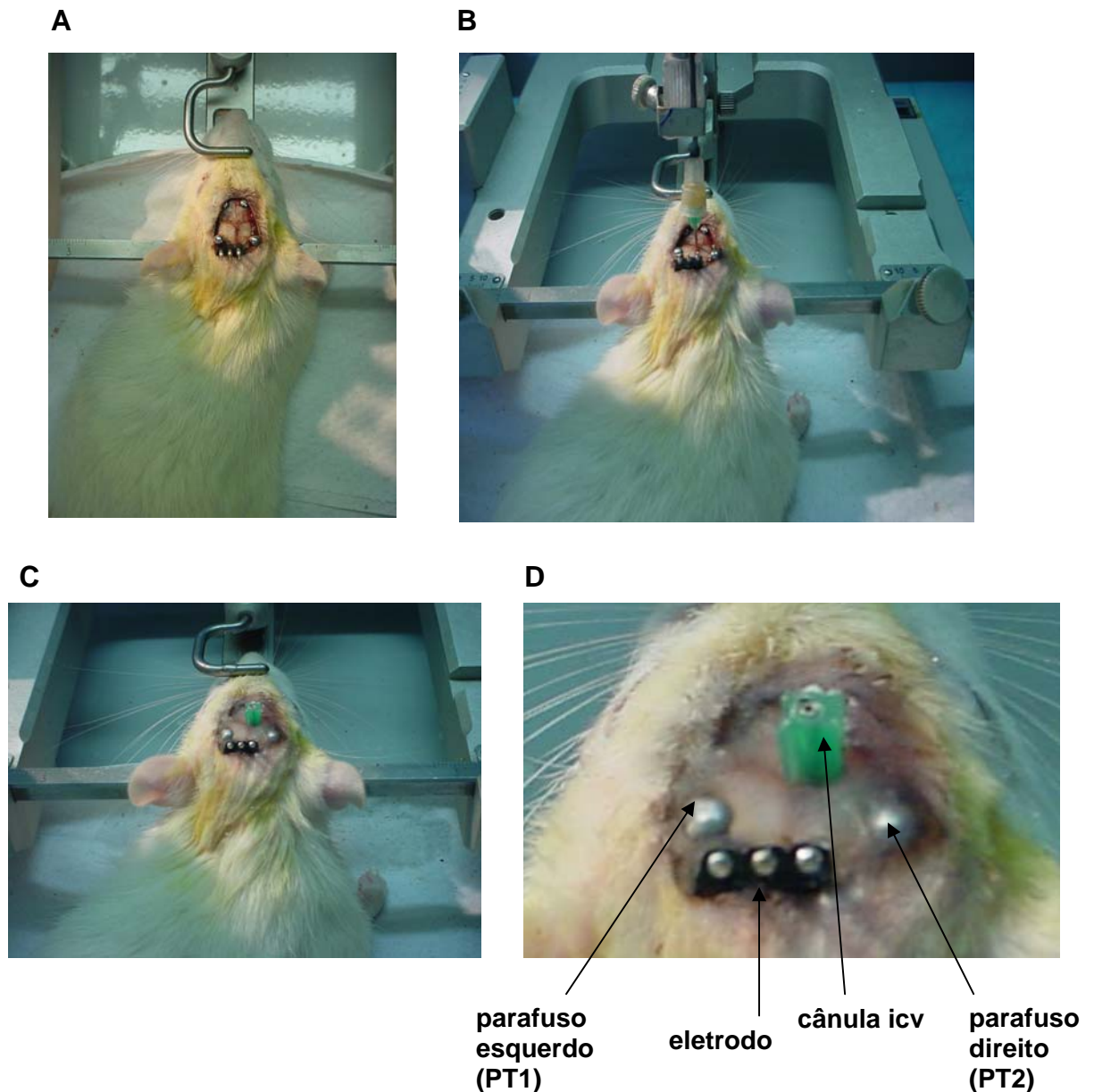


Figura 7 - Calota craniana com o posicionamento dos quatro parafusos e do eletrodo de 3 polos para registro de eletroencefalografia (A). Implantação da cânula intracerebroventricular (B). Prótese cirúrgica finalizada (C) com a cânula no ventrículo lateral (verde) e eletrodo de três polos para registro eletroencefalográfico (preto) (D).

5.6.2. Administração de drogas

Após um período mínimo de sete dias para recuperação cirúrgica foi dado início as administrações das drogas para a verificação dos efeitos do $MgSO_4$ (32, 100 ou 320 μg) ou SAL administrados centralmente (icv) sobre os diferentes tipos de convulsões induzidos pela administração sistêmica (ip) do PTZ (60 mg/kg).

Para as administrações icv era utilizada uma cânula de infusão confeccionada a partir de um cateter de 22 GA (Becton, Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda, MG, BR), adaptada de tal forma a se projetar 1 mm da extremidade da cânula implantada no ventrículo lateral. Esta cânula de infusão era conectada a uma cânula de polietileno (PE 50), que por sua vez estava conectada a uma seringa Hamilton (Stoelting 53431, CO., IL, USA) de 10 µl. O volume total de 5 µl e a velocidade de infusão, que possibilitasse um tempo total de 60 segundos de infusão, foram determinados manualmente com o auxílio de cronômetros.

O PTZ foi administrado ip em um volume de 0,1 ml/100 g do peso corporal.

5.6.3. Registro Eletroencefalográfico (EEG)

Foi realizado EEG de todas as 65 sessões experimentais, através de um sistema de registro eletrofisiológico já descrito acima. Utilizou-se derivação bipolar entre a transição parieto-temporal esquerda (PT1) e a transição parieto-temporal direita (PT2). Em geral foram obtidos registros com boa qualidade técnica, estando o animal em vigília.

O registro era feito durante todo o experimento, cerca de 40 minutos, só sendo interrompido para a administração das drogas.

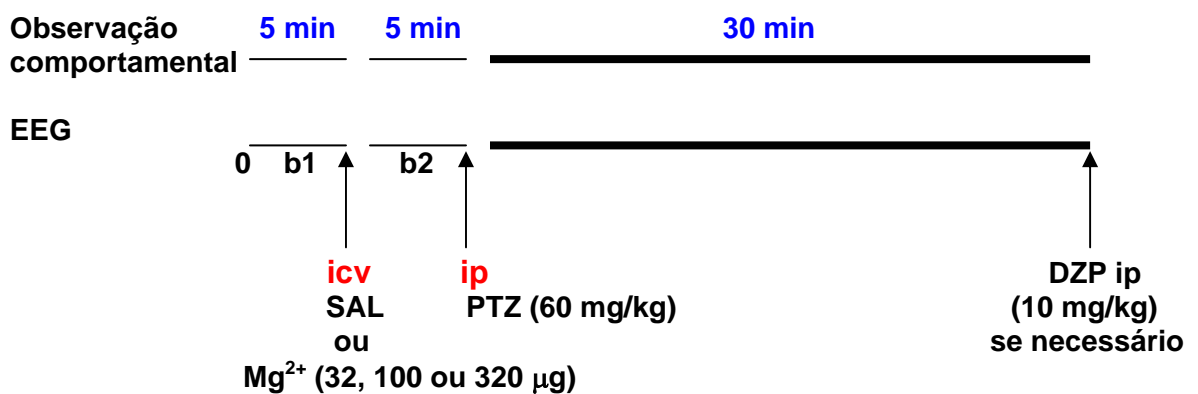
Procedeu-se análise em tempo real, comparando o registro eletroencefalográfico com a análise comportamental dos animais, o que possibilitou a caracterização das crises induzidas pelo pentilenotetrazol em ratos e sua modificação pelo uso de sulfato de magnésio intracerebroventricular.

5.6.4. Protocolo Experimental

No dia da seção experimental, após a conexão do cabo do aparelho eletrofisiológico ao eletrodo na cabeça do animal, o mesmo era mantido em sua própria gaiola-casa de acrílico para obtenção de registro eletroencefalográfico de base (basal 1) por 5 minutos (Fig. 7).

Após esta leitura basal, o animal era desconectado do aparelho e retirado de sua gaiola cuidadosamente, para receber a infusão icv de SAL ou uma das doses do MgSO₄. A escolha das doses foi feita segundo uma ordem estabelecida previamente por um quadrado latino.

Após receber a administração icv, o animal era retornado para sua gaiola-casa e reconectado ao aparelho, onde era observado clinicamente por mais 5 minutos. Simultaneamente era obtido novo registro eletroencefalográfico de base (basal 2).



EEG = registro eletroencefalográfico
b1 = registro basal 1
b2 = registro basal 2
icv = administração intracerebroventricular
ip = administração intraperitoneal
SAL = salina
PTZ = pentilenotetrazol
Mg²⁺ = sulfato de magnésio
DZP = diazepam

Figura 8 – Representação esquemática do protocolo experimental.

A observação comportamental era feita por dois experimentadores empregando um formulário padronizado (anexo 1) elaborado especificamente para este protocolo experimental, e um terceiro experimentador realizava o controle do aparelho e a leitura do registro no computador.

Vale ressaltar que era realizada apenas uma sessão experimental por dia para cada animal, sendo respeitado um intervalo mínimo de 10 dias entre cada administração para evitar o abrasamento químico com o PTZ.

Também é necessário mencionar que cada animal era submetido ao máximo de sessões experimentais, que no protocolo em questão eram em número

de 4, observando-se os princípios éticos de experimentação com animais, procurando evitar o sofrimento doloroso dos mesmos, excetuando-se as convulsões que foram o objeto do estudo.

Assim, 32 animais com prótese cirúrgica constituíram quatro grupos experimentais: um grupo SAL (n = 16), um grupo magnésio (Mg) 32 (n = 16), um grupo Mg 100 (n = 16) e um grupo Mg 320 (n = 17). Foram realizadas um total de 65 sessões experimentais. Sempre que possível, cada animal era submetido a todas as administrações de MgSO₄ ou SAL.

Observe-se que os grupos experimentais não foram constituídos integralmente pelos mesmos animais visto que um animal era imediatamente substituído caso não resistisse às convulsões ou caso a prótese fosse danificada, o que não permitiu, ao final, considerar as amostras como sendo dependentes. Desta forma, considerou-se o delineamento experimental como sendo de amostras independentes.

Além disso, caso os animais mantivessem convulsões após o encerramento da sessão experimental, era realizada a administração do Diazepam ip na dose de 10 mg/kg para reverter as convulsões e com isso evitar a morte do animal ou seqüelas neurológicas, dentre elas a epilepsia secundária ao estado de mal epilético.

5.6.5. Localização da cânula icv

Ao final dos experimentos, os animais receberam administração icv de 5 µl de azul de metileno a 1% (Biotec, PR, Brasil), sob anestesia com hidrato de cloral (400 mg/kg) administrados por via ip. Em seguida foram sacrificados por sobredose de anestésico e suas cabeças foram removidas após perfusão intracardíaca, com solução salina seguida de solução de formaldeído a 8%. Os cérebros removidos foram conservados em formol a 8% por no mínimo 48 h. Após esse período os cérebros foram seccionados em cortes de aproximadamente 20-40 µm de espessura com auxílio de um vibrátomo (série 1000 Plus – Sistema de Secção Tissular, St. Louis, MO, EUA). Os cortes foram corados com vermelho neutro e as localizações das cânulas puderam ser visualizadas por meio de microscópio óptico.

5.6.6. Análise de Resultados

A **latência de início** das crises, o **período de crises**, ambos dados em segundos, e a **freqüência** das crises foram registradas e representadas pela média e desvio padrão da média (d.p.).

O termo latência de crises aqui se refere ao tempo decorrido entre a aplicação de PTZ ip e o início das primeiras manifestações de crises convulsivas. Considerou-se o tempo de observação estabelecido neste protocolo de 30 minutos ou 1800 segundos, como latência máxima na não ocorrência de crise.

O período de crises foi calculado pela subtração do valor obtido no cronômetro digital no encerramento da última crise convulsiva pelo valor obtido na latência para o início da manifestação da primeira crise convulsiva. Desta forma, se a latência para o início das crises aumentou e a última crise terminou precocemente, menor foi o tempo em que o animal permaneceu em crises convulsivas e, provavelmente menores os danos cerebrais subseqüentes.

A freqüência de cada tipo de crise foi equivalente ao número de ocorrências de cada tipo de crise durante os 30 minutos subseqüentes à aplicação ip do PTZ.

Estes dados foram analisados através de análise de variância (ANOVA) de uma via para medidas independentes seguida do teste de Tukey para a localização das diferenças estatisticamente significantes. Para todas as análises foi adotado um nível de significância estatística para $p < 0,05$ (Zar, 1999).

O programa de estatística e gráficos "*GraphPad Prism*" versão 4.0 foi empregado para as análises estatísticas e confecções gráficas.

6. RESULTADOS

6.1. Caracterização das crises convulsivas induzidas pelo PTZ ip: registro EEG e observação comportamental

Como já foi mencionado, o EEG era realizado por intermédio da conexão do eletrodo afixado pela prótese cirúrgica na cabeça do animal com o aparelho para obtenção de registro eletrofisiológico.

Em todos os casos foi feita correlação eletro-clínica, ou seja, análise combinada do EEG com o comportamento apresentado pelo animal. Em alguns casos foi realizado registro de vídeo das manifestações epiléticas.

Conforme referido anteriormente, cada animal foi observado clinicamente por 40 minutos durante o experimento. O tempo era controlado com o auxílio de um cronômetro digital.

Os primeiros 5 minutos eram utilizados para que o animal se habituasse ao ambiente experimental, e principalmente para que se pudesse observar o seu comportamento inicial, bem como o seu EEG de base, antes da utilização de qualquer droga. Vale ressaltar que o experimento era realizado na própria gaiola-casa do animal e somente a sala do experimento era diferente do local de armazenagem dos animais. A atividade eletroencefalográfica de base que era esperada para um registro de regiões cerebrais anteriores em vigília caracteriza-se por ritmo beta (Fig. 9).

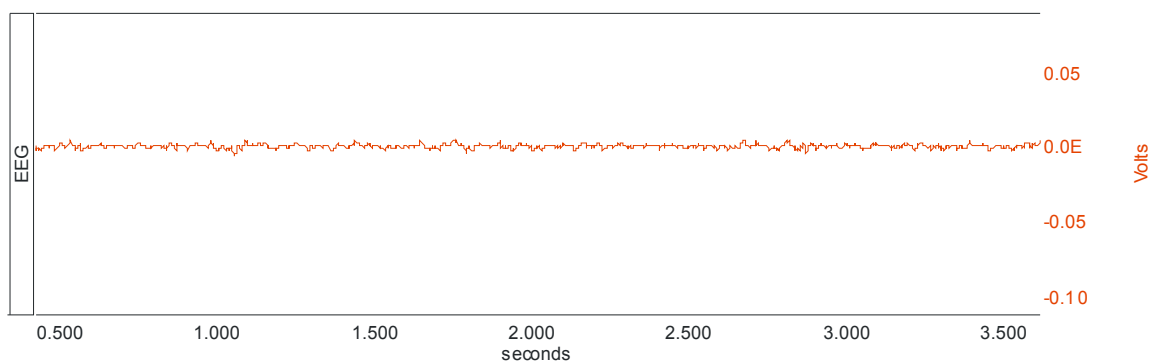


Figura 9 – Amostra inicial do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), com atividade de base caracterizada por ritmo beta.

A observação nos cinco minutos subseqüentes visava detectar alterações do comportamento inicial do animal, bem como da atividade elétrica cortical, após a administração icv de MgSO₄ (Fig. 10) ou de SAL (conforme pré-estabelecido pelo quadrado latino).

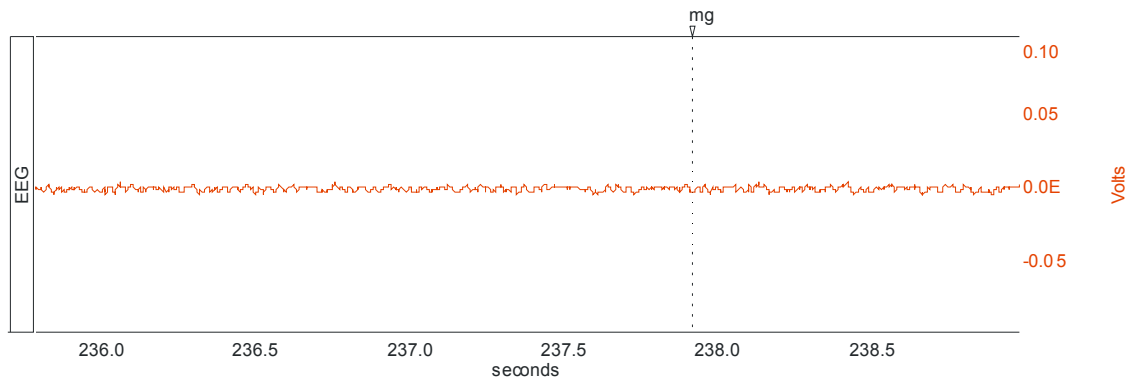


Figura 10 – Amostra do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), logo após a administração de qualquer uma das doses do MgSO₄ (linha vertical pontilhada) com atividade de base caracterizada por ritmo beta.

Nos 30 minutos restantes, após a administração do PTZ ip, eram observados simultaneamente as respostas comportamentais e o EEG de cada animal, e conforme descrito em literatura, foi possível observar diversos tipos de crises. Estes tipos de crises serão detalhados a seguir e estão sumarizados na tabela 2.

Dentre as crises parciais pudemos observar dois tipos de **crises parciais complexas**: a **parada comportamental** e o **espreitamento** (Fig. 11).

Durante a resposta de **parada comportamental** o animal permanecia congelado, com exoftalmia, e não modificava este comportamento com estímulos externos visuais ou auditivos, assim um estímulo que normalmente evocaria manobras evasivas não desencadeava qualquer reação no animal.

A resposta de **espreitamento** era caracterizada por atividade exploratória exagerada, anormal, repetitiva e que se mantinha independente dos estímulos externos. Nesta resposta o animal realizava locomoção cautelosa com projeção da cabeça para frente e ligeiramente para cima, envolvendo extensão do pescoço e de todo corpo, e realizando movimentos laterais e verticais lentos da cabeça, geralmente acompanhados de olfação, com o olhar bastante atento, como se procurasse ou espreitasse algo (Penna, 1996). Em geral, esse tipo de crise era

acompanhado por automatismos de patas anteriores e de auto-limpeza repetitiva do focinho. O EEG, nesses dois tipos de crises, evidenciou atividade epileptiforme do tipo complexo onda aguda-onda lenta ritmada, e por vezes, atividade teta ictal.

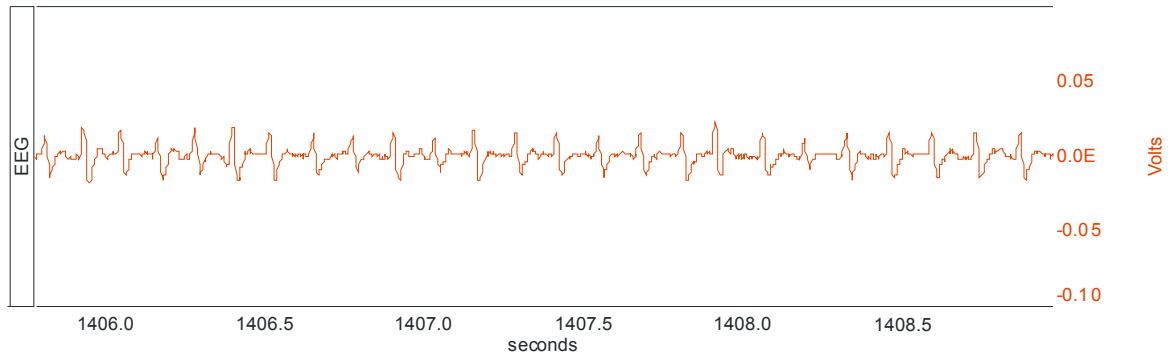


Figura 11 – Amostra do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), a partir de 1406 segundos do início da sessão experimental de animal do grupo salina, durante crise parcial complexa, manifestada clinicamente por espreitamento, onde se observa atividade epileptiforme do tipo complexo: onda aguda-onda lenta ritmada.

Foram também observadas **crises generalizadas** do tipo **mioclônica, tônica, clônica e tônico-clônica**. Além de **crises focais com generalização secundária**.

As crises **mioclônicas** eram vistas como abalos musculares bruscos e breves de vários músculos, que faziam o animal dar pequenos saltos, como se tivesse levado um susto. Eletrograficamente eram vistas pontas-ondas e polipontas-onda de forma ritmada (Fig. 12).

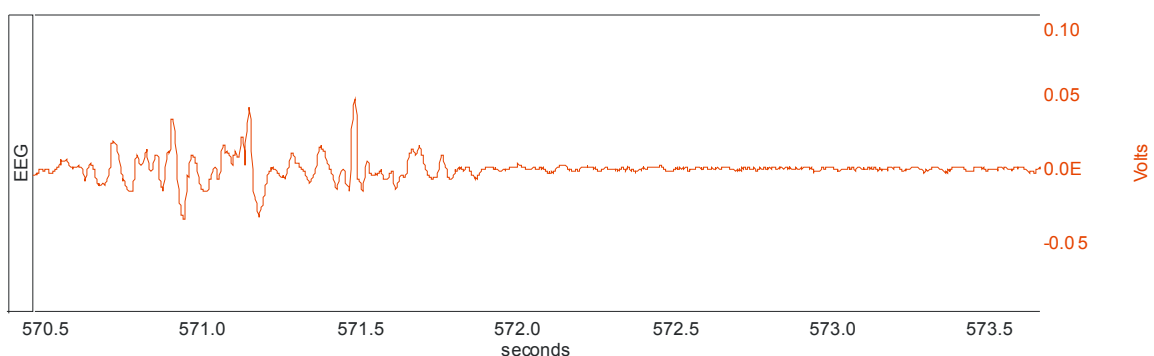


Figura 12 – Amostra do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), a partir de 570 segundos do início da sessão experimental de animal do grupo Mg320, durante crise mioclônica, onde se observa atividade epileptiforme do tipo polipontas-onda.

Durante as crises **tônicas** os animais se apresentavam com contração tônica sustentada, não vibratória dos músculos acometidos, geralmente caracterizada por hiperextensão dos membros e do pescoço. O EEG desse tipo de crise mostrava poliespículas rítmicas de alta frequência (Fig.13).

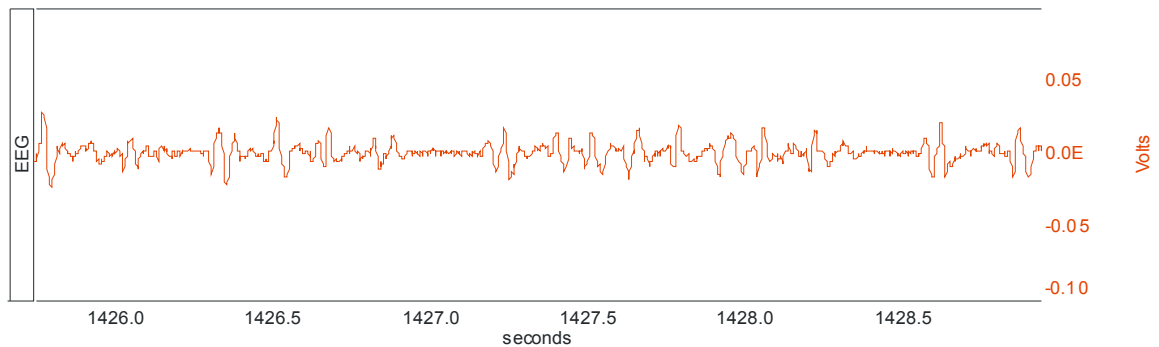


Figura 13 – Amostra do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), a partir de 1426 segundos do início da sessão experimental de animal do grupo salina, durante crise tônica, onde se observa atividade epileptiforme do tipo poliespículas rítmicas de alta frequência.

Já nas crises **clônicas generalizadas** era observado padrão típico de contração seguida de relaxamento muscular seriados acometendo os quatro membros. O EEG evidenciava atividade epileptiforme ritmada caracterizada por poliespícula-onda lenta (Fig.14).

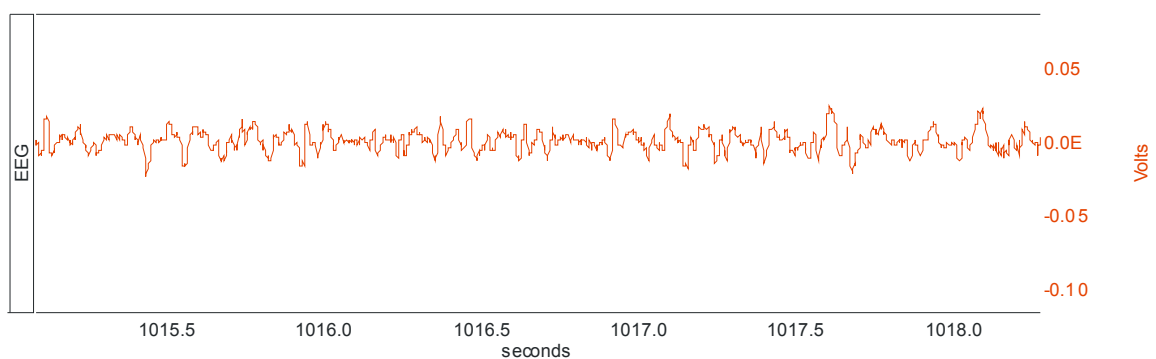


Figura 14 – Amostra do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), a partir de 1015 segundos do início da sessão experimental de animal do grupo salina, durante crise clônica, onde se observa atividade epileptiforme do tipo poliespícula-onda lenta.

As crises **tônico-clônicas generalizadas** frequentemente se iniciavam por uma sucessão de abalos musculares generalizados, breves, com duração de segundos. Esses instantaneamente eram substituídos por uma contração tônica generalizada e posteriormente por abalos ritmados generalizados. A manifestação eletrográfica se iniciava com atividade epileptiforme do tipo onda aguda-onda lenta ritmada, com frequência gradativamente maior, substituída por poliespículas rítmicas de alta frequência, que davam lugar à atividade epileptiforme poliespícula-onda lenta ritmada (Fig. 15).

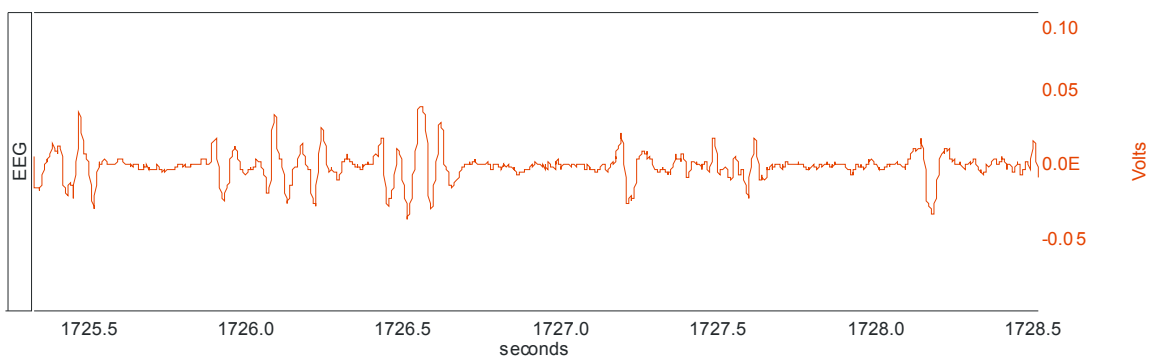


Figura 15 – Amostra do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), a partir de 1725 segundos do início da sessão experimental de animal do grupo salina, durante CTCG, onde se observa atividade epileptiforme do tipo poliespícula onda lenta ritmada.

Foram classificadas como **crises parciais com generalização secundária**, aquelas em que o animal apresentou comportamento de crise parcial (espreitamento, parada comportamental) e imediatamente evoluiu com crise tônico-clônica generalizada. O eletroencefalograma nesses tipos de crise evidenciava atividade ponta-onda ritmada e, às vezes ritmo teta ictal seguidos do padrão eletrográfico típico da crise tônico-clônica generalizada (Fig. 16).

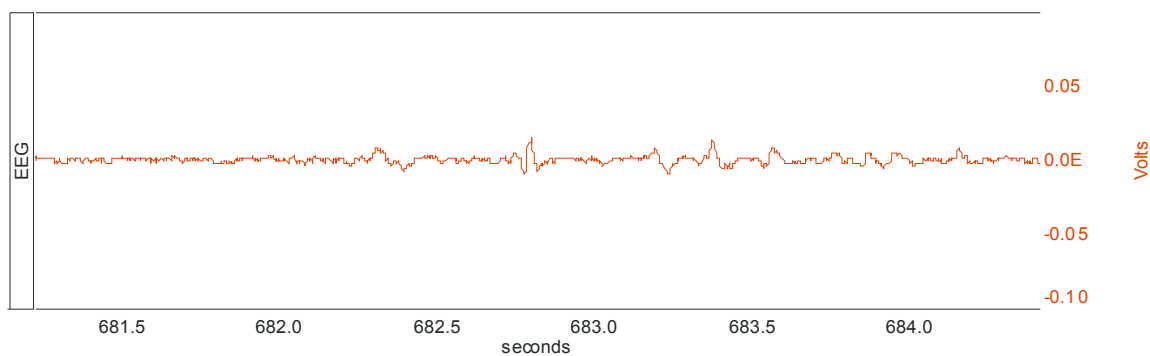


Figura 16 – Amostra do registro eletroencefalográfico bipolar (PT1-PT2), a partir de 681 segundos do início da sessão experimental de animal do grupo salina, durante crise parcial com generalização secundária, onde se observa atividade epileptiforme do tipo complexo ponta-onda ritmada entremeada por ritmo teta ictal.

Durante as crises tônicas e tônico-clônicas generalizadas, o animal geralmente se apresentava cianótico e com hipersalivação.







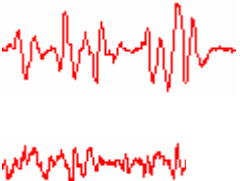

No período pós-ictal, cuja duração e magnitude clínica dependia do tipo de crise e de sua duração, observou-se cessação da crise além de diminuição da atividade global associada à hipotonia generalizada, e por vezes o animal dormia.

Raramente foi observada liberação esfinteriana com emissão de urina e/ou fezes. Se a crise fosse parcial e rápida, geralmente só era observado retorno ao padrão de comportamento habitual do animal. Em quaisquer das hipóteses, o EEG era caracterizado inicialmente por onda lentas na faixa teta e/ou delta e, subsequente, por atenuação do traçado. A duração e intensidade dessas alterações eletrográficas, porém, eram dependentes das características da crise que as precedia.

Dois animais que receberam injeção icv de solução salina seguido de PTZ ip, morreram durante o experimento. Um deles morreu após 14 minutos em virtude de crise tônico-clônica generalizada que havia se iniciado aos 112 segundos. O mesmo animal havia apresentado antes 10 crises mioclônicas, a partir dos 76 segundos de observação após o PTZ. O outro animal havia iniciado com crises do tipo espreitamento aos 110 segundos após PTZ, tendo apresentado duas crises de espreitamento, 23 crises mioclônicas, 1 crise tônico-clônica generalizada e uma crise focal com generalização secundária que se iniciou aos 8 minutos e 19 segundos e terminou aos trinta minutos com a morte do animal.

Nos dois casos de morte descritos acima, o eletroencefalograma apresentou-se isoeletrico, confirmando a morte cerebral dos animais.

Tabela 2 – Caracterização das crises induzidas pela administração intraperitoneal do pentilenotetrazol de acordo com o padrão de registro eletroencefalográfico (EEG) correspondente.

Tipos de crise	Resposta comportamental	Padrão EEG	EEG	
<i>basal 1</i>	Repouso ou atividade exploratória	Ritmo beta		
<i>basal 2</i>	Repouso ou atividade exploratória	Ritmo beta		
Parciais complexas	Parada comportamental	Congelamento e exoftalmia	Tipo complexo: onda aguda-onda lenta ritmada, por vezes, atividade teta ictal	
	Espreitamento	Atividade exploratória estereotipada		
Generalizadas	Mioclônica	Abalos musculares bruscos e breves	Pontas-onda e polipontas-onda ritmadas	
	Tônica	Contração tônica sustentada (hiperextensão dos membros e pescoço)	Poliespículas de alta frequência	
	Clônica	Contração – relaxamento seriado dos quatro membros	Poliespícula-onda lenta	
	Tônico-clônica	Abalos musculares seguidos por contração tônica generalizada e posteriormente abalos ritmados	Onda aguda-onda lenta ritmada com frequência gradativamente maior, substituída por poliespículas rítmicas de alta frequência seguida de poliespícula-onda lenta ritmada	
Focais com generalização secundária	Crise parcial que evoluiu para tônico-clônico generalizada	Ponta-onda ritmada e às vezes ritmo teta ictal seguido do padrão típico de crise tônico-clônica		

6.2 – Avaliação comportamental e eletroencefalográfica após administração de drogas

Durante os primeiros cinco minutos a imensa maioria dos animais não mostrou comportamento diferente do habitual. Passado o estresse inicial da conexão do eletrodo ao aparelho de eletroencefalograma, os animais geralmente faziam um reconhecimento inicial da gaiola-casa e depois se mantinham calmos, ora deitados, ora apoiados nas patas trazeiras fazendo a auto-limpeza com as patas dianteiras, depois voltavam a percorrer a gaiola de acrílico. Nenhum animal apresentou alteração inicial da atividade elétrica de base esperada, ou seja, de ritmo beta.

Nenhum dos animais apresentou alteração do comportamento após administração de $MgSO_4$ icv, não havendo nenhuma diferença entre as doses utilizadas (32 μg , 100 μg ou 320 μg) e o controle com a SAL. Assim não foram observados efeitos de hipotonia, hipoatividade e/ou sedação, muito menos diminuição da frequência respiratória (observada pelos movimentos tóraco-abdominais), geralmente observados quando da administração sistêmica do $MgSO_4$ (Krauss et al, 1989). Também não foram observadas alterações de comportamento após a administração icv de SAL.

O registro encefalográfico após a infusão icv via de regra também não se alterou, independente da dose de $MgSO_4$ utilizada ou da SAL.

Um único animal, logo após receber injeção de $MgSO_4$ icv na dose de 320 μg , apresentou atividade epileptiforme do tipo onda aguda-onda lenta no EEG, que apesar de repetitiva não caracterizou crise eletrográfica. Na observação comportamental este animal apresentou, durante esse período de alteração eletroencefalográfica, que durou cerca de 10 segundos, comportamento atípico, tendo se mantido parado.

Após a administração ip do PTZ ocorreram crises parciais complexas (espreitamento e parada comportamental) e crises generalizadas de diversos tipos: mioclônicas, tônicas, clônicas e tônico-clônicas. Também foram observadas crises parciais com generalização secundária.

Nenhuma das 65 sessões experimentais cursou com crises generalizadas do tipo ausência, o que provavelmente se justifica pela dose utilizada de PTZ

neste protocolo. Modelos experimentais para crises desse tipo normalmente se utilizam de doses mais baixas do referido agente epileptogênico.

Houve uma única sessão experimental em que o animal recebeu MgSO_4 icv na dose de 32 μg e apresentou crise de atonia muscular generalizada cerca de 110 segundos após o PTZ, que durou trinta segundos, e durante a qual o animal inicialmente tentou se mover se arrastando, depois permaneceu imóvel e completamente alheio ao meio exterior. Esse animal havia iniciado as manifestações com crises mioclônicas a partir de 56 segundos da injeção de PTZ, tendo tido 8 crises esparsas, seguidas da crise de atonia descrita e, a partir do sexto minuto de observação não apresentou nenhuma outra alteração clínica ou eletroencefalográfica.

Um animal que recebeu injeção icv de MgSO_4 320 μg , apresentou durante os primeiros cinco minutos subseqüentes à administração de PTZ ip descargas epileptiformes interictais. Este mesmo animal se apresentou ansioso e trêmulo, mas sem crises epiléticas eletro-clínicas até se completarem cerca de 9 minutos de observação, quando então evoluiu com crises mioclônicas esparsas e com uma crise tônico-clônica generalizada que durou 13 segundos. Sabe-se que doses baixas de PTZ são utilizadas para modelos experimentais de ansiedade o que poderia explicar o comportamento inicial do animal em questão.

Além do animal referido acima, outros dois apresentaram descargas interictais após a administração ip do PTZ: um do grupo SAL e outro do grupo Mg 32. No primeiro animal as crises se iniciaram após 111 segundos da administração do PTZ e totalizaram 50 crises mioclônicas. No segundo animal, as crises se iniciaram aos 93 segundos, tendo sido 11 crises mioclônicas e outras três crises parciais complexas caracterizadas por comportamento estereotipado do tipo espreitamento, que duraram: 8, 51 e 102 segundos, respectivamente. Em ambos os animais, após cerca de 16 minutos da aplicação do PTZ nenhuma outra crise foi registrada. Ressalte-se que nenhum animal do grupo Mg 100 apresentou alterações eletroencefalográficas interictais.

Dentre as 65 sessões experimentais realizadas, apenas 6 casos não apresentaram crises e/ou alterações eletroencefalográficas. Cinco deles pertenciam ao grupo Mg 100 e o outro ao grupo Mg 32. No entanto, todas as sessões experimentais nas quais foram administradas SAL ou MgSO_4 320 μg icv seguidos do PTZ ip cursaram com crises convulsivas e/ou alterações eletroencefalográficas.

Como veremos detalhadamente mais adiante, essas observações refletem os resultados gerais do estudo, uma vez que os animais que receberam $MgSO_4$ nas menores doses, ou seja, 32 ou 100 μg icv seguido de PTZ ip apresentaram, de um modo geral, aumento de latência para o início e/ou redução do número de alguns tipos de crises, bem como de sua duração, enquanto que a dose maior (320 μg) do $MgSO_4$ icv não modificou, ou até mesmo em alguns casos, tendeu até a agravar alguns tipos de crise.

Por exemplo, um animal que havia recebido $MgSO_4$ 320 μg icv seguido de PTZ ip apresentou crise tônico-clônico generalizada tão exuberante que resultou em um salto para fora da gaiola-casa e conseqüente desconexão do eletrodo ao aparelho de obtenção de registro eletroencefalográfico. Esse animal apresentou 248 crises mioclônicas, 1 crise parcial complexa (espreitamento), uma crise focal com generalização secundária e 2 crises tônico-clônicas generalizadas, tendo necessitado de DZP ip ao final do experimento.

Outros quatro animais necessitaram DZP ip ao final do experimento porque as crises perduravam: um animal do grupo SAL, um do grupo Mg 32, um do grupo Mg100 e um outro que também pertencia ao grupo Mg 320.

Vale ressaltar que a qualidade do registro eletroencefalográfico em geral foi excelente, exceção feita aos raros casos de perda da prótese cirúrgica ao final do experimento, ou por frouxidão na conexão do eletrodo ao cabo do aparelho de EEG, ou ainda por quebra do eletrodo durante as crises.

6.3 – Efeito do $MgSO_4$ icv na latência de crises convulsivas induzidas pelo PTZ ip em geral:

Conforme ilustra a figura 17, a administração de $MgSO_4$ icv resultou em aumento da latência para a primeira crise convulsiva, independente do tipo de crise, produzindo um padrão de curva em “U” invertido, sendo que o efeito foi mais pronunciado na dose intermediária, ou seja, de 100 μg .

A ANOVA de 1 via detectou diferenças estatisticamente significantes entre as doses [$F(3,60) = 3,093$, $p = 0,033$], sendo a latência para a primeira crise sob tratamento com a dose de 100 μg do $MgSO_4$ significativamente maior ($p < 0,05$) comparado ao tratamento com SAL. As doses de 32 e 320 μg de $MgSO_4$ também

resultaram em aumento da latência de crises, especialmente a menor dose, porém não de forma estatisticamente significante.

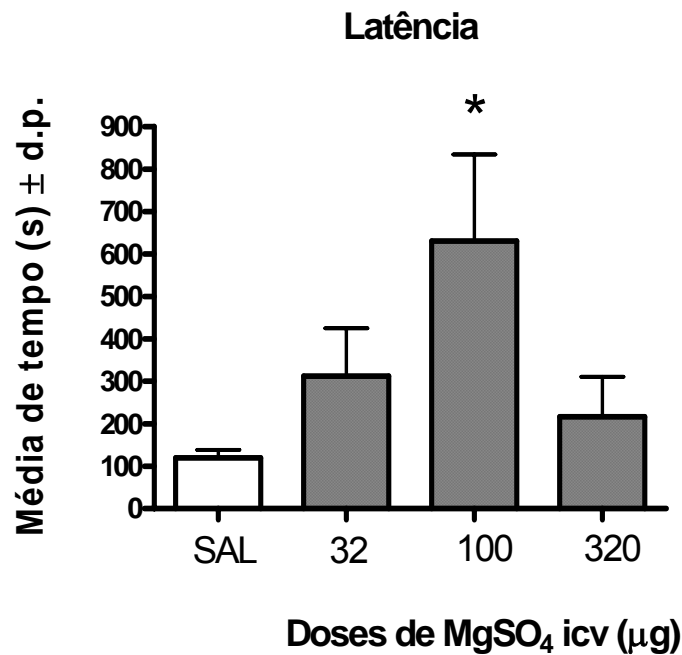


Figura 17 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO₄ 32, 100 e 320 µg) sobre a latência para a primeira crise convulsiva induzida pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ). * p < 0,05 comparado à SAL.

6.4 – Efeito do MgSO₄ icv sobre o período de crises convulsivas induzidas pelo PTZ ip:

A figura 18 representa os efeitos da administração de MgSO₄ icv sobre o período de crises convulsivas. Este parâmetro corresponde ao interstício de tempo entre a latência para a primeira crise e o término da manifestação da última crise, independente do tipo de crise. Portanto, refere-se ao período em que os animais apresentaram crises, independente do tipo, da quantidade e da intensidade, no intervalo total de 30 minutos. Como ilustra a figura 18, este parâmetro apresentou um padrão de curva em “U”, sendo que o efeito novamente foi mais pronunciado na dose intermediária, ou seja, de 100 µg.

A ANOVA de 1 via detectou diferenças estatisticamente significantes entre as doses [F(3,59) = 5,119, p = 0,003], sendo o período de crise sob o tratamento

com a dose de 100 μg do MgSO_4 significativamente menor comparado ao tratamento com SAL ($p < 0,05$) ou com a dose de 320 μg ($p < 0,01$) do MgSO_4 .

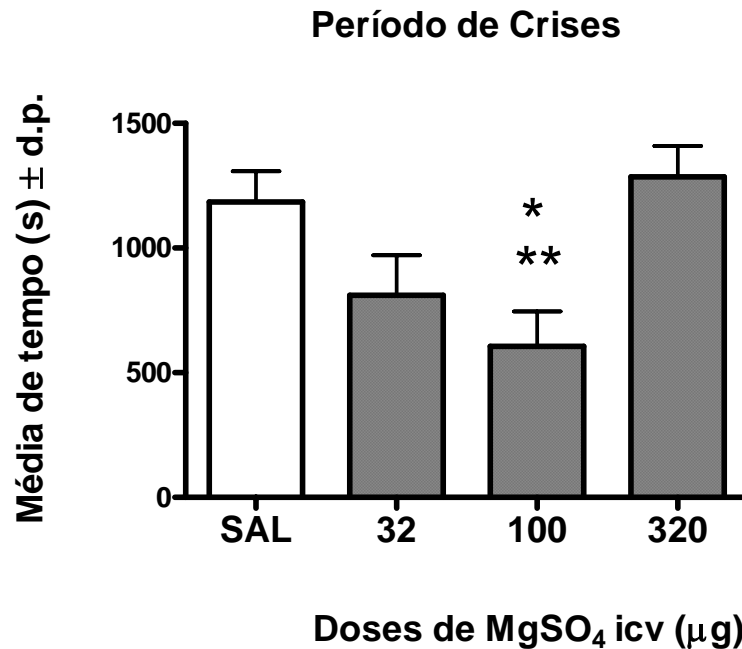


Figura 18 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO_4 32, 100 e 320 μg) sobre o período de crises convulsivas induzidas pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ). * $p < 0,05$ comparado à SAL, ** $p < 0,01$ comparado à dose de 320 μg .

Estes resultados sugerem que o MgSO_4 pode apresentar um efeito de proteção do tecido cerebral já que reduz o período de crises, porém dependendo da dose administrada intracerebroventricularmente, visto que a maior dose do composto não modificou o período de crises e ainda apresentou uma média de tempo discretamente maior que o controle SAL.

6.5. - Avaliação dos efeitos do $MgSO_4$ na ocorrência de crises generalizadas do tipo mioclônica induzidas pelo PTZ ip.

6.5.1. Efeitos do $MgSO_4$ na latência para primeira crise generalizada do tipo mioclônica induzidas pelo PTZ ip:

A administração de $MgSO_4$ icv produziu um aumento da latência para a primeira crise generalizada do tipo mioclônica, produzindo um padrão de curva em “U” invertido, sendo que o efeito foi mais pronunciado na dose intermediária, ou seja, de 100 μg (Fig. 19). Entretanto, a ANOVA de 1 via não detectou diferenças estatisticamente significantes na comparação entre as doses.

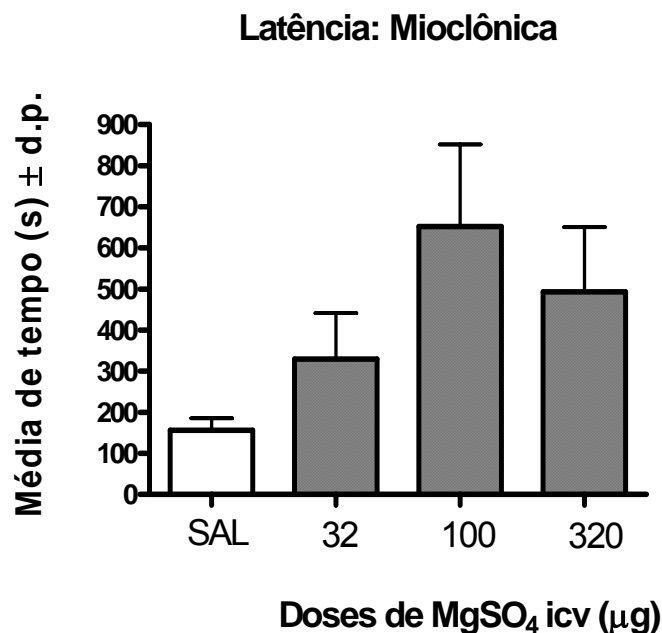


Figura 19 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio ($MgSO_4$ 32, 100 e 320 μg) sobre a latência para a primeira crise convulsiva generalizada do tipo mioclônica induzida pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.5.2. Efeitos do MgSO₄ na freqüência de crises generalizadas do tipo mioclônica induzidas pelo PTZ ip:

Já no que se refere a freqüência das crises generalizadas do tipo mioclônica, observou-se uma redução do número de crises sob um padrão de curva em “U”, sendo o tratamento com a dose de 100 µg do MgSO₄ a que produziu a menor freqüência (Fig. 20). Entretanto, a ANOVA de 1 via também não detectou diferenças estatisticamente significantes na comparação entre as doses.

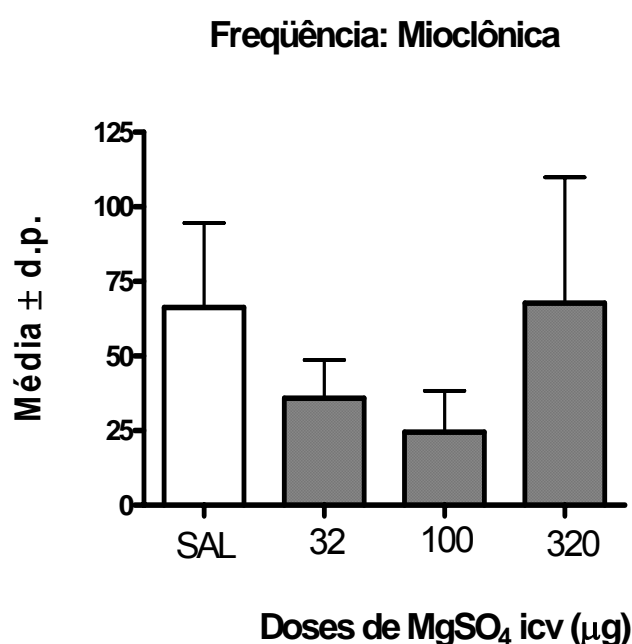


Figura 20 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO₄ 32, 100 e 320 µg) sobre o número (freqüência) de crises convulsivas generalizada do tipo mioclônica induzidas pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

Apesar de as diferenças não serem estatisticamente significantes, é válido considerar que o MgSO₄ icv, particularmente na dose de 100 µg, tendeu a aumentar a latência para o início das crises mioclônicas e além disso a diminuir o número destas crises, reduzindo os possíveis efeitos deletérios deste tipo de crise generalizada no sistema nervoso central.

6.6. - Avaliação dos efeitos do $MgSO_4$ na ocorrência de crises generalizadas do tipo tônico-clônica (CTCG) induzidas pelo PTZ ip:

6.6.1. Efeitos do $MgSO_4$ na latência para primeira CTCG induzida pelo PTZ ip:

Houve um ligeiro aumento na latência para o início de crises convulsivas do tipo tônico-clônica generalizada sob o efeito das diferentes doses do $MgSO_4$ administrado icv, especialmente na sua menor dose (32 μg) (Fig. 21). Entretanto, não houve diferenças estatisticamente significantes pela ANOVA de 1 via.

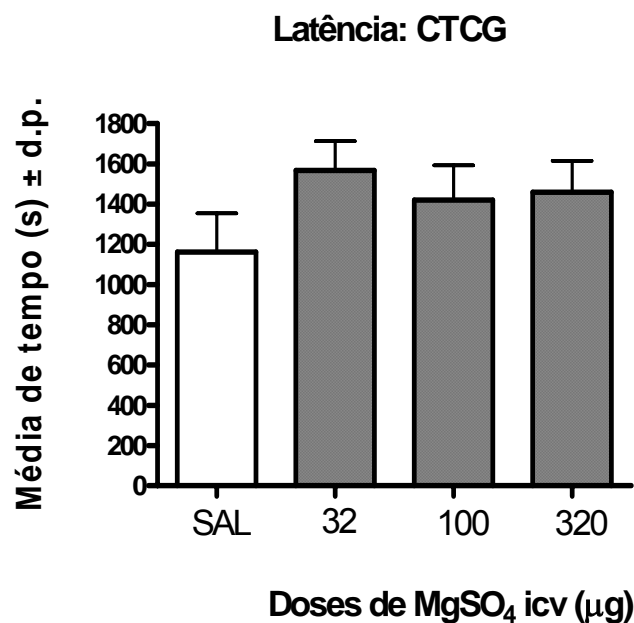


Figura 21 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio ($MgSO_4$ 32, 100 e 320 μg) sobre a latência para a primeira crise convulsiva generalizada do tipo tônico-clônica (CTCG) induzida pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.6.2. Efeitos do MgSO₄ na freqüência de CTCG induzidas pelo PTZ ip:

Também foi observada uma redução na freqüência de crises tônico-clônicas generalizadas (CTCG) induzidas pelo PTZ ip, porém não de forma estatisticamente significativa, sob o tratamento com as diferentes doses de MgSO₄, particularmente na sua menor dose (32 µg) (Fig. 22).

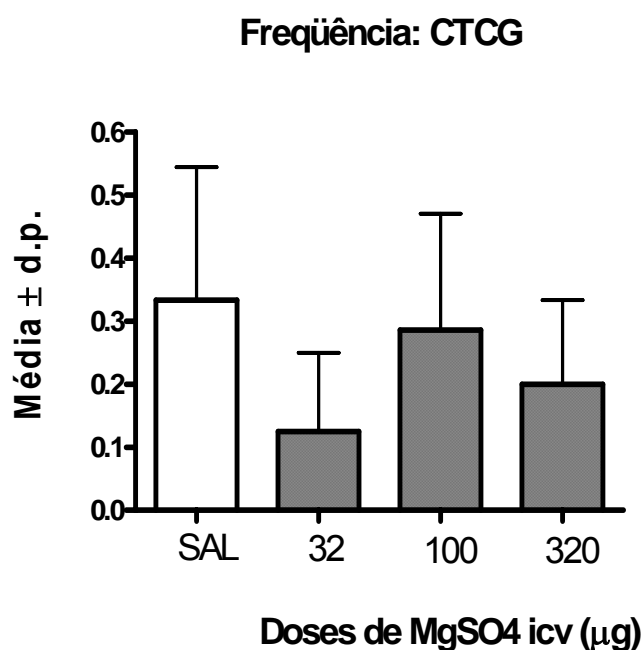


Figura 22 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO₄ 32, 100 e 320 µg) sobre o número (freqüência) de crises convulsivas generalizada do tipo tônico-clônica (CTCG) induzidas pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

Mais uma vez é interessante considerar que o MgSO₄ icv, particularmente na sua menor dose (32 µg), tendeu a aumentar a latência para o início das CTCG e a diminuir o número destas crises, reduzindo os malefícios deste tipo de crise convulsiva sobre as estruturas cerebrais.

6.7. - Avaliação dos efeitos do $MgSO_4$ na ocorrência de crises generalizadas do tipo tônica induzidas pelo PTZ ip:

6.7.1. Efeitos do $MgSO_4$ na latência para primeira crise generalizada do tipo tônica induzida pelo PTZ ip:

Especificamente no que se refere à latência de crises generalizadas do tipo tônica, nenhuma das doses de $MgSO_4$ icv modificou o início das crises tônicas induzidas pelo PTZ ip (Fig. 23).

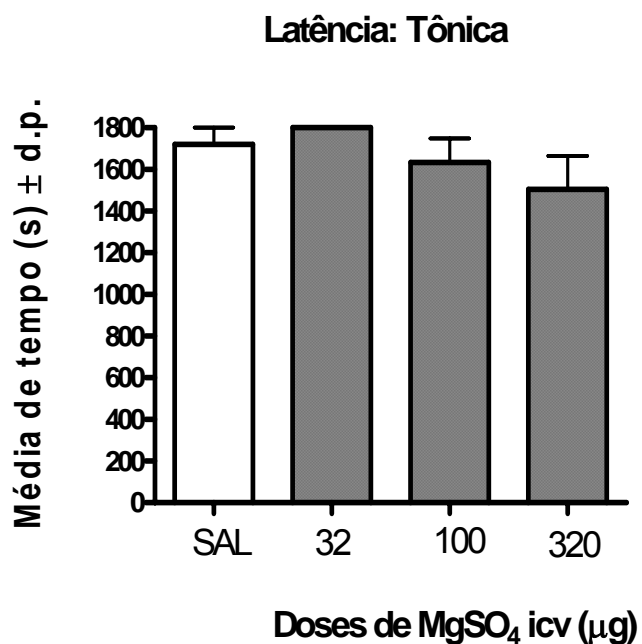


Figura 23 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio ($MgSO_4$ 32, 100 e 320 μg) sobre a latência para a primeira crise convulsiva generalizada do tipo tônica induzida pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.7.2. Efeitos do MgSO₄ na freqüência de crises generalizadas do tipo tônica induzidas pelo PTZ ip:

A freqüência de crises generalizadas do tipo tônica apresentou-se menor sob o tratamento com a menor dose do MgSO₄ icv (32 µg), porém não de modo estatisticamente signficante (Fig. 24). Ao contrário, as outras doses do MgSO₄ icv (100 e 320 µg) tenderam a aumentar a freqüência deste tipo de crise, mas também de forma não estatisticamente signficante (Fig. 24).

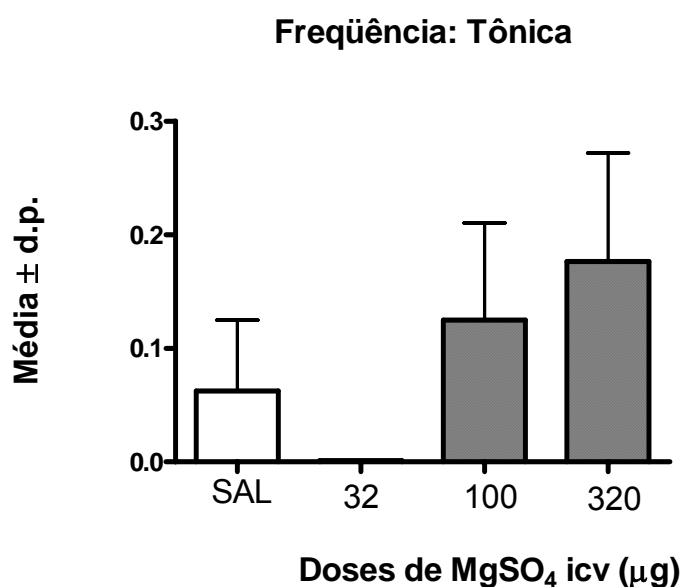


Figura 24 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO₄ 32, 100 e 320 µg) sobre o número (freqüência) de crises convulsivas generalizada do tipo tônica induzidas pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.8. - Avaliação dos efeitos do $MgSO_4$ na ocorrência de crises generalizadas do tipo clônica induzidas pelo PTZ ip:

6.8.1. Efeitos do $MgSO_4$ na latência para primeira crise generalizada do tipo clônica induzida pelo PTZ ip:

Também no caso das crises generalizadas do tipo clônica induzidas pelo PTZ ip não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na latência para o início das crises com a administração das diferentes doses de $MgSO_4$ icv comparada à SAL icv (Fig. 25), ainda que tenha havido um ligeiro aumento deste parâmetro sob o tratamento com as doses de 32 e 320 μg .

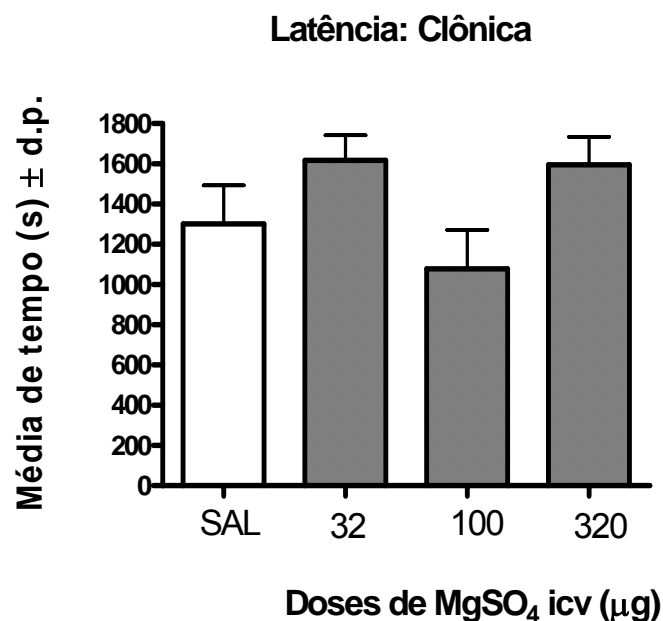


Figura 25 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio ($MgSO_4$ 32, 100 e 320 μg) sobre a latência para a primeira crise convulsiva generalizada do tipo clônica induzida pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.8.2. Efeitos do MgSO₄ na frequência de crises generalizadas do tipo clônica induzidas pelo PTZ ip:

Quanto à frequência das crises clônicas generalizadas, o tratamento com as doses de 32 e 320 µg do MgSO₄ icv reduziu, de forma bastante discreta e não estatisticamente significante, o número de crises em relação ao tratamento SAL icv. Já o tratamento com a dose de 100 µg tendeu a aumentar a frequência deste tipo de crise induzida pelo PTZ ip, mas a ANOVA de 1 via também não detectou diferença estatisticamente significante (Fig. 26).

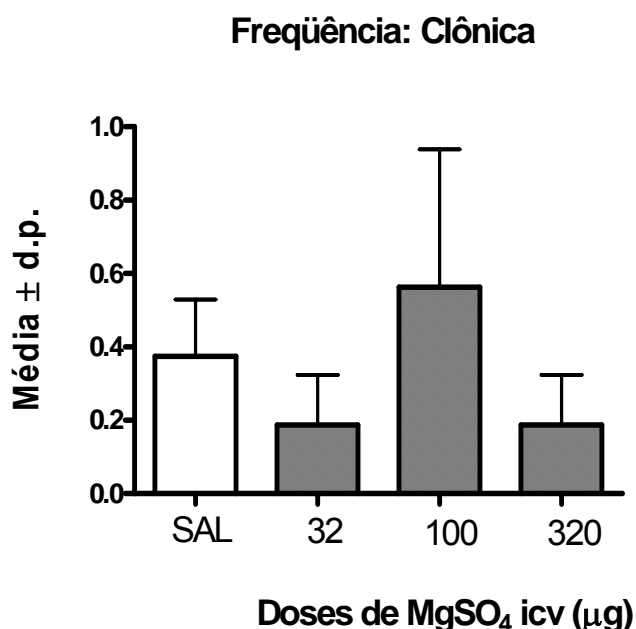


Figura 26 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO₄ 32, 100 e 320 µg) sobre o número (frequência) de crises convulsivas generalizada do tipo clônica induzidas pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.9. - Avaliação dos efeitos do $MgSO_4$ na ocorrência de crises focais com generalização secundária induzidas pelo PTZ ip:

6.9.1. Efeitos do $MgSO_4$ na latência para primeira crise focal com generalização secundária induzida pelo PTZ ip:

A latência para o início de crises focais com generalização secundária induzidas PTZ ip, não foi significativamente modificada pelas administrações icv de $MgSO_4$ em suas diferentes doses (Fig. 27), ainda que tenha havido um discreto aumento deste parâmetro na menor dose deste composto (32 μg) comparado à SAL.

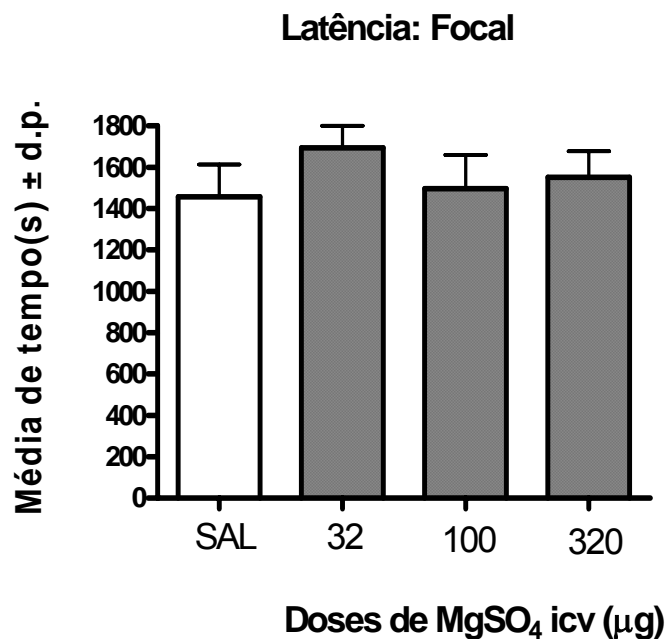


Figura 27 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio ($MgSO_4$ 32, 100 e 320 μg) sobre a latência para a primeira crise focal com generalização secundária induzida pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.9.2. Efeitos do MgSO_4 na freqüência de crises focais com generalização secundária induzidas pelo PTZ ip:

No que se refere à freqüência desse tipo de crise, houve uma redução do número de crises induzidas pelo PTZ ip, principalmente sob o tratamento icv com a dose de 32 μg do MgSO_4 comparado à SAL (Fig. 28), porém este efeito não foi estatisticamente significativo pela ANOVA de 1 via.

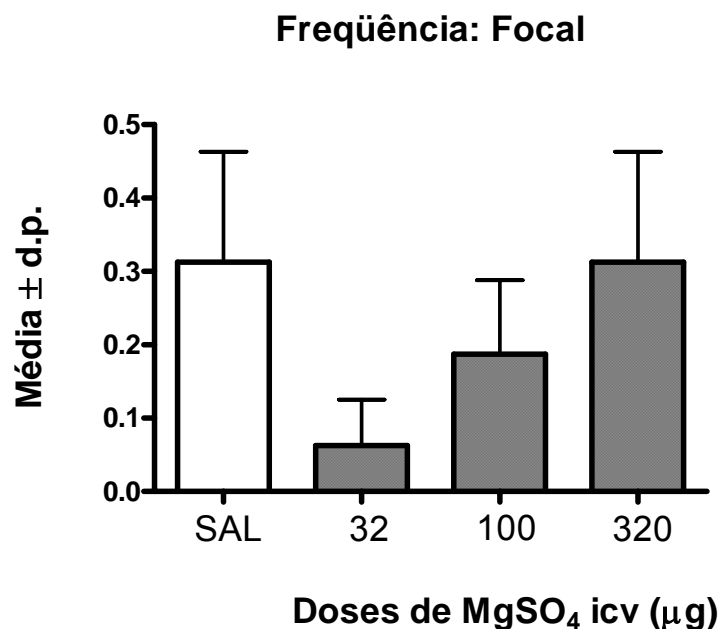


Figura 28 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO_4 32, 100 e 320 μg) sobre o número (freqüência) de crises focais com generalização secundária induzidas pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

6.10. - Avaliação dos efeitos do MgSO₄ na ocorrência de crises parciais complexas induzidas pelo PTZ ip:

6.10.1. Efeitos do MgSO₄ na latência para primeira crise parcial complexa induzida pelo PTZ ip:

O tratamento icv com o MgSO₄ aumentou a latência para a primeira crise parcial complexa (parada comportamental ou espreitamento) induzida pelo PTZ ip, particularmente pelas suas menores doses (32 e 100 µg) (Fig. 29).

A ANOVA de 1 via demonstrou diferenças estatisticamente significantes na comparação entre as doses [$F(3,60) = 3,894$, $p = 0,013$], sendo que a latência para a primeira crise parcial complexa sob o tratamento com a dose de 32 µg apresentou-se significativamente menor ($p < 0,05$) comparados à latência sob o tratamento com a SAL ou com a dose de 320 µg do MgSO₄ icv (Fig. 29).

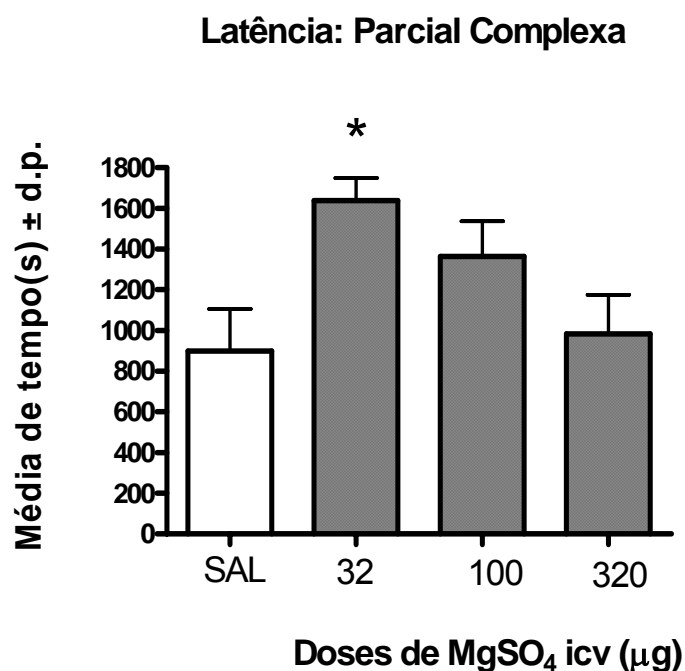


Figura 29 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO₄ 32, 100 e 320 µg) sobre a latência para a primeira crise parcial complexa (parada comportamental ou espreitamento) induzida pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ). * $p < 0,05$ comparado à SAL e à dose de 320 µg do MgSO₄.

6.10.2. Efeitos do MgSO_4 na freqüência de crises parciais complexas induzidas pelo PTZ ip:

Já quanto à freqüência deste tipo de crise, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os tratamentos icv, ainda que a maior dose do MgSO_4 icv tenha aumentado o número de crises parciais complexas comparado à SAL (Fig. 30).

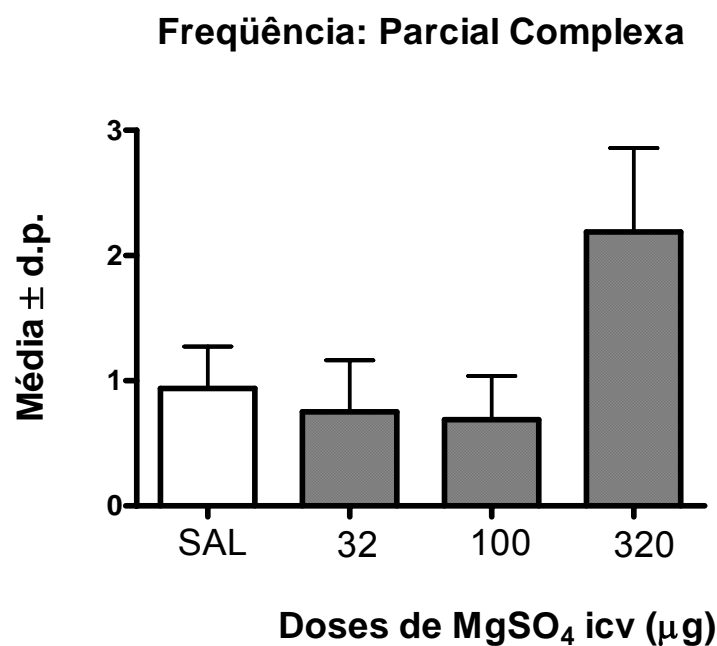


Figura 30 – Efeitos da administração intracerebroventricular (icv) de solução salina (SAL) e de diferentes doses de sulfato de magnésio (MgSO_4 32, 100 e 320 μg) sobre o número (freqüência) de crises parciais complexas (parada comportamental ou espreitamento) induzidas pela administração intraperitoneal (ip) de 60mg/Kg do pentilenotetrazol (PTZ).

Estes dados demonstram que o MgSO_4 administrado icv, especialmente as suas menores doses (32 e 100 μg), modificam alguns dos efeitos da administração ip do PTZ. A dose intermediária do composto (100 μg) aumentou a latência para a primeira crise e reduziu o período de crises de forma significativa, e também aumentou a latência para a primeira crise generalizada do tipo mioclônico e reduziu a freqüência deste tipo de crise, mas de forma não estatisticamente

significante. No entanto, nas análises dos outros tipos de crises induzidas pelo PTZ ip, a menor dose do $MgSO_4$ (32 μg) foi a que tendeu a modificar alguns dos parâmetros, tendo aumentado de forma significativa a latência para a primeira crise parcial complexa.

Estes resultados sugerem que o $MgSO_4$, especialmente pelo íon Mg^{2+} liberado em sua metabolização, reduzem os efeitos convulsivantes do PTZ dependendo de sua dose, visto que doses elevadas poderiam ter um efeito contrário.

6.11. - Confirmação histológica do adequado posicionamento das cânulas intracerebroventriculares:

Foram realizados cortes histológicos cerebrais de todos animais do estudo, exceção àqueles que morreram durante uma sessão experimental. Assim foi possível visualizar por meio de microscopia óptica a adequada localização das cânulas intracerebroventriculares em todos os animais, uma vez que a região de canulação destacava-se das demais pela chanfradura e pela coloração azul em sua extremidade interna, bem como pela mesma coloração em todo sistema ventricular cerebral (Fig. 31).

É importante referir que os animais cujos cérebros não puderam ser fixados em formol por impossibilidade técnica também receberam administração icv de azul de metileno e tiveram seus cérebros analisados macroscopicamente a fresco, para certificação do adequado posicionamento das cânulas no ventrículo lateral cerebral.

Logo, foi possível observar à fresco ou por procedimento histológico que todos os 32 animais tiveram suas cânulas de administração icv adequadamente posicionadas no ventrículo lateral cerebral.

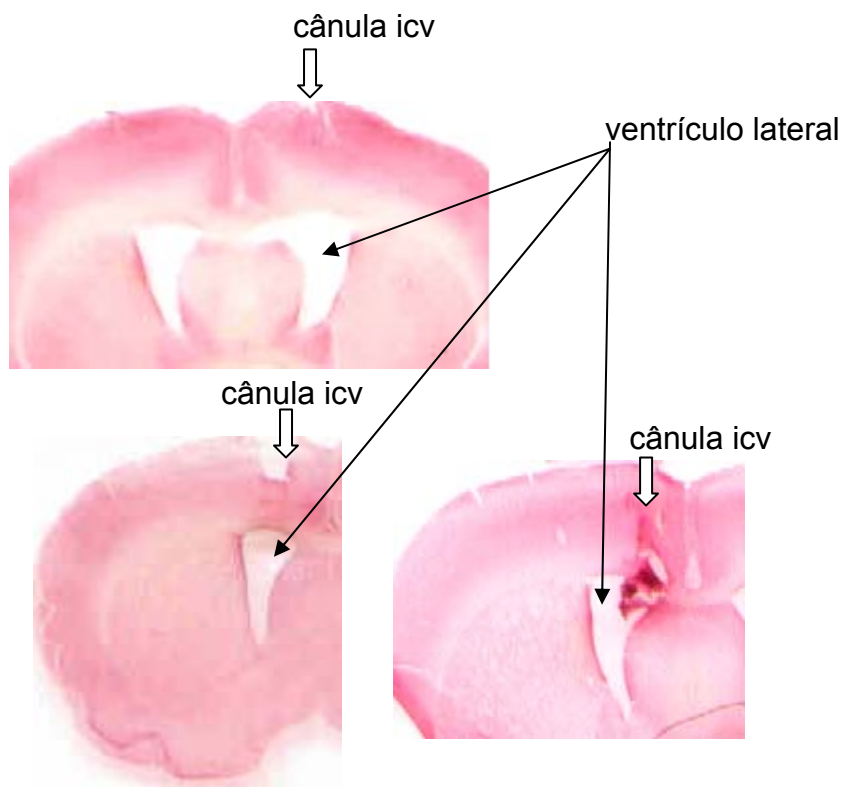


Figura 31 - Fotografia de cortes histológicos ilustrando as vias de entrada da cânula intracerebroventricular (icv) e os ventrículos laterais.

7 – DISCUSSÃO

7.1- O Modelo Experimental:

O PTZ é um dos agentes convulsivantes mais amplamente utilizados em modelos experimentais agudos ou crônicos de convulsões por indução química. É especialmente importante por possibilitar a ocorrência de diversos tipos de crises convulsivas inclusive com mecanismos fisiopatológicos diferentes. Isso é relevante principalmente quando se pretende realizar testes com novas drogas antiepiléticas ou anticonvulsivantes, ou ampliar o uso de drogas já disponíveis como é o caso deste estudo. Além disso, é um agente de fácil manuseio, com diversos estudos publicados e com vias de administração alternativas (endovenosa ou intraperitoneal).

Neste estudo visamos os efeitos agudos do PTZ e por isso, tentamos evitar o abrasamento químico por este agente. Os estudos objetivando o abrasamento por PTZ em geral utilizam-se de doses subconvulsivantes, por exemplo 40 mg/kg, aplicadas a um intervalo de 48 horas, perfazendo um total de no mínimo 10 sessões (Han et al, 2000). Em outro estudo com o mesmo objetivo, as administrações do PTZ foram feitas em intervalos de cerca de 7 dias, porém apesar de não ter sido notada alteração do limiar convulsivo ao PTZ, observou-se aumento da severidade das crises epiléticas, o que sugeriu evolução para o abrasamento químico (Bough e Eagles, 1999). Assim, foi estabelecido no presente estudo um recesso de 10 dias ou mais entre duas sessões experimentais em um mesmo animal. Com este cuidado não foi observado em nossos experimentos nenhum agravamento do padrão das crises convulsivas induzidas pelo PTZ, o que tornou viável o prosseguimento do protocolo experimental com a exposição de um mesmo animal a diferentes sessões experimentais para a investigação dos efeitos de diferentes doses do $MgSO_4$ sobre a ação convulsivante do PTZ, salvo quando houvesse perda da prótese cirúrgica ou morte do animal em crise.

A opção por uma dose intermediária de 60 mg/kg foi feita de acordo com a maioria dos estudos na literatura e, principalmente pelo fato de doses maiores (80 a 100 mg/kg) estarem associadas à alta mortalidade por estado de mal epilético (Bhattacharya e Parmar, 1987; Eloqayli et al, 2003).

A escolha da dose foi satisfatória, visto que dentre as 65 sessões experimentais realizadas neste estudo, somente em duas os animais morreram por estado de mal epiléptico durante os procedimentos, sendo ambos componentes do grupo controle SAL, e que, portanto, não haviam recebido $MgSO_4$. Esse dado, além de apoiar a opção por esta dose do PTZ, sugere um efeito benéfico da administração icv do $MgSO_4$ na redução da gravidade das crises convulsivas induzidas por PTZ e, conseqüentemente, da mortalidade dos animais, já que as mortes ocorridas foram no grupo controle.

Sabe-se que os animais podem exibir sensibilidade diferente ao PTZ, sendo possível inclusive a classificação em 2 grupos: PTZ-sensível e PTZ-resistente (Bazyán et al, 2002). Neste estudo não foi implementada esta divisão porque para isso os animais teriam que ser submetidos a uma aplicação prévia de PTZ para observação comportamental e classificação dos mesmos. Esse procedimento acarretaria em maior exposição do animal com maior risco de danos ao Sistema Nervoso Central (SNC) e conseqüente abrasamento químico, principalmente se considerarmos a já extensa carga de sessões experimentais a que os animais seriam submetidos.

Vale ressaltar que essa testagem prévia implicaria também em maior gasto de tempo durante o protocolo, o que era praticamente inviável tendo em vista a pequena sobrevivência do animal após o início das sessões experimentais, sempre muito agressivas.

Além disso, como os animais foram alocados de forma aleatória, e um mesmo animal foi submetido, sempre quando possível, a diferentes sessões experimentais podemos supor que a não classificação dos mesmos conforme a sensibilidade ao PTZ não representa um viés substancial para o presente protocolo experimental.

7.2- Análise comportamental associada ao registro eletroencefalográfico:

A maior parte dos estudos na literatura emprega um padrão de pontuação (score) de respostas comportamentais para a avaliação das crises convulsivas e detecção de desenvolvimento do abrasamento químico por PTZ (Ripley, 2003;

Han, 2000; Bough e Eagles, 1999; Rodrigues, 1999), porém em geral não relacionados ao registro da atividade elétrica cerebral dos animais.

Estas pontuações foram empregadas no início do estudo, porém as mesmas se mostraram insatisfatórias para o propósito do mesmo, visto que os padrões comportamentais descritos na literatura não correspondiam a todos os tipos de crises convulsivas observadas pela administração do PTZ, especialmente na sua correspondência aos padrões do EEG realizado simultaneamente.

Desta forma, foi necessário estabelecer um novo padrão de respostas comportamentais referente aos diferentes tipos de crises convulsivas induzidas pelo PTZ, que foram, por sua vez, classificados de acordo com a equivalência de padrões de EEG previamente estabelecidos para os diferentes tipos de crises epiléticas observados no homem.

Conforme ilustrado nos resultados deste estudo, foi então possível a observação de crises generalizadas dos tipos: mioclônicas, tônicas, clônicas e tônico-clônicas generalizadas. Também foi observada em um animal, a ocorrência de crise atônica.

Não observamos nenhuma crise generalizada do tipo ausência, o que pode ser justificado, conforme referido anteriormente, à dose utilizada que chega a ser três vezes maior do que a descrita em literatura para desencadear esse tipo de crise (Snead e Cortez, 1998).

Quanto às crises do tipo parcial, pudemos observar crises parciais complexas. Além disso, foram visualizadas crises parciais com generalização secundária. Na verdade essa classificação de crises só foi possível graças à análise conjunta do comportamento do animal com o registro eletroencefalográfico simultâneo.

Krauss et al. (1989), realizou um estudo no qual verificaram que a administração sistêmica do $MgSO_4$ não era eficiente no controle de crises convulsivas induzidas por eletrochoque ou por PTZ, relatando a ocorrência de muitos efeitos colaterais periféricos do $MgSO_4$. No referido estudo foi realizado registro eletroencefalográfico de alguns animais, sendo evidenciado que os animais tratados sistemicamente com o $MgSO_4$ apresentaram padrões eletroencefalográficos de convulsões, ainda que não apresentassem manifestação comportamental das mesmas, levando os autores a sugerirem que o $MgSO_4$ apresentaria um aparente efeito anticonvulsivante, já que as crises convulsivas

somente não estariam sendo observadas clinicamente pela ocorrência do bloqueio muscular periférico induzido pelo sulfato de magnésio (Krauss et al, 1989).

Em nosso estudo, a administração icv do $MgSO_4$ não promoveu os efeitos colaterais periféricos habitualmente relatados na literatura (Krauss et al, 1989), e os registros eletroencefalográficos de todas as 65 sessões experimentais não deixam dúvidas quanto à ocorrência ou não de crises convulsivas, e, subseqüentemente dos efeitos do $MgSO_4$ central na modificação dos padrões globais e particularmente de alguns tipos de crises induzidas pela administração sistêmica do PTZ.

A importância do registro eletroencefalográfico e sua correlação comportamental em estudos que envolvam a indução de crises epiléticas também foi referida em uma dissertação de mestrado realizada na Universidade de São Paulo que propôs uma análise neuroetológica das ações pró-convulsivante e anticonvulsivante de peçonha de aranha em ratos. Vale ressaltar que a etofarmacologia é exatamente o estudo das drogas no Sistema Nervoso Central através da observação comportamental do animal, e o autor concluiu que são necessários novos estudos com registros eletrofisiológicos para corroborar seus resultados (Rodrigues, 1999).

No caso específico das crises induzidas por PTZ, fica ainda mais explícita a necessidade de monitorização eletrográfica paralela à observação comportamental, uma vez que baixas doses de PTZ vêm sendo utilizadas em modelos experimentais de ansiedade (Corda et al, 1997), em que o comportamento dos animais muito se assemelha ao desenvolvimento de crises parciais complexas do tipo espreitamento.

Como referido anteriormente, um animal que recebeu administração icv de $MgSO_4$ na dose de 320 μg apresentou, nos 5 minutos subseqüentes à administração ip de PTZ, comportamento atípico caracterizado por tremores e ansiedade que poderia ser classificado comportamentalmente como crise convulsiva não fosse o registro eletroencefalográfico simultâneo sugerir ausência de atividade epileptiforme, pelo menos na derivação utilizada neste protocolo experimental. É importante ressaltar que para afastar de forma mais veemente a possibilidade de crise epilética, mais especificamente a ocorrência de uma crise frontal, que também poderia simular uma crise de ansiedade, seria necessária a utilização de maior número de eletrodos na obtenção do registro.

7.3- Efeitos experimentais do sulfato de magnésio (MgSO₄):

Os resultados desse estudo não deixam dúvida quanto à eficácia do sulfato de magnésio intraventricular (em especial na dose de 100 µg) em aumentar a latência para a ocorrência de crises induzidas por pentilenotetrazol. Também foi observada redução do período de crises com a mesma dose.

Cotton et al, 1993, no intuito de comprovar os efeitos antiepilépticos centrais do sulfato de magnésio, porém em crises induzidas por NMDA, realizaram um estudo que também observou aumento da latência de crises epilépticas. É importante referir que eles fizeram administração intraperitoneal (dose de 270 mg/kg) e intracraniana de sulfato de magnésio (dose de 50 µg), ambas alcançando o mesmo resultado, e, além disso, foi obtido registro eletroencefalográfico durante os experimentos comprovando estes efeitos.

Mason et al, 1994, em outro estudo com crises induzidas por NMDA monitorizadas por eletroencefalografia, comparou o efeito profilático do uso de sulfato de magnésio intraventricular com o de fenitoína endovenosa, e constatou efeito até superior do sulfato de magnésio na prevenção de crises.

Os resultados mais evidentes nos dois estudos citados acima podem se dever ao fato de tanto a epileptogênese quanto o efeito antiepiléptico do sulfato de magnésio nos mesmos envolver o receptor glutamatérgico NMDA.

Hallak et al, 1999, induziram crises por meio da estimulação elétrica cortical observando que a interação do glutamato com o receptor NMDA após crise foi menor no grupo que recebeu administração periférica prévia de sulfato de magnésio. Estes resultados não só demonstram a penetração no Sistema Nervoso Central do Sulfato de Magnésio administrado periféricamente, como também ilustram sua atuação nos receptores glutamatérgicos NMDA cerebrais.

7.4- Efeito paradoxal do sulfato de magnésio (MgSO₄):

Apesar dos dados deste estudo terem comprovado que o MgSO₄ administrado icv modifica alguns dos efeitos da administração ip do PTZ, esses efeitos foram relacionados às doses e aos tipos de crises e, em certas circunstâncias, notou-se até a piora do padrão de crises.

Assim, a dose de 100 µg de MgSO₄ aumentou a latência para a primeira crise generalizada do tipo mioclônico e reduziu a frequência deste tipo de crise, mas de forma não estatisticamente significativa. Já a dose do MgSO₄ de 32 µg aumentou de forma significativa a latência para a primeira crise parcial complexa.

No entanto, a dose de 320 µg tendeu a piorar tanto o período total de crises quanto a frequência da maioria dos tipos de crises, porém esses resultados não foram estatisticamente significativos.

O efeito paradoxal de agravamento de quadros epiléticos no tratamento com os agentes antiepiléticos clássicos também são observados na clínica e são relatados na literatura. Na verdade, desde o desenvolvimento das primeiras Drogas Antiepiléticas (DAEs) vêm sendo reportadas observações clínicas de piora na frequência de crises epiléticas induzidas por DAEs (Perucca et al, 1998).

Dentre os mecanismos propostos estão: agravamento de crises focais por doses terapêuticas de DAE; reação paradoxal à DAE, como por exemplo, o aumento de crises parciais complexas com o uso de carbamazepina; intoxicação resultando em aumento de crises, mesmo na ausência de outros sintomas de toxicidade; encefalopatia induzida por DAE, comumente induzida por ácido valproico como resultado de hiperamonemia; escolha inapropriada da DAE, como por exemplo a indução de crises de ausência com o uso da fenitoína; e, politerapia levando à interação entre as drogas como na associação de ácido valproico e clonazepam desencadeando estado de mal epilético do tipo ausência (Elger et al, 1998; Lerman-Sagie et al, 2001).

Estudos experimentais já comprovaram que a carbamazepina e a fenitoína podem desencadear crises generalizadas do tipo ausência e do tipo mioclônica (Bauer, 1996).

No caso da carbamazepina, droga de primeira escolha para o combate de crises parciais, parece que o seu mecanismo de ação através do bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependentes pode ser contra-produtivo nos pacientes com crises de ausência (Berkovic, 1998).

Já foi relatado, também, um aumento da frequência de crises epiléticas devido à superdosagem de fenitoína, mas parece que isso raramente ocorre com o uso de outras drogas antiepiléticas (Guerrini et al, 1998).

Mesmo uma droga com amplo espectro de ação como a lamotrigina, que é uma droga nova e promissora para o tratamento de crises generalizadas, sendo

muito utilizada em casos de epilepsia refratária, por atuar no combate a crises parciais, crises tônico-clônicas primária ou secundariamente generalizadas, crises de ausência típica ou atípica, crises tônicas e atônicas, pode estar associada à exacerbação de alguns tipos de crises dentre elas: as mioclônicas e até as parciais com generalização secundária (Dreifuss, 1997; Marenza, 2001).

Parece que drogas antiepiléticas com um mecanismo de ação específico estão mais ligadas ao fenômeno de agravamento de crises do que drogas com vários mecanismos de ação (Genton e McMenamim, 1998). Uma das explicações para isso é que poderia haver uma interação adversa entre o modo de ação da droga e os mecanismos fisiopatológicos de tipos específicos de crises epiléticas. Outra explicação plausível seria a da ativação inadvertida pela DAE de vias promotoras de crises como uma consequência da alteração do equilíbrio entre a excitação e a inibição do sistema nervoso central (Hirsch e Genton, 2003).

Especula-se que, no caso da fenitoína, o efeito depressor de altas doses da droga nos interneurônios inibitórios poderia resultar em desinibição da excitação neuronal com consequente facilitação das descargas epiléticas (Perucca et al, 1998).

De forma semelhante, apesar do GABA ter ação inibitória, drogas que têm seu mecanismo de ação envolvendo o sistema gabaérgico podem ter ação pró-convulsivante justificada porque, dependendo da circuitaria local, a sinapse gabaérgica pode inibir uma sinapse inibitória gerando um efeito desinibitório que pode facilitar a epileptogênese (Olsen e Avoli, 1997).

Também já foi estabelecido que os agonistas opióides podem exercer tanto efeitos anticonvulsivantes como pró-convulsivantes, apresentando um efeito bifásico dose-relacionado em crises induzidas por pentilenotetrazol. Assim, doses baixas desses agentes teriam ação anticonvulsivante enquanto altas doses seriam pró-convulsivantes (Riazi et al, 2004; Hodayoun et al, 2002; Lauretti et al, 1994). Hodayoun et al (2002) observou que a morfina em baixas doses (0,5-3 mg/Kg) aumenta o limiar para crises induzidas pelo pentilenotetrazol, enquanto que altas doses (15-30 mg/Kg) reduzem o limiar facilitando a ocorrência de crises.

Na realidade, os conhecimentos atuais da epileptogênese e dos mecanismos de ações das drogas antiepiléticas, esclarecem apenas parcialmente a especificidade de cada droga para um determinado tipo de crise epilética, a resistência medicamentosa e principalmente a razão de piora clínica mesmo em uso adequado das medicações.

7.5- Farmacocinética do sulfato de magnésio (MgSO₄):

Apesar do uso amplo do sulfato de magnésio, há pouca informação disponível sobre sua farmacocinética. Tanto estudos *in vitro* quanto *in vivo* vêm demonstrando que o agente ativo é o magnésio ionizado. Porém na prática, por dificuldades técnicas, somente os níveis totais de magnésio são dosados (Taber et al, 2002).

No corpo humano existem 3 tipos de magnésio: o magnésio ligado à proteína (que se liga à albumina ou à globulina), o magnésio que se liga ao bicarbonato, ao fosfato ou ao sulfato, e o magnésio livre (ionizado) que corresponde a cerca de 70% do magnésio sérico (Sakamoto et al, 2005). Estando o magnésio sanguíneo sob um forte controle genético (Chollet et al, 2001).

Vale ressaltar que o magnésio extracelular é continuamente trocado pelo magnésio estocado nos ossos e músculos (Konrade e Weber, 2003).

Sabe-se que quando o sulfato de magnésio é administrado por via intramuscular, sua concentração sérica aumenta lentamente até atingir seu pico em cerca de 1 - 2 horas, depois vai ocorrendo queda também lenta da concentração nas próximas 6 - 8 horas. O magnésio injetado segue para o compartimento intravascular e é prontamente ligado às proteínas plasmáticas da mesma forma que o magnésio endógeno. A porcentagem do íon livre se difunde para o espaço extravascular-extracelular e para os ossos (Lu e Nightingale, 2000).

A concentração cerebral do magnésio é regulada através de transporte ativo pela barreira hemato-encefálica, de forma que sua concentração líquórica é sempre maior que a concentração sérica (Muir, 2002). Na verdade, o cérebro é protegido contra variações na concentração de magnésio por um rigoroso mecanismo de homeostase ainda desconhecido (Chollet et al, 2001).

O magnésio é normalmente excretado pelos rins, apresentando uma meia vida de 4 horas ou menos. Seus efeitos colaterais são mais significativos em casos de comprometimento importante da função renal ou de superdosagem iatrogênica (Muir, 2002).

Sabe-se, principalmente a partir do uso do magnésio na terapia da pré-eclampsia, que existem diferenças individuais na resposta ao uso do magnésio, desde diferenças no nível sérico do magnésio alcançado com a mesma dose da medicação até diferenças no grau de resposta terapêutica, e que provavelmente

existem outros fatores além das diferenças farmacocinéticas entre os indivíduos que possam justificar esse fato (Chuan et al, 2001).

O íon magnésio pode ser classificado como um antagonista não-competitivo (ou bloqueador de canal aberto) do receptor glutamatérgico do tipo NMDA de baixa afinidade e, pelo fato de só atuar com o canal ativado, esse tipo de antagonista vai tender a se acumular nas regiões com maiores concentrações de glutamato (Muir e Lees, 1995). Seguindo este raciocínio é fácil acreditar em seus efeitos nas regiões de lesão hipóxicas e nas regiões de aumento de excitabilidade neuronal (focos epiléticos) e que graus diferentes de insulto podem resultar em respostas terapêuticas diferentes a uma mesma dose da medicação, em pacientes aparentemente semelhantes.

7.6- Usos clínicos do magnésio:

Em um estudo clínico realizado em Dallas de 1999 a 2002 observou-se, após a suspensão do protocolo hospitalar que apregoava o uso de sulfato de magnésio em todas as mulheres com hipertensão arterial leve intraparto, o triplo de casos de eclâmpsia em comparação aos 3 anos anteriores quando o protocolo ainda era adotado (Alexander et al, 2003).

O “*Magpie (Magnesium Sulfate for Prevention of Eclampsia) Trail*” é um grupo multicêntrico internacional que avalia o uso do sulfato de magnésio em ampla escala. Em um primeiro estudo randomizado, este grupo concluiu que o sulfato de magnésio foi superior ao diazepam e à fenitoína na prevenção da recorrência de crises epiléticas em mulheres com eclâmpsia. Agora, o mesmo grupo realizou estudo randomizado com o uso do sulfato de magnésio em mulheres com pré-eclâmpsia, tendo concluído que o uso do mesmo (intramuscular ou endovenoso) diminui o risco de eclâmpsia. Vale ressaltar que o *Magpie* não observou efeitos adversos sérios nas gestantes ou em seus bebês (The Magpie, 2002).

Pré-eclâmpsia é uma doença específica da gravidez caracterizada por hipertensão arterial e proteinúria (> 300 mg em 24 horas) ou outras anormalidades clínicas e laboratoriais (Vidaeff et al, 2005). Quando a este quadro clínico se sobrepõem crises epiléticas ou coma, a condição é denominada Eclâmpsia (Tatum IV et al, 2004).

É importante esclarecer que cerca de 5 a 10 % das gestantes com pré-eclâmpsia severa podem evoluir com sérias complicações, dentre elas: edema pulmonar, insuficiência respiratória, placenta prévia com ou sem coagulopatia intravascular disseminada, insuficiência renal ou hepática, ruptura hepática, hematomas, acidentes vasculares cerebrais e crises epilépticas tônico-clônicas generalizadas (eclâmpsia) (Sibai, 2005). Outras manifestações neurológicas da pré-eclâmpsia, que são transitórias e cedem com a redução da pressão arterial ou com o parto, incluem: cefaléia, turvação visual, escotomas e cegueira cortical (Frishman et al, 2005).

Dentre os riscos para o feto estão: retardo de crescimento intra-uterino, sofrimento fetal, prematuridade e morte fetal. Acredita-se que a redução da morbidade e mortalidade neonatais nos casos de pré-eclâmpsia tratados com sulfato de magnésio pode ser, em parte, justificado pelo efeito vasodilatador do sulfato de magnésio no leito vascular feto-placentário (Kovac et al, 2003). Entretanto, não se pode atribuir a redução de todas as complicações maternas com o uso do sulfato de magnésio exclusivamente ao seu efeito vasodilatador. No que se refere às crises epilépticas na eclâmpsia, sua etiologia ainda permanece incerta (Karnad e Guntupalli, 2005) e nem sempre está relacionada à hipertensão arterial (Frishman et al, 2005).

É interessante ressaltar que apesar de nesse estudo o sulfato de magnésio não ter alterado de forma significativa a ocorrência de crises tônico-clônicas generalizadas, apesar de a dose de 32 μ g ter demonstrado tendência a aumento da latência para esse tipo de crise e discreta diminuição da freqüência, as observações clínicas na pré-eclâmpsia/eclâmpsia em que as crises tônico-clônicas são prevenidas pelo uso do sulfato de magnésio nos permitem supor que ele seria eficaz neste tipo de crise.

Mais uma vez merece destaque o fato de que a Eclâmpsia já foi indicada como fator de risco para a Epilepsia de Lobo Temporal e Esclerose Mesial Temporal (Lawn et al, 2004), o que sugere que apesar de ser uma doença específica da gravidez não deve ter fenômenos fisiopatológicos tão distintos das crises epilépticas em geral. Assim, se o uso do sulfato de magnésio já está bem estabelecido nesta entidade nosológica, é possível acreditar em um efeito benéfico também em outros tipos de crises epilépticas.

Ainda no manejo de doenças do sistema nervoso central, vem sendo proposto o uso do sulfato de magnésio no tratamento das hemorragias

subaracnóideas após ruptura de aneurisma (Boet e Mee, 2000; Naval et al, 2006) visando à prevenção ou diminuição do espasmo cerebral e sua provável ação neuroprotetora na isquemia cerebral.

Quanto ao uso do sulfato de magnésio como agente neuroprotetor nos casos de isquemia cerebral, os estudos são contraditórios, mas parece que seu efeito está relacionado à precocidade do início do tratamento e com o tipo de isquemia cerebral (Thal et al, 2005).

A deficiência de magnésio em migranosos (enxaquecosos) vem sendo reportada em diversos estudos, nos períodos ictal e interictal, com resultados por vezes contraditórios e confusos. Há relatos de baixos níveis intracelulares no córtex cerebral (Ramadan, 1989; Lodi et al, 1997), séricos (Mauskop, 2002), liquóricos e eritrocitários (Schoenen, 1991), leucocitários e salivares, tanto em adultos quanto em faixa etária mais baixa (Stewart, 2001). Há, inclusive relato de aumento importante dos níveis intracelulares de magnésio em células leucocitárias durante tratamento oral com magnésio em pacientes migranosos (Facchinetti, 1991). Além disso, um estudo comprovou a retenção de magnésio em pacientes migranosos após sobrecarga oral de magnésio, o que corrobora a idéia de uma deficiência sistêmica de magnésio (Trauninger, 2002).

Acredita-se que essa deficiência poderia induzir vasoespasmos arteriais cerebrais, potencializar a resposta contrátil dos vasos sanguíneos a substâncias vasoativas como a serotonina, aumentar a sensibilidade dos receptores NMDA ao glutamato, aumentar a agregação plaquetária induzida pela trombina levando à liberação de serotonina, reduzir o efeito da prostaciclina no relaxamento da musculatura lisa vascular mediado pelo receptor β -adrenérgico e pode ser pró-inflamatória (Krymchantowski, 2002). O magnésio também vem sendo implicado na modulação da substância P e na ativação de catecolaminas (Bigal, 2002).

Os indícios da deficiência de magnésio na migrânea, somados aos diversos mecanismos fisiopatológicos possíveis, à escassez de efeitos adversos severos e restritivos e ao baixo custo, tornam o magnésio uma opção terapêutica consideravelmente promissora na profilaxia desta doença, especialmente em crianças e adolescentes.

O efeito do magnésio na terapêutica profilática da migrânea vem sendo proposto desde 1933 (Krymchantowski, 2002), porém pouco enfoque foi dado pela indústria farmacêutica e pelos pesquisadores desde então. Dentre os estudos realizados, os resultados têm sido contraditórios o que em parte pode ser atribuído

às diferentes doses de magnésio e aos tipos de preparações usadas (Silberstein, 2002).

Em um estudo multicêntrico, prospectivo, com randomização duplo-cega, para avaliar a profilaxia da migrânea em adultos com altas doses de magnésio oral, houve diminuição estatisticamente significativa da frequência das crises migranosas, que é considerada, pela Sociedade Internacional de Cefaléia, como o principal parâmetro para avaliar a eficácia de um novo tratamento. Não houve, porém, correlação significativa entre o resultado terapêutico e os níveis séricos do magnésio antes do tratamento. Os efeitos colaterais mais encontrados foram diarreia e intolerância gástrica, ambos autolimitados (Peikert, 1996). Um estudo semelhante foi realizado com 86 crianças e adolescentes concluindo que o uso do magnésio oral é superior ao placebo no tratamento profilático de pacientes migranosos (Wang et al, 2001).

Há também relatos do uso de sulfato de magnésio endovenoso durante a crise migranosa, sendo classificado como rápido, seguro e fácil de usar (Kaye, 2002; Bigal, 2002), bem como de uso satisfatório em vários tipos de cefaléia (Mauskop, 1996).

Neste contexto, vale ressaltar que existem várias referências a uma possível inter-relação entre a migrânea e a epilepsia. Provavelmente o primeiro enfoque a este assunto foi dado por Liveing em 1873 (Whitehouse, 1967). Gowers, em 1907, dizia que a migrânea fazia fronteira com a epilepsia o que era reforçado pelos inúmeros erros diagnósticos e pela freqüente dificuldade no diagnóstico diferencial entre ambas as moléstias (Panayiotopoulos, 1999).

É sabido que indivíduos com epilepsia têm mais que o dobro de chance de desenvolver migrânea que seus familiares sem epilepsia (Lipton, 1994). Parece que a comorbidade de migrânea e epilepsia se deva a um estado de hiperexcitabilidade que aumentaria o risco para o desenvolvimento de ambas as doenças (Lipton, 1994; Ottman, 1996). Fatores genéticos ou ambientais poderiam aumentar a excitabilidade ou diminuir o limiar para os dois tipos de crises (Silberstein, 1998). Esse tipo de afirmação é corroborado, por exemplo, por casos em que é feito, com sucesso, o uso de drogas antiepilépticas na profilaxia da migrânea (Kooi, 1975). Alguns especialistas acreditam que pacientes com cefaléia recorrente apresentando padrões eletroencefalográficos variados podem responder melhor ao tratamento com as DAEs (Saper, 2000).

Além das já mencionadas aplicações do magnésio no tratamento de doenças neurológicas, merecem também destaque outras situações clínicas em que este íon pode ter papel terapêutico importante, principalmente no âmbito da cardiologia, dentre elas: hipertensão arterial, insuficiência cardíaca congestiva, arritmias cardíacas, infarto agudo do miocárdio e angina. Também existem indícios de que o magnésio seria importante na prevenção da aterosclerose e no adequado controle do Diabetes Mellitus tipo 2 (Gums, 2004).

Portanto, os resultados do presente estudo sugerem que o sulfato de magnésio, dependendo de sua dose, pode ser um agente adjuvante em potencial no tratamento profilático de crises epiléticas em geral, e não somente na eclampsia.

8 – CONCLUSÕES

- A administração intraperitoneal de pentilenotetrazol na dose de 60 mg/kg pode induzir diversos tipos de crises convulsivas, desde crises convulsivas clássicas (crises tônico-clônicas generalizadas, crises tônicas e crises clônicas) até outros tipos de crises generalizadas (crises mioclônicas e crises atônicas) bem como crises parciais complexas e crises focais com generalização secundária.
- A monitorização eletroencefalográfica aliada à análise comportamental dos animais possibilita diferenciar uma manifestação de ansiedade de determinados tipos de crises convulsivas (como as crises parciais complexas, por exemplo) induzidas pelo pentilenotetrazol.
- A administração central de 100 μ g de sulfato de magnésio modificou significativamente o padrão de crises convulsivas induzidas por PTZ, tendo aumentado a latência para a primeira crise, independente do tipo de crise, e reduzido o período total de crises. O que teoricamente seria suficiente para reduzir os riscos de seqüelas neurológicas e a mortalidade dos animais em consequência de crises convulsivas.
- Os resultados deste estudo sugerem que há uma especificidade de ação do sulfato de magnésio com relação ao tipo de crise epiléptica, que parece relacionar-se à dose. Isso porque enquanto a dose intermediária do composto (100 μ g) aumenta a latência para a primeira crise generalizada do tipo mioclônico e reduz a freqüência deste tipo de crise, apesar de ter sido de forma não estatisticamente significativa, a dose menor de 32 μ g aumentou de forma significativa a latência para a primeira crise parcial complexa.
- A maior dose do sulfato de magnésio, no entanto, não modificou ou até mesmo tendeu a agravar alguns tipos de crises convulsivas induzidas pelo pentilenotetrazol

- Portanto, o sulfato de magnésio intracerebroventricular pode modificar os efeitos convulsivantes do pentilenotetrazol de forma dose dependente, onde doses menores parecem exercer efeito anticonvulsivante enquanto doses maiores parecem ser pró-convulsivantes.

- Esses resultados aliados às evidências de uso clínico seguro e eficaz do sulfato de magnésio na profilaxia da eclampsia/pré-eclâmpsia, nos permitem supor um potencial uso desse agente como adjuvante no tratamento de outros tipos de crises epiléticas no homem.

9 - REFERÊNCIAS

1. Adams, R. D.; Victor, M.; Ropper, A. H. Principles of Neurology. 6ª Ed. McGraw-Hill International Edition, 1997.
2. Alexander, J. M.; McIntire, D. D.; Leveno, K. J.; Cunningham, F. G. Magnesium sulfate for the prevention of eclâmpsia in women with mild hypertension. American Journal of Obstetric and Gynecology, S88, 2003.
3. Al-Noori, S.; Pierson, M. G.; Swann, J. W. Bases Celulares da Epileptogenezidade Estudadas in Vitro. IN: Costa, J. C.; Palmira, A.; Yacubian, E. M. T.; Cavaleiro, E. A. Fundamentos Neurobiológicos das Epilepsias: Aspectos Clínicos e Cirúrgicos. Volume 1. Lemos Ed., São Paulo, 1998.
4. Arıkan, K.; Coskun, T.; Guvener, B.; Oran, O. Effects of Ammonia on Pentylentetrazole-Induced Seizure Thershold. Metabolic Brain Disease, 14(4): 223-230, 1999.
5. Baldauf, C. M. Novas drogas antiepilépticas. In: Cukiert A. Tratamento clínico e cirúrgico das epilepsias de difícil controle. Lemos Ed. São Paulo, 2002.
6. Bauer, J. Seizure-inducing effects of antiepileptic drugs: a review. Acta Neurológica Scandinavica, 94: 367-377, 1998.
7. Bazyan, A. S.; Mel'nik, V. I.; Bikbulatova, L. S.; Karpova, M. N. The Pentylentetrazole Allosteric Component of GABA_A Receptor Plasticity. Doklady Biological Sciences, 386(3): 407-410, 2002.
8. Belfort, M. A.; Anthony, J.; Saade, G. R.; Allen Jr, J. C. A Comparison of Magnesium Sulfate and Nimodipine for the Prevention of Eclampsia. New England Journal of Medicine, 384: 304-311, 2003.
9. Ben-Ari, Y. Cell Death and Synaptic Reorganizations Produced by Seizures. Epilepsia, 42(S3): 5-7, 2001.
10. Ben-Ari, Y.; Holmes, G. L. The multiple facets of γ -aminobutyric acid dysfunction in epilepsy. Current Opinion in Neurology, 18: 141-145, 2005.
11. Benga, Gh.; Benga, I. Mg, Cu and Zn ind blood and cerebrospinal fluid of epileptic children. Journal of Neurochemistry, 71(1): pS11, 1998.
12. Berkovic, S. F. Aggravation of Generalized Epilepsies. Epilepsia, 39 (S3): 11-14, 1998.

13. Bhattacharya, S. K.; Parmar, S. S. Prostaglandin D₂ inhibits Pentylentetrazole-Induced Convulsions in Rats by a Serotonin-Mediated Mechanism. *Pharmaceutical Research*, 4(5): 406-408, 1987.
14. Bigal, M. E.; Bordini, C. A.; Tepper, S. J.; Speciali, J. G. Intravenous magnesium sulphate in the acute treatment of migraine without aura and migraine with aura. A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Cephalalgia*. 22: 345-353, 2002.
15. Blume-Chair, W. T.; Lüders, H. O.; Mizrahi, E.; Tassinari, C.; Boas, W. V. E.; Engel Jr., J. Glossary of Descriptive Terminology for Ictal Semiology: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*, 42(9): 1212-1218, 2001.
16. Boet, R.; Mee, E. Magnesium sulfate in the management of patients with fisher grade 3 subarachnoid hemorrhage: a pilot study. *Neurosurgery*, 47(3): 602-607, 2000.
17. Bough, K. J.; Eagles, D. A. A ketogenic diet increases the resistance to pentylentetrazole-induced seizures in the rat. *Epilepsia*, 40(2): 138-143, 1999.
18. Browne, T. R.; Holmes, G. L. Epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 344(15): 1145-1151, 2001.
19. Burattini, J. A.; Cukiert, A. Terapias alternativas: estimulação vagal. In: Cukiert A. Tratamento clínico e cirúrgico das epilepsias de difícil controle. Lemos Ed. São Paulo, 2002.
20. Bustamante, V. C. T.; Lüders, H. O.; Sakamoto, A. C. Classificando as crises epilépticas para a programação terapêutica. In: Yacubian, E. M. T. Tratamento Medicamentoso das Epilepsias. Lemos Ed. São Paulo, 2001.
21. Camfield, P.; Camfield, C. Epilepsy Can Be Diagnosed When the First Two Seizures Occur on de Same Day. *Epilepsia*, 41(9): 1230-1233, 2000.
22. Chang, B. S.; Lowenstein, D. H. Mechanisms of Disease: Epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 349(13): 1257-1266, 2003.
23. Chollet, D.; Franken, P.; Raffin, Y.; Henrotte, J-G.; Widmer, J.; Malafosse, A.; Tafti, M. Magnesium Involvement in Sleep: Genetic and Nutritional Models. *Behavior Genetics*, 31(5): 413-425, 2001.
24. Chuan, F. S.; Charles, B. G.; Boyle, R. K.; Rasiah, R. L. Population pharmacokinetics of magnesium in preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 185: 593-599, 2001.

25. Cole, A. J.; Dichter, M. Neuroprotection and antiepileptogenesis: Overview, definitions, and context. *Neurology*, 59 (S5): S1-S2, 2002.
26. Cole, A. J.; Koh, S.; Zheng, Y. Are seizures harmful: what can we learn from animal models? *Progress in Brain Research*, 135:13-23, 2002.
27. Corda, M. G.; DiChiara, G.; Driscoll, P.; Lecca, D.; Piras, G.; Giorgi, O. Stress and Pentilenotetrazol (PTZ) Increase the release of Serotonin (5-HT) in the Cerebral CórteX of Roman High-Avoidance (RHA/Verh) but Not Roman Low-Avoidance (RLA/Verh) Rats. *Behavior Genetics*, 27(6): p587, 1997.
28. Cotton, D. B.; Hallak, M.; Janusz, C.; Irtenkauf, S. M.; Berman, R. F. Central anticonvulsant effects of Magnesium sulfatate on N-Methyl-D-Aspartate Induced Seizures. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 168 (3): 974-978, 1993.
29. Cotton, D. B.; Hallak, M.; Janusz, C.; Irtenkauf, S. M.; Berman, R. F. Central anticonvulsant effects of Magnesium sulfatate on N-Methyl-D-Aspartate Induced Seizures. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 178 (1S): p 40S, 1998.
30. Crino, P. B.; Jin, H.; Shumate, M. D.; Robinson, M. B.; Coulter, D. A.; Brooks-Kayal, A. R. Increased Expression of the Neuronal Glutamate Transporter (EAAT3/EAAC1) in Hippocampal and Neocortical Epilepsy. *Epilepsia*, 43(3): 211-218, 2002.
31. Cypel, S.; Yacubian, E. M. T. Fisiopatologia e Formas Clínicas da Epilepsia. In: Diament, A.; Cypel, S. *Neurologia Infantil*. 3ª Ed. Atheneu. São Paulo, 1998.
32. Dreifuss, F. E. Lamotrigine in Childhood Epilepsies. *Seminars in Pediatric Neurology*, 4(1): 19-23, 1997. Dudek, F. E.; Staley, K. J.; Sutula, T. P. The Search for Animal Models of Epileptogenesis and Pharmacoresistance: Are There Biologic Barriers to Simple Validation Strategies? *Epilepsia*, 43(11): 1275-1277, 2002.
33. Elger, C. E.; Bauer, J.; Scherrmann, J.; Widman, G. Aggravation of focal epileptic seizures by antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 39(3): 15-18, 1998.
34. Elkis, L. C. Dieta Cetogênica. In: Cukiert A. *Tratamento clínico e cirúrgico das epilepsias de difícil controle*. Lemos Ed. São Paulo, 2002.

35. Eloqayli, H.; Dahl, C. B.; Götestam, K. G.; Unsgård, G.; Hadidi, H. Pentylene-tetrazole decreases metabolic glutamate turnover in rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 85: 1200-1207, 2003.
36. Engel Jr., J. A Proposed Diagnostic Scheme for People with Epileptic Seizures and with Epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia*, 42(6): 796-803, 2001.
37. Facchinetti, F.; Sances, G.; Borella, P.; Genazzani, A. R.; Nappi, G. Magnesium prophylaxis of menstrual migraine: effects on intracellular magnesium. *Headache*. 31: 298-301, 1991.
38. Frishman, W. H.; Schlocker, S. j.; Awad, K.; Tejani, N. Pathophysiology and Medical Management of Systemic Hypertension in Pregnancy. *Cardiology in Review*, 13(6): 274-284, 2005.
39. Genton, P.; McMenamin, J. Aggravation of seizures by Antiepileptic Drugs: What to Do in Clinical Practice. *Epilepsia*, 39(3): 26-29, 1998.
40. Guerreiro, C. A. M.; Guerreiro, M. M.; Cendes, F.; Lopes-Cendes, I. *Epilepsia*. Lemos Ed., São Paulo, 2000.
41. Guerrini, R.; Belmonte, A.; Genton, P. Antiepileptic Drug-Induced Worsening of Seizures in Children. *Epilepsia*, 39 (S3): 2-10, 1998.
42. Gums J. G. Magnesium in cardiovascular and other disorders. *American Journal Health-System Pharmacology*, 61: 1569-1576, 2004.
43. Hallak, M.; Irtenkauf, S. M.; Janusz, C. A.; Cotton, D. B. Stimulation and inhibition of N-Methyl-D-Aspartate receptors in Rats: Developing a Seizure Model. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 169 (3): 695-700, 1993.
44. Hallak, M.; Irtenkauf, S. M.; Cotton, D. B. Fetus-Placenta-Newborn: Effect of magnesium sulfate on excitatory amino acid receptors in the rat brain: I. N-Methyl-D-Aspartate receptor channel complex. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 175 (3): 575-581, 1996.
45. Hallak, M.; Hotra, J. W.; Evans, J. B.; Kruger, M. L. Magnesium inhibits seizure induced rise in N-Methyl-D-Aspartate receptor binding in pregnant rat brain. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 180 (1S-II): p 45S, 1999.
46. Han, D.; Yamada, K.; Senzaki, K.; Xiong, H.; Nawa, H.; Nabeshima, T. Involvement of nitric oxide in pentilene-tetrazole-induced kindling in rats. *Journal of Neurochemistry*, 74(2): 775-792, 2000.

47. Harker, H. E.; Majcher, T. A. Hypermagnesemia in a Pediatric Patient. *Anesthesia and Analgesia*, 91: 1160-1162, 2000.
48. Hirsch, E.; Genton, P. Antiepileptic Drug-Induced Pharmacodynamic Aggravation of Seizures. Does Valproate Have a Lower Potential? *CNS Drugs*, 17(9): 633-640, 2003.
49. Homayoun, H.; Khavandgar, S.; Dhepour, A. R. The role of α -2-Adrenoceptors in the Modulatory effects of morphine on Seizure Susceptibility in mice. *Epilepsia*, 43(8):797-804, 2002.
50. Homayoun, H.; Khavandgar, S.; Namiranian, K.; Gaskari, S. A.; Dhepour, A. R. The role of nitric oxide in anticonvulsant and proconvulsant effects of morphine in mice. *Epilepsy Research*, 48: 33-41, 2002.
51. International League Against Epilepsy (ILAE) – Commission on Classification and Terminology: Proposal for revised classification for epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, 30: 389-399, 1989.
52. Jefferys, J. G. R. Mechanisms and experimental models of seizure generation. *Current Opinion in Neurology*, 11(2): 123-127, 1998.
53. Jefferys, J. G. R. Models and Mechanisms of Experimental Epilepsies. *Epilepsia*, 44 (S12): 44-50, 2003.
54. Kandel, E. R.; Schwartz, J. H.; Jessell, T. M. Principles of Neural Science. 4^a Ed. McGraw-Hill United States of America, 2000.
55. Karnad, D. R.; Guntupalli, K. K. Neurologic disorders in pregnancy. *Critical Care Medicine*, 33(10): S362-S371, 2005.
56. Kaye, P.; O'Sullivan, I. The role of magnesium in the emergency department. *Emergency Medical Journal* 19: 288-291, 2002.
57. Kemp, J. A.; McKernan, R. M. NMDA receptor pathways as drug targets. *Nature neuroscience*, 5: 1039-1042, 2002.
58. Kimberlin, D. F.; Hauth, J. C.; Goldenberg, R.L.; Bottoms, S. F.; Iams, J. D.; Mercer, B.; MacPherson, C.; Thurnau, G. R. The effect of maternal magnesium sulphate treatment on neonatal morbidity in \leq 1000 gram infants. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 54(10): 628-629, 1999.
59. Köhling, R. Voltage-gated Sodium Channels in Epilepsy. *Epilepsia*, 43(11): 1278-1295, 2002.
60. Kooi, K. A. Fundamentos de electroencefalografía. Relieves e Industrias Gráficas, Barcelona, 1975.

61. Konrad, M.; Weber, S. Recent Advances in Molecular Genetics of Hereditary Magnesium-losing disorders. *Journal of American Society of Nephrology*, 14: 249-260, 2003.
62. Kovac, C. M.; Howard, B. C.; Pierce, B. T.; Hoeldtke, N.J.; Calhoun, B. C.; Napolitano, P. G. Fetoplacental vascular tone is modified by magnesium sulfate in the preeclamptic ex vivo human placental cotyledon. *American Journal of Obstetric and Gynecology*, 189(3): 839-842, 2003.
63. Krauss, G. L.; Kaplan, P.; Fisher, R. S. Parenteral magnesium sulfate fails to control electroshock and pentylenetetrazol seizures in mice. *Epilepsy Research*, 4: 201-206, 1989.
64. Krymchantowski, A. V.; Bigal, M. E.; Moreira, P. F. Review Article: New and emerging prophylactic agents for migraine. *CNS Drugs*. 16 (9): 611-634, 2002.
65. Kunz, W. S. The role of mitochondria in epileptogenesis. *Current Opinion in Neurology*, 15: 179-184, 2002.
66. Kwan, P.; Sander, J. W. The natural history of epilepsy: an epidemiological view. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 75: 1376-1381, 2004.
67. Lauretti, G. R.; Ahmad, I.; Pleuvry, B. J. The activity of opioid analgesics in seizure models utilizing N-Methyl-DL-Aspartic acid, Kainic acid, bicuculline and pentylenetetrazole. *Neuropharmacology*, 33(2): 155-160, 1994.
68. Lawn, N.; Laich, E.; Ho, S.; Martin, R.; Faught, E.; Knowlton, R.; Morawetz, R.; Kuzniecky, R. Eclampsia, hippocampal sclerosis, and temporal lobe epilepsy: Accident or association? *Neurology*, 62: 1353-1356, 2004.
69. Leite, J. P.; Nakamura, E. M.; Lemos, T.; Mansur, J.; Cavalheiro, E. A. Learning impairment in chronic epileptic rats following pilocarpine-induced status epilepticus. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 23: 681-683, 1990.
70. Lerman-Sagie, T.; Watemberg, N.; Kramer, U.; Shahar, E.; Lerman, P. Absence Seizures Aggravated by Valproic Acid. *Epilepsia*, 42(7): 941-943, 2001.
71. Lipton, R.B.; Ottman, R.; Ehrenberg B.L.; Hauser, W.A. Comorbidity of migraine: The connection between migraine and epilepsy. *Neurology*, 44: suppl.7: S28-S32, 1994.

72. Link, M. J.; Anderson, R. E.; Meyer, F. B. Effects of magnesium sulfate on pentylenetetrazole induced status epilepticus. *Epilepsia*, 32(4): 543-549, 1991.
73. Lodi, R.; Montagna, P.; Soriani, S.; Iotti, S.; Arnaldi, C.; Cortelli, P.; Pierangeli, G.; Patuelli, A.; Zaniol, P.; Barbiroli, B. Déficit of brain and skeletal muscle bioenergetics and low brain magnesium in juvenile migraine: an in vivo P magnetic resonance spectroscopy interictal study. *Pediatrics Research*. 42 (6): 866-871, 1997.
74. Lu, J. F.; Nightingale, C. H. Magnesium Sulfate in Eclampsia e Pre-eclampsia: Pharmacokinetic Principles. *Clinical Pharmacokinetic*, 38(4): 305-314, 2000.
75. Maguire, J. L.; Williams, S. H.; Sutherland, M. L. The Role of Glutamate Transport in Tumorinduced Epileptogenesis. *Epilepsia*, 43(S7): 130-131, 2002.
76. Marenza, M. L. G. Lamotrigina: Uma nova opção para o tratamento das crises generalizadas. In: In: Yacubian, E. M. T. Tratamento medicamentoso das epilepsias. Lemos Editorial, São Paulo, 2001.
77. Mares, P. Epileptogênese no Cérebro Imaturo. IN: Costa, J. C.; Palmimi, A.; Yacubian, E. M. T.; Cavalheiro, E. A. Fundamentos Neurobiológicos das Epilepsias: Aspectos Clínicos e Cirúrgicos. Volume 1. Lemos Ed., São Paulo, 1998.
78. Mason, B. A.; Standley C. A.; Irtenkauf, S. M.; Barducef, M.; Cotton, D. B. Magnesium is more effecacious than pheniytoin in reducing N-Methyl-D-Aspartate Seizures in Rats. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 171 (4): 999-1002, 1994.
79. Mauskop, A.; Bella, T. A.; Cracco, R. Q.; Burton, M. A. Intravenous magnesium sulfate rapidly alleviates headaches of various types. *Headache*. 36: 154-160, 1996.
80. Mauskop, A.; Bella, T. A.; Burton, M. A. Serum ionized magnesium levels and serum ionized calcium/ionized magnesium ratios in woman with menstrual migraine. *Headache*. 42: 242-248, 2002.
81. Mauskop, A.; Bella, T. A.; Burton, M. A. Serum ionized magnesium levels and serum ionized calcium/ionized magnesium ratios in woman with menstrual migraine. *Headache*. 42: 242-248, 2002

82. McNamara, J. O. Drugs Effective In the Therapy of the Epilepsies. IN: Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10^a Ed. McGraw-Hill International Edition, 2001.
83. Mello, L. G. A. Mecanismos básicos. In: Guerreiro, C. A. M.; Guerreiro, M. M.; Cendes, F.; Lopes-Cendes, I. Epilepsia. Lemos Ed., São Paulo, 2000.
84. Min-Cheol, L.; Young-Jong, W.; Jae-Hyu, K.; Hyoung_Ihl, K.; Woong-Ki, C.; Ha-Young, C. Upregulation of Glutamate-receptor Expression in Rat Cerebral Cortex with Neuronal Migration Disorders. *Epilepsia*, 43(S7): 259, 2002.
85. Muir, K.W.; Lees, Kennedy, R. Clinical Experience With Excitatory Amino Acid Antagonist Drugs. *Stroke*, 26(3): 503-513, 1995.
86. Muir, K.W. Magnesium in stroke treatment. *Postgrad Medical Journal*, 78: 641-645, 2002.
87. Naval, N. S.; Stevens, R. D.; Mirski, M. A.; Bhardwaj, A. *Critical Care Medicine*, 34(2): 511-524, 2006.
88. Niedermeyer, E. Abnormal EEG Patterns: Epileptic and Paroxysmal. In: Niedermeyer, E.; Silva, F. L. *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. 4^a Ed. Lippincott Williams & Williams, Baltimore, 1999.
89. Norman, D.; Vaughan, C. J.; French, J. A. Medical causes of seizures. *Lancet*, 352: 383-390, 1998.
90. Olsen, R. W.; Avoli, M. GABA and Epileptogenesis. *Epilepsia*, 38(4): 399-407, 1997.
91. Oner, P.; Kocak, H.; Oztas B. Effects of streptozotocin-induced diabetes and pentylenetetrazol-induced seizure on brain cortex (Ca⁺) ATPase activity in rats. In: Treiman, D. M. *Therapy of status epilepticus in adults and children*. *Current Opinion in Neurology*, 14: 203-210, 2001.
92. Ottman, R.; Lipton, R. B. Is the comorbidity of epilepsy and migraine due to a shared genetic susceptibility? *Neurology*, 47: 918-924, 1996.
93. Panayiotopoulos, C. P.: *Benign Childhood Partial Seizures and Related Epileptic Syndromes (Current problems in epilepsy series: 15)*. John Libbey, London, 1999.
94. Peikert, A.; Wilimzig, C.; Köhne-volland, R. Prophylaxis of migraine with oral magnesium: results from a prospective, multi-center, placebo-controlled and double-blind randomized study. *Cephalalgia*. 16: 257-63, 1996.

95. Penna, A.M. Estimulação elétrica do córtex pré-frontal medial: efeitos sobre o comportamento e sobre a aprendizagem e a memória. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, 1996. 111p.
96. Perucca, E.; Gram, L.; Avanzini, G.; Dulac, O. Antiepileptic Drugs as a Cause of Worsening Seizures. *Epilepsia*, 39(1): 5-17, 1998.
97. Petrie, R. H. Tocolysis using magnesium sulfate. *Seminaries in Perinatology*, 5: 266-273, 1981.
99. Pitkänen, A. Drug-mediated neuroprotection and antiepileptogenesis – Animal data. *Neurology*, 59 (S5): S27-S33, 2002.
100. Ramadan, N. M.; Halvorson, H.; Vande-Linde, A.; Levine, S. R.; Helpern, J. A.; Welch, K. M. A. Low brain magnesium in migraine. *Headache*. 29: 590-593, 1989.
101. Rang, H. P.; Dale, M. M.; Ritter, J. M. *Farmacologia*. 4ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001.
102. Riazi, K.; Honar, H.; Houmayoun, H.; Demehri, S.; Bahadori, M.; Dehpour, A R. Intestinal inflammation alters the susceptibility to pentylentetrazole-induced seizure in mice. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19: 270-277, 2004.
103. Ripley, T. L.; Brown, G.; Dunworth, S. J.; Stephens, D. N. Aversive conditioning following repeated withdrawal from ethanol and epileptic kindling. *European Journal of Neuroscience*, 17: 1664-1670, 2003.
104. Roberts, J. M.; Villar, J.; Arulkumaran, S. Preventing and treating eclamptic seizures: Magnesium sulphate is effective and recommended for use. *British Medical Journal*, 325: 609-610, 2002.
105. Rodrigues, M. C. A. Análise Neuroetológica e estudo da atividade pró-convulsivante e anticonvulsivante in vivo da peçonha bruta da aranha *Parawixia bistriata* em ratos: injeção central e periférica. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 1999. 80p.
106. Sakamoto, T.; Takasu, A.; Saitoh, D.; Kaneko, N.; Yanagawa, Y.; Okada, Y. Ionized Magnesium in the cerebrospinal fluid of patients with head injuries. *Journal of Trauma*, 58: 1103-1109, 2005.

107. Sanabria, E. R. G.; Cavalheiro, E. A. Epileptogênes: contribuição dos Modelos Experimentais. In: Guerreiro, C. A. M.; Guerreiro, M. M.; Cendes, F.; Lopes-Cendes, I. *Epilepsia*. Lemos Ed., São Paulo, 2000.
108. Sander, J. W.; Hart, Y. M. *Epilepsia: Um guia prático*. Meritt, São Paulo, 1999.
109. Saper, J. R.; Silberstein, S. D.; Gordon, C. D.; Hamel, R. L. *Manual de tratamento da cefaléia*. Revinter. Rio de Janeiro, 2000.
110. Scheuer, M. L.; Van Cott, A. C. *Antiepileptic Drugs*. In: Rowland, L. P. *Current Neurologic Drugs*. 2ª Ed. Williams & Wilkins, Philadelphia, 1998.
111. Schoenen, J.; Sianard-Gainko, J.; Lenaerts, M. Blood magnesium levels in migraine. *Cephalalgia*. 11: 97-99, 1991.
112. Sena, E. P. *Drogas Antiepilépticas*. IN: Silva P. *Farmacologia*. 6ª Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2002.
113. Sibai, B. M. Magnesium sulphate is the ideal anticonvulsivant in pré-eclampsia-eclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 162: 1141-1145, 1990.
114. Sibai, B. M. Magnesium sulfate prophylaxis in pré-eclampsia: evidence from randomized trials. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 48(2): 478-488, 2005.
115. Silberstein, S. D.; Lipton, R. B.; Goadsby, P. J. *Headache in Clinical Practice*. Isis Medical Media Ltd, Oxford, 1998.
116. Silberstein, S. D.; Goadsby, P. J. Review: Migraine: preventive treatment. *Cephalalgia*. 22: 491-512, 2002.
117. Simchen, M. J.; Dulitzky, M.; Mashiach, S.; Friedman, S. A.; Schiff, E. Adjustment of magnesium sulfate infusion rate in patients with preterm labor. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 179(4): 994-998, 1998.
118. Snead, O. C. III; Cortez, M. [gamma]-Aminobutyric Acid-A Receptor Antagonist-Induced Absence Seizures in Rats: A Dose-Specific Response. *Annals of Neurology*, 44(3): p 545, 1998.
119. Sousa, A. M.; Cukiert, A. Calosotomia. In: *Tratamento clínico e cirúrgico das epilepsias de difícil controle*. Lemos Ed. São Paulo, 2002.
120. Stables, J. P.; Bertram, E. H.; White, H. S.; Coulter, D. A.; Dichter, M. A.; Jacobs, M. P.; Loscher, W.; Lowenstein, D. H.; Moshe, S. L.; Noebels, L. J.;

- Davis, M. Models for Epilepsy and Epileptogenesis: Report from the NIH Workshop, Bethesda, Maryland. *Epilepsia*, 43(11): 1410-1420, 2002.
121. Standley, C. A.; Perle, L. V.; Cotton, D. B. Low therapeutic levels of magnesium do not reduce seizure activity in pregnant rats. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 178 (1S): p 40S, 1998.
122. Standley, C. A.; Perle, L. V.; Cotton, D. B. Magnesium sulfate effectively reduces seizures and development of status epilepticus induced by quisqualic acid in rats. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 178 (1S): p 40S, 1998.
123. Stewart, J.T.; Rapoport, A.; Sheftell, F. The Pathophysiology of Migraine. *The Neurologist*, 7: 279-286, 2001.
124. Taber, E. B.; Tan, L.; Chao, C. R.; Beall, M. H.; Ross, M. G. Pharmacokinetics of ionized versus total magnesium in subjects with preterm labor and preeclampsia. *American Journal of Obstetric and Gynecology*, 186(5): 1017-1021, 2002.
125. Tatum IV, W. O.; Liporace, J.; Benbadis, S. R.; Kaplan, P. W. Updates on the Treatment of Epilepsy in Women. *Archives in Internal Medicine*, 164: 137-145, 2004.
126. Tankosic, T. Glutamate-Targeted CNS Drugs – closing in on a Holy Grail? *Drug & Market Development*, 15(2): 397-402, 2004.
127. Thal, S. C.; Engelhard, K.; Werner, c. New cerebral protection strategies. *Current Opinion in Anesthesiology*, 18: 490-495, 2005.
128. The Magpie Trial Collaborative Group. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 57(11): 719-721, 2002.
129. Trauninger, A.; Pfund, Z.; Koszegi, T.; Czopf, J. Oral magnesium load test in patients with migraine. *Headache*. 42: 114-119, 2002.
130. Treiman, D. M. Therapy of status epilepticus in adults and children. *Current Opinion in Neurology*, 14: 203-210, 2001.
131. Tsuru, N.; Ueda, Y.; Dóí, T. Amygdaloid Kindling in Glutamate Transporter (GLAST) Knockout Mice. *Epilepsia*, 43(8): 805-811, 2002.
132. Ueda, Y.; Tokumaru, J.; Doi, T.; Hayashi, Y.; Mitsuyama, Y.; Willmore, L.J. Glutamate Release and Uptake and Kindling: Redox effect on Glutamate Transporters and N-Methyl-D-Aspartate Receptor. *Epilepsia*, 43(S7): 14, 2002.

133. Verrotti, A.; Trotta, D.; Salladini, C.; Morgese, G.; Chiarelli, R. Risk factors for recurrence of epilepsy and withdrawal of antiepileptic therapy: a practical approach. *Annals of Medicine*, 35: 207-215, 2003.
134. Vidaeff, A. C.; Carroll, M. A.; Ramin, S. M. Acute hypertensive emergencies in pregnancy. *Critical Care Medicine*, 33(10): S307-S312, 2005.
135. Volpe, J. J. *Neurology of the Newborn*. 4^a Ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2000.
136. Wang, F.; Van Den Eeden, S. K.; Ackerson, L. M.; Salk, S. E.; Reince, R. H.; Elin, R. J. Oral magnesium oxide prophylaxis of frequent headache in children: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, parallel group trial. *Cephalalgia*. 21(4): 289-290, 2001.
137. Whitehouse, D.; Pappas, J.A.; Escala, P.H. Electroencephalographic changes in children with migraine. *New England Journal of Medicine*, 276: 23-27, 1967.
138. Yacubian, E. M. T. Farmacocinética das drogas antiepilépticas. In: Yacubian, E. M. T. *Tratamento medicamentoso das epilepsias*. Lemos Editorial, São Paulo, 2001.
139. Yamamoto, H.; Murakami, H.; Kamyama, N.; Miyamoto, Y.; Fukuda, M. Studies on cerebrospinal fluid ionized calcium and magnesium concentrations in convulsive children. *Epilepsia*, 44(S9): p59, 2003.
140. Yamamoto, L.; Olaes E.; Lopez, A. Challenges in Seizure Management: Neurologic versus Cardiac Emergencies. *Topics in Emergency Medicine*, 26 (3): 212-224, 2004.
141. Zar, J. H. *Biostatistical Analysis*. 4^a Ed. Prentice Hall, New Jersey, 1999.
142. Zhang, G.; Raol, Y. S. H.; Hsu, F.; Brooks-Kajal, A. R. Long-term alterations in glutamate receptor and transporter expression following early-life seizures are associated with increased seizure susceptibility. *Journal of Neurochemistry*, 88: 91-101, 2004.
143. Zilles, K.; Qu, M. S.; Kohling, R.; Speckmann, E. J. Ionotropic glutamate and GABA receptors in human epileptic neocortical tissue: quantitative in vitro receptor autoradiography. *Journal of Neuroscience* 94 (4): 1051-1061, 1999.

Anexo 1: Formulário padrão para observação comportamental

Data: / / **Rato:** _____ **Peso:** _____ **Protocolo:** _____

Observador: _____

SAL / Mg		↓ FR	Hipotonia		Sedação	
Hora:		Início:	Início:		Início:	
Dose:		Fim:	Fim:		Fim:	
		Duração:	Duração:		Duração:	
PTZ	Parada Comportamental	Espreitamento	Crises Mioclônicas	Crise Tônica ou Clônica	Crise Tônico Clônica	Morte
Hora:	Início:	Início:	Início:	Início:	Início:	Hora:
Dose:	Fim:	Fim:	Fim:	Fim:	Fim:	
	Duração:	Duração:	Duração:	Duração:	Duração:	
	Frequência:	Frequência:	Frequência:	Frequência:	Frequência:	

Observações: _____

