



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**KLISTENES ALVES DE LIMA**

**ESTUDO DO POTENCIAL CONVULSIVANTE DE COMPOSTOS  
CARBAPENÊMICOS EM MODELO DE CONVULSÃO INDUZIDO POR  
PILOCARPINA *in vivo e in vitro***

**Fortaleza**

**2017**

**KLISTENES ALVES DE LIMA**

**ESTUDO DO POTENCIAL CONVULSIVANTE DE COMPOSTOS  
CARBAPENÊMICOS EM MODELO DE CONVULSÃO INDUZIDO POR  
PILOCARPINA *in vivo e in vitro***

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Farmacologia, da Faculdade de Medicina  
da Universidade Federal do Ceará, como  
requisito parcial para obtenção do Título  
de Mestre em Farmacologia. Área de  
concentração: Neuropsicofarmacologia.

Orientadora: Profa. Dra. Marta Maria de  
França Fonteles

Fortaleza

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Biblioteca de Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

L698e Lima, Klistenes Alves de.

ESTUDO DO POTENCIAL CONVULSIVANTE DE COMPOSTOS  
CARBAPENÊMICOS EM MODELO DE CONVULSÃO INDUZIDO POR PILOCARPINA  
in vivo e in vitro / Klistenes Alves de Lima. – 2017.

84 f.:il. Color.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina. Programa  
de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2017.

Orientação: Profa. Dra. Marta Maria de França Fonteles

1. Convulsão. 2. Epilepsia. 3. Carbapenêmicos. I. Título.

---

**CDD 615.1**

KLISTENES ALVES DE LIMA

ESTUDO DO POTENCIAL CONVULSIVANTE DE COMPOSTOS  
CARBAPENÊMICOS EM MODELO DE CONVULSÃO INDUZIDO POR  
PILOCARPINA *in vivo e in vitro*

Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Farmacologia, da Faculdade de Medicina  
da Universidade Federal do Ceará, como  
requisito parcial para obtenção do Título  
de Mestre em Farmacologia. Área de  
concentração: Neuropsicofarmacologia.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra Marta Maria de França Fonteles (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Profa. Dra Bruna Mara Machado Ribeiro  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr José Eduardo Ribeiro Honório Júnior  
Universidade Federal do Ceará - UFC

A Deus.

A minha mãe, Nivanda, e a minha irmã,  
Kathiuscia.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser essencial em minha vida, me conceder sabedoria, socorro nas horas de angustia, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar.

À minha mãe, Maria Nivanda, por todo sacrifício, por se dedicar e abdicar de tempo e de muitos projetos pessoais para que eu tivesse a oportunidade de estudar. Obrigado por me proporcionar, além de extenso carinho e amor, os conhecimentos da integridade, da perseverança e de procurar sempre em Deus a força maior para o meu desenvolvimento como ser humano. Obrigado por tudo, meu amor!

Ao meu pai (*in memoriam*) por todo o carinho, ensinamento e por guiar os meus passos.

À minha irmã, Kathiuscia, que sempre me incentivou, torceu e me ajudou na realização desse sonho. Sem ela teria sido impossível chegar até aqui. Agradeço todo o carinho, a dedicação e a ajuda na formatação deste trabalho.

Ao meu irmão, Kildary, pelo apoio ao longo dessa jornada.

Aos meus familiares que sempre acreditaram muito no meu trabalho e me ajudaram no que foi preciso.

Aos professores pela dedicação, pelo empenho, pelo profissionalismo e por todo conhecimento repassado, que contribuíram nesse processo de *formação profissional*.

À Professora Dra. Marta Fonteles, minha orientadora, pessoa que tenho um imenso carinho, admiração e gratidão.

Aos colegas do Laboratório de Neuropsicofarmacologia por toda ajuda e dicas valiosas. Em especial a Camila Nayane, que foi fundamental para a conclusão desse estudo.

Aos técnicos Arnaldo, Vilani e Lena a quem devo muito carinho e gratidão por toda ajuda. Vocês são demais!

As Alan(n)as, Alana Gomes e Alanna Carla, por me apoiarem sempre, mesmo sem me entender e sem me julgar; por nunca desistirem de mim; por ouvirem minhas lamentações; por me tranquilizarem no desespero; por me oferecerem abrigo em sua casa e em seus corações sem pagar aluguel e por me obrigarem a estudar quando a vontade faltava. Vocês são dois anjos que Deus colocou em minha vida. Foram e são fundamentais nessa conquista. Amo vocês!

À Kalinne Gadelha (ou melhor, Kalinne Kelly), minha estrela, minha baby, que me ensinou a ser uma pessoa melhor. Sempre me apoiou e esteve ao meu lado durante esses anos.

À Iardja Stefanny, por alegrar os meus dias com o seu sorriso cativante e me tranquilizar com suas palavras de conforto.

À Mônica César, a tampa (amassada) da minha panela, que sempre sonhou junto comigo e ajudou a trilhar o caminho desse sonho. Acompanhou todo o meu desespero e com palavras de forças sempre me deu segurança e apoio para seguir.

À tia Régia e a Dane, que viram meu crescimento enquanto pessoa, enquanto amigo, enquanto estudante preocupado com minha formação acadêmica, em busca de novas conquistas e novos sonhos.

Aos meus amigos em geral, que mesmo não estando tão presente em minha vida acadêmica sempre compreenderam e me apoiaram ao longo dessa jornada (até quando deixava de sair com eles para ficar estudando).

A FUNCAP pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado!

“Quando penso que cheguei ao meu limite, descubro que tenho forças para ir além”. (Ayrton Senna da Silva)

## RESUMO

As doenças infeciosas de etiologia bacteriana foram sempre um grave problema para as sociedades, não só pela sua fácil e rápida propagação, como pela elevada mortalidade que causam. O tratamento destas infeções requer o uso terapêutico de antibióticos. Os carbapenêmicos são fármacos antimicrobianos que pertencem ao grupo  $\beta$ -lactâmicos e atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana. O tratamento com esses fármacos pode desencadear vários efeitos adversos como náuseas, erupções cutâneas, leucopenia, trombocitopenia, nefrotoxicidade e neurotoxicidade. O risco de neurotoxicidade é inerente a todos os representantes da classe, mas incidência da convulsão pode variar entre os fármacos. Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos dos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem) em modelo de convulsão induzida por pilocarpina em camundongos. Camundongos Swiss machos (28-34g), (n=8), foram pré-tratados com esses antimicrobianos nas doses de 100mg/kg e 200mg/kg por 7 dias. Duas horas após a última dose de cada fármaco foi induzida a convulsão em todos os animais através da administração de pilocarpina 400 mg/kg, via i.p.. Na análise comportamental, foram registrados os tempos para ocorrência da primeira convulsão e morte e, após os testes, foram dissecadas três áreas cerebrais (córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado) para determinar o grau de peroxidação lipídica, a concentração de malondialdeído (MDA), a concentração de nitrito e a participação da defesa antioxidante glutationa redutase (GSH). Os dados foram analisados por ANOVA e Student-Newman-Keuls como pós-teste. Foi observado que todos os antibióticos reduziram a latência de convulsão e de morte nas doses de 100 e 200 mg/kg com significância ( $p<0,001$ ). Em relação aos parâmetros de estresse oxidativo, houve aumento dos níveis de MDA em todas as áreas dos grupos tratados com os antimicrobianos nas doses de 100 e 200 mg/kg, no entanto, os grupos que receberam pilocarpina, houve aumento em todas as áreas apenas na dose de 200mg/kg. A concentração de nitrito também se encontra elevada na maioria das áreas nas doses de 100 e 200 mg/kg e nos grupos que receberam pilocarpina. Observou-se uma redução na concentração de GSH em todas as áreas dos grupos tratados com os antimicrobianos nas doses de 100 e 200 mg/kg em relação ao grupo sadio. Portanto, nossos achados corroboram com a atividade pró-convulsivante desses antimicrobianos já descrita em outros estudos, no entanto, sugerimos uma participação de mecanismos colinérgicos não descrita anteriormente.

**Palavras chave:** Convulsão. Epilepsia. Carbapenêmicos.

## **STUDY OF CONVULSIVANT POTENTIAL OF CARBAPENEMIC COMPOUNDS IN PILOCARPINE-INDUCED MODEL *in vivo and in vitro***

Infectious diseases of bacterial etiology have always been a serious problem for societies, not only because of their easy and rapid spread, but also because of the high mortality they cause. Treatment of these infections requires the therapeutic use of antibiotics. Carbapenems are antimicrobial drugs belonging to the  $\beta$ -lactam group and act by inhibiting bacterial cell wall synthesis. Treatment with these drugs can trigger several adverse effects such as nausea, rash, leucopenia, thrombocytopenia, nephrotoxicity and neurotoxicity. The risk of neurotoxicity is inherent in all class representatives, but seizure incidence may vary between drugs. This study aimed to study the effects of carbapenems (imipenem, meropenem and ertapenem) on pilocarpine induced seizure in mice. Male Swiss mice (28-34g) were pretreated with these antimicrobials at doses of 100mg / kg and 200mg / kg for 7 days. Two hours after the last dose of each drug, seizure was induced in all animals by the administration of pilocarpine 400 mg / kg ip. In the behavioral analysis, the times for the first seizure and death were recorded and, after the tests , Three brain areas (pre-frontal cortex, hippocampus and striatum) were dissected to determine the degree of lipid peroxidation, malondialdehyde concentration (MDA), nitrite concentration and the participation of the antioxidant defense glutathione reductase (GSH). Data were analyzed by ANOVA and Student-Newman-Keuls as post-test. All antibiotics were found to reduce seizure and death latencies at doses of 100 and 200 mg / kg with significance ( $p <0.001$ ). Regarding the parameters of oxidative stress, there was an increase in MDA levels in all areas of the groups treated with antimicrobials at doses of 100 and 200 mg / kg, however, the groups receiving pilocarpine increased in all areas only At the dose of 200mg / kg. Nitrite concentration is also elevated in most areas at doses of 100 and 200 mg / kg and in groups receiving pilocarpine. A reduction in GSH concentration was observed in all areas of the antimicrobial groups at doses of 100 and 200 mg / kg relative to the healthy group. Therefore, our findings corroborate with the pro-convulsive activity of these antimicrobials already described in other studies, however, we suggest a participation of cholinergic mechanisms not previously described.

**Key words:** Seizure. Epilepsy. Carbapenems.

## **LISTA DE FIGURAS**

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 - Estrutura química dos carbapenêmicos .....                                      | 27 |
| Figura 2 - Estrutura química do imipenem, meropenem e ertapenem .....                      | 29 |
| Figura 3 - Desenho Experimental.....   | 36 |
| Figura 4 - Esquema do Teste Convulsão induzida por Pilocarpina.....                        | 37 |
| Figura 5 – Esquema do tratamento dos astrócitos para obtenção da viabilidade celular ..... | 41 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 1 - Efeito da administração por 7 dias de antibióticos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem) nas doses de 100mg e 200mg/kg sobre a latência de convulsão induzida por pilocarpina (P400) em camundongos.....           | 42 |
| Gráfico 2 - Efeito da administração por 7 dias de antibióticos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem) nas doses de 100mg e 200mg/kg sobre a latência de morte induzida por pilocarpina (P400) em camundongos.....               | 43 |
| Gráfico 3 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400..... | 45 |
| Gráfico 4 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....     | 46 |
| Gráfico 5 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....          | 47 |
| Gráfico 6 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400..... | 49 |
| Gráfico 7 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....     | 50 |
| Gráfico 8 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....          | 51 |
| Gráfico 9 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                      | 52 |
| Gráfico 10 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                         | 53 |
| Gráfico 11 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                              | 54 |

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 12 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                       | 55 |
| Gráfico 13 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                           | 56 |
| Gráfico 14 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                                | 57 |
| Gráfico 15 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400..... | 59 |
| Gráfico 16 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....     | 60 |
| Gráfico 17 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                                | 61 |
| Gráfico 18 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400..... | 62 |
| Gráfico 19 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....     | 63 |
| Gráfico 20 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....                                | 64 |
| Gráfico 21 - Percentual de viabilidade celular de astrócitos corticais expostos a diferentes concentrações de imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem durante 24 horas. ....   | 65 |
| Gráfico 22 - Percentual de viabilidade celular de astrócitos corticais expostos a concentração mais elevada de imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem associados a pilocarpina durante 24 horas.....                                  | 65 |

## **LISTA DE TABELAS**

|                                      |    |
|--------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Drogas Utilizadas .....   | 33 |
| Tabela 2 - Grupos Experimentais..... | 35 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| a.C.                          | Antes de Cristo                             |
| ACh                           | Acetilcolina                                |
| ANOVA                         | Análise de Variância                        |
| BHE                           | Barreira Hematoencefálica                   |
| CAT                           | Catalase                                    |
| CE                            | Corpo Estriado                              |
| CEUA                          | Comitê de Ética em Pesquisa Animal          |
| CI                            | Intervalo de Confiança                      |
| CMI                           | Concentração Mínima Inibitória              |
| COBEA                         | Colégio Brasileiro de Experimentação Animal |
| CPF                           | CôrTEX Pré-Frontal                          |
| EO                            | Estresse Oxidativo                          |
| EPM                           | Erro Padrão da Média                        |
| ERN                           | Espécies Reativas do Nitrogênio             |
| ERO                           | Espécies Reativas do Oxigênio               |
| ERTA                          | Ertapenem                                   |
| Et al.                        | E colaboradores                             |
| FA                            | Frasco Ampola                               |
| FDA                           | Food <i>and</i> Drug Administration         |
| GABA                          | Ácido Gama Amino Butírico                   |
| GSH                           | Glutationa Reduzida                         |
| GSH-Px                        | Glutationa Peroxidase                       |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Peróxido de Hidrogênio                      |
| HC                            | Região Hipocampal                           |
| i.p.                          | Intraperitoneal                             |
| ILAE                          | International League Against Epilepsy       |
| MDA                           | Malonildialdeído                            |
| MERO                          | Meropenem                                   |
| MRSA                          | Methicillin-resistant <i>Staphylococcus</i> |
| NO                            | Óxido Nítrico                               |
| NOS                           | Óxido Nítrico Sintase                       |

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| NOS <sub>e</sub>            | Óxido Nítrico Endotelial                            |
| NOS <sub>i</sub>            | Óxido Nítrico Induzível                             |
| NOS <sub>n</sub>            | Óxido Nítrico Neuronal                              |
| O <sub>2</sub> <sup>-</sup> | Superóxido  |
| OH <sup>-</sup>             | Óxido Nítrico                                       |
| PILO                        | Pilocarpina   |
| SNC                         | Sistema Nervoso Central                             |
| SOD                         | Superóxido Dismutase                                |
| TBA                         | Ácido Tiobarbitúrico                                |
| TBARS                       | Substâncias Ácidas Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico |
| RCM                         | Receptores Colinérgicos Muscarínicos                |

## SUMÁRIO

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO .....</b>   | <b>19</b> |
| <b>1.1</b>   | <b>Epilepsia/Convulsão .....</b>  | <b>19</b> |
| <b>1.2</b>   | <b>Fisiopatologia da Convulsão .....</b>  | <b>20</b> |
| <b>1.2.1</b> | <b>Neurotransmissão colinérgica e epilepsia induzida por pilocarpina .....</b>  | <b>21</b> |
| <b>1.2.2</b> | <b>Neurotransmissão glutamatérgica e epilepsia induzida por pilocarpina .....</b>   | <b>22</b> |
| <b>1.2.3</b> | <b>Neurotransmissão gabaérgica e epilepsia induzida por pilocarpina .....</b>   | <b>22</b> |
| <b>1.3</b>   | <b>Estresse Oxidativo e Epilepsia .....</b>   | <b>24</b> |
| <b>1.4</b>   | <b>Astrócitos e seu envolvimento no processo convulsivo.....</b>  | <b>25</b> |
| <b>1.5</b>   | <b>Carbapenêmicos .....</b>   | <b>27</b> |
| <b>1.6</b>   | <b>Carbapenêmicos e Epilepsia.....</b>  | <b>29</b> |
| <b>2</b>     | <b>JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA .....</b>   | <b>31</b> |
| <b>3</b>     | <b>OBJETIVOS.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>3.1</b>   | <b>Objetivo Geral .....</b>   | <b>32</b> |
| <b>3.2</b>   | <b>Objetivos Específicos.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>4</b>     | <b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>4.1</b>   | <b>Drogas Utilizadas.....</b>   | <b>33</b> |
| <b>4.2</b>   | <b>Animais.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>4.3</b>   | <b>Procedimento Experimental .....</b>  | <b>36</b> |
| <b>4.3.1</b> | <b>Dissecção das Áreas Cerebrais .....</b>  | <b>37</b> |
| <b>4.3.2</b> | <b>Determinação de Parâmetros de Estresse Oxidativo .....</b>   | <b>38</b> |
| <b>4.3.3</b> | <b>Análise da atividade dos antimicrobianos sobre astrócitos <i>in vitro</i> .....</b>  | <b>39</b> |
| 4.3.3.1      | Estudos de viabilidade celular em cultura de astrócitos em ensaio com MTT.....  | 40        |
| <b>4.4</b>   | <b>Análise Estatística .....</b>  | <b>41</b> |
| <b>5.</b>    | <b>RESULTADOS.....</b>  | <b>42</b> |
| <b>5.1</b>   | <b>Estudo Comportamental .....</b>  | <b>42</b> |
| <b>5.1.1</b> | <b>Efeito da administração por 7 dias de antibióticos carbapenêmicos sobre as convulsões induzidas por pilocarpina.....</b>   | <b>42</b> |
| <b>5.2</b>   | <b>Estudo Neuroquímico .....</b>  | <b>44</b> |
| <b>5.2.1</b> | <b>Determinação da Peroxidação Lipídica (TBARS).....</b>  | <b>44</b> |
| 5.2.1.1      | Efeito do tratamento de imipenem/cilastatina, de meropenem e de ertapenem na dose de 100mg/kg sobre o nível de Peroxidação Lipídica (TBARS) em modelo de convulsão induzido por P400..... | 44        |

|  |           |
|--|-----------|
| 5.2.1.2 Efeito do tratamento de imipenem/cilastatina, de meropenem e de ertapenem na dose de 200mg/kg sobre o nível de Peroxidação Lipídica (TBARS) em modelo de convulsão induzido por P400 .....               | 48        |
| <b>5.2.2 Determinação de Nitrito .....</b>   | <b>51</b> |
| 5.2.2.1 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a determinação do conteúdo de nitrito em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400 .....       | 52        |
| 5.2.2.2 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a determinação do conteúdo de nitrito em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400 .....       | 55        |
| <b>5.2.3 Dosagem da Glutationa Reduzida (GSH).....</b>   | <b>58</b> |
| 5.2.3.1 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400 ..... | 58        |
| 5.2.3.2 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400 ..... | 61        |
| <b>5.3 Análise da atividade dos antimicrobianos sobre astrócitos <i>in vitro</i> .....</b>   | <b>64</b> |
| <b>5.3.1 Determinação da viabilidade celular após o tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem, ertapenem e pilocarpina.....</b>   | <b>64</b> |
| <b>6 DISCUSSÃO .....</b>   | <b>67</b> |
| <b>CONCLUSÃO .....</b>   | <b>75</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>   | <b>76</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Epilepsia/Convulsão

A epilepsia é uma doença neurológica, e geralmente se refere a doença crônica com várias manifestações clínicas recorrentes, resultante de impulsos elétricos anormais de neurônios no cérebro, que podem ser convulsivas ou não convulsivas dependendo da natureza e do tipo de epilepsia (NOEBELS *et.al.*, 2012; YANG *et al.*, 2014). Os relatos mais antigos sobre a epilepsia são manuscritos babilônicos, datados por volta de 2000 a.C., que registram diferentes tipos de ataques, sempre os associando a espíritos e enfatizando a natureza sobrenatural. Embora Hipócrates, há 400 anos a.C. tenha descrito que a epilepsia não era sagrada e nem divina, mas um distúrbio do cérebro, com suspeita de que sua origem fosse hereditária, ainda acreditava-se que a doença estava associada a aspectos místicos (CHAUDHARY; DUNCAN; LEMIEUX, 2011).

É o transtorno mais comum na clínica neurológica (THURMAN *et al.*, 2011). Atualmente, existem mais de 65 milhões de pessoas em todo o mundo com epilepsia (MOSHÉ *et al.*, 2015). Cerca de 2-5% das pessoas em todo o mundo já tiveram ou terão pelo menos uma crise epiléptica ao longo da vida (BEHR, 2016).

Esse distúrbio neurológico pode originar-se de insultos às estruturas cerebrais, tais como traumas, tumores, acidentes vasculares cerebrais ou infecções, ou ainda pode desenvolver-se devido a mutações genéticas em um ou mais genes relacionados a canais iônicos ou neurotransmissores que controlam a excitabilidade neuronal (BIALER & WHITE, 2010).

A disfunção neurológica na sua fase aguda é chamada de crise epiléptica, a qual, dependendo da área cerebral envolvida pode manifestar-se através de distúrbios de cognição ou consciência, movimentos involuntários, automatismos de comportamento ou manifestações autonômicas, sensoriais e psíquicas (CHAUDHARY; DUNCAN; LEMIEUX, 2011). O fator comum em todos os tipos de epilepsias envolve distúrbios na neurotransmissão excitatória e / ou inibitória do cérebro, que levam ao disparo rápido de neurônios (MOSHE *et al.*, 2015, WHO, 2015).

O evento mais dramático de alguns quadros de epilepsia é a convulsão. De acordo com a *International League Against Epilepsy* (ILAE), convulsão é definida

como uma ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas devido à atividade hipersincrônica e repetitiva de um grupamento neuronal do córtex cerebral, cuja distribuição anatômica e duração de sua atividade determinam a natureza da crise; enquanto a epilepsia é um distúrbio do cérebro caracterizado pela predisposição persistente em gerar crises convulsivas, provocando consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais (FISHER *et al.*, 2005; STEFAN *et al.*, 2009).

As convulsões podem envolver uma parte do corpo (parcial) ou todo o corpo (generalizado), e às vezes, são acompanhadas por perda de consciência e controle da função intestinal ou da bexiga. As crises do tipo parcial originam-se em um grupo pequeno de neurônios que constituem o foco da convulsão. Desta forma, a sintomatologia depende da localização do foco no cérebro. Estas crises podem ser do tipo parcial simples (sem alterações na consciência) ou parcial complexa (com alterações na consciência). As crises podem ter início focal e posteriormente generalizarem (envolverem o cérebro como um todo), sendo nestes casos chamadas crises parciais complexas. As crises generalizadas são aquelas em que há o envolvimento, desde o início, de ambos os hemisférios cerebrais (ENGEL, 2001).

As crises convulsivas podem se desenvolver com graus diferentes de envolvimento muscular. O evento motor consiste em aumento ou redução da contração muscular. O aumento da contração muscular pode ser do tipo tônico (significando contração muscular mantida durante segundos ou minutos), clônico (contrações musculares, seguidas de relaxamento gerando abalos musculares sucessivos) ou mioclônicos (contrações musculares muito breves, semelhantes a choques). A diminuição da contração muscular caracteriza as mioclonias negativas ou crises atônicas (ENGEL, 2001).

## 1.2 Fisiopatologia da Convulsão

A fisiopatologia da convulsão ainda não está completamente definida. Sabe-se que as convulsões são causadas por descargas elétricas excessivas e recorrentes a partir de células do cérebro (RODRIGUES *et al.*, 2012). A hiperexcitabilidade, o desequilíbrio entre sistemas de neurotransmissão excitatórios e inibitórios, e alterações na função e sincronicidade sinápticas são comuns a todos as doenças

neurodegenerativas, como também na epilepsia. Embora muitos mecanismos individuais possam operar no desenvolvimento de lesão neuronal, um desequilíbrio entre o sistema glutamatérgico (excitotoxicidade) e o sistema GABAérgico é considerado um mecanismo proeminente de correlação entre a morte celular e um grande número de desordens agudas e degenerativas. Alterações em canais iônicos ativados por voltagem ou por ligantes, bem como na neurotransmissão colinérgica também têm sido implicadas na epilepsia experimental e humana (MARTIN; ARAQUE; BUNO, 2001).

### **1.2.1 Neurotransmissão colinérgica e epilepsia induzida por pilocarpina**

A acetilcolina (ACh) é um mediador químico de sinapses no sistema nervoso central, no sistema nervoso periférico e também na junção neuromuscular. A Ach, seus receptores e o aparato enzimático responsável por sua síntese e degradação constituem o sistema de neurotransmissão colinérgica (BRUNEAU & AKAABOUNE, 2006). Diversos estudos sugerem o envolvimento do sistema colinérgico na epilepsia humana (HIRSCH *et al.*, 1992; JOPE *et al.*, 1986; MICHOTTE *et al.*, 2000; NATHANSON *et al.*, 1999; PERSINGER *et al.*, 2001; TURSKI *et al.*, 1983a).

A estimulação cerebral induzida pela ACh ocorre através da ativação dos receptores colinérgicos cerebrais, onde cerca de 99% deste são muscarínicos, e 1% são nicotínicos (ELGOYHEN *et al.*, 2000; PEPEU, 1983). Assim, a maioria dos efeitos de ativação colinérgica no cérebro é provavelmente devido à estimulação dos receptores colinérgicos muscarínicos (RCM).

Diversos estudos anatomo-patológicos do modelo colinérgico têm evidenciado importantes alterações do tecido nervoso similares ao que se observa em humanos, sendo que diferentes estruturas neurais são atingidas, tais como hipocampo, complexo amígdalóide, córtex entorrinal e neocôrtex. (TURSKI *et al.*, 1983a). As inervações colinérgicas hipocampais originam-se principalmente de corpos celulares neuronais localizados no núcleo septal medial e núcleo da borda vertical da banda diagonal de Broca (AZNAVOUR; DESCARRIES; MECHAWAR, 2002).

O sistema colinérgico pode interagir de forma direta e/ou indireta com outros

sistemas, como: dopaminérgico (Al-Tajir *et al.*, 1990a; Barone *et al.*, 1991), glutamatérgico (Fujikawa *et al.*, 1994 e 1995) e GABAérgico (FRITSCHY *et al.*, 1999; ERAKOVIC *et al.*, 2000; COSTA-LOTUFO *et al.*, 2002), que ao serem ativados atuam para a manutenção e/ou propagação das convulsões (FREITAS *et al.*, 2003).

### **1.2.2 Neurotransmissão glutamatérgica e epilepsia induzida por pilocarpina**

O processo convulsivo decorrente do tratamento com pilocarpina, parece interagir de forma indireta com o sistema glutamatérgico, uma vez que, ocorre um aumento da ativação do receptor glutamatérgico do tipo NMDA durante as convulsões, culminando em um aumento da concentração do cálcio intracelular e na diminuição da resposta dos receptores GABA<sub>A</sub> que se tornam incapazes de inibir o aparecimento das convulsões (ISOKAWA, *et al.*, 1998).

O sistema glutamatérgico foi também implicado nas propriedades aditivas da pilocarpina e parece ter um importante papel nos efeitos neurotóxicos da droga. O aumento da estimulação dos receptores glutamatérgicos NMDA induz convulsões e dano neuronal (KOHL, *et al.*, 2001). Dentre os diferentes receptores glutamatérgicos, o receptor NMDA, está envolvido de maneira importante com os sistemas cardiovascular, respiratório e neuronal, todos os quais estando seriamente comprometidos durante as convulsões induzidas pela pilocarpina (BERGER, *et al.*, 1995). O NMDA reduz a latência das convulsões, aumenta o número de animais que convulsionam e a taxa de mortalidade (FREITAS, K. M. *et al.*, 2006).

### **1.2.3 Neurotransmissão gabaérgica e epilepsia induzida por pilocarpina**

O ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central. É sintetizado a partir do L-glutamato, numa reação de descarboxilação catalisada pela enzima glutamato descarboxilase (GAD), enzima encontrada apenas em neurônios que sintetizam este neurotransmissor no cérebro. Após ser sintetizado, o GABA é empacotado dentro de vesículas. Após a liberação na fenda

sináptica, o GABA liga-se a seu receptor, causando hiperpolarização, devido influxo de  $\text{Cl}^-$  ou efluxo de  $\text{K}^+$ , no neurônio pós-sináptico (ROBERTS, 1976).

O GABA atua em dois tipos distintos de receptores:  $\text{GABA}_A$  e  $\text{GABA}_B$ . O receptor  $\text{GABA}_A$  consiste em um canal regulado por ligante, sensível ao cloreto e é antagonizado pela picrotoxina e bicuculina, ambas causando convulsões generalizadas (BORMANN, 1988; SILVIOLTTI; NISTRI, 1991). Os receptores  $\text{GABA}_B$  são acoplados à proteína G e regulam canais de  $\text{K}^+$  que quando ativados reduzem a condutância ao cálcio ou ativam os canais de potássio (BORMANN, 1988; BOWERY, 1993). Os receptores  $\text{GABA}_A$  são os de maior importância por possuírem um papel central na regulação da excitabilidade cerebral através de seus efeitos inibitórios (BOWERY, 1993).

O processo de convulsão induzido pelo tratamento com altas doses de pilocarpina, parece interagir com o sistema GABAérgico, uma vez que a ativação do receptor GABAérgico do tipo  $\text{GABA}_A$  pode estar diminuída em decorrência do aumento da concentração do cálcio intracelular induzida pelos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, que pode ser essencial para a instalação e propagação da atividade epiléptica 53. Durante as convulsões induzidas pela pilocarpina, também ocorre mudanças na concentração de outros aminoácidos, como: glutamato, taurina, glutamina, aspartato e glicina (DE LORENZO, *et al.*, 2000; MICHOTTE, *et al.*, 2000). Além disso, a densidade máxima dos receptores GABAérgicos encontra-se diminuída (FREITAS, *et al.*, 2004).

Sabe-se que as conexões GABAérgicas no hipocampo originam-se de ambos neurônios intrínsecos (interneurônios) e extrínsecos (projeções) (FREUND; BUZSÁKI, 1996). Neurônios contendo o GABA se constituem nos principais neurônios inibitórios no cérebro e são a vasta maioria dos interneurônios na formação hipocampal. Enquanto que os neurônios das camadas piramidais hipocampais são relativamente uniformes, os interneurônios GABAérgicos são caracterizados por sua diversidade nas características morfológicas, químicas e fisiológicas. (FUKUDA *et al.*, 1997). Projeções neuronais estriatais nos gânglios da base são eficientemente controladas pelo sistema GABAérgico, e o aumento do GABA impede a ação de agonista colinérgico (KOSS, *et al.*, 1999). O controle do sistema gabaérgico através do sistema colinérgico pode ser essencial para modular condições fisiológicas (KOSS, *et al.*, 2002), sugerindo que a

quebra deste equilíbrio pode gerar processos neurodegenerativos. O aumento na liberação do GABA estriatal pode evitar as situações patológicas mediadas pela estimulação colinérgica muscarínica (GRASSHOFF, *et al.*, 2003).

### 1.3 Estresse Oxidativo e Epilepsia

O termo estresse foi empregado pela primeira vez por Hans Selye (1936) para descrever uma ameaça real ou potencial à homeostasia. Em 1956, 20 anos depois, Harman propôs a “teoria dos radicais livres” para o processo de envelhecimento. Ele sugeriu que os radicais livres produzidos durante a respiração aeróbica possuíam efeitos deletérios sobre os componentes celulares e tecidos conjuntivos, causando danos cumulativos que resultam no processo de envelhecimento e, eventualmente, morte. Esse autor especulou, inicialmente, que os radicais livres eram produzidos por reações envolvendo oxigênio molecular e catalisados nas células por enzimas oxidativas (HARMAN, 1956).

Em 1972, Harman incluiu o envolvimento das mitocôndrias no processo fisiológico de envelhecimento. Aproximadamente 90 % de todo o oxigênio na célula é consumido na mitocôndria, especialmente na membrana interna onde ocorre a fosforilação oxidativa (HARMAN, 1972).

O estresse oxidativo mostrou estar associado em espécies reativas de oxigênio (ERO), espécies reativas de nitrogênio (ERN) e vias de sinalização do óxido nítrico (NO), através das quais o NO biodisponível diminui e a produção de ERO e ERN aumenta (SZABÓ, 2007). As vias de estresse oxidativo e nitrosativo são induzidas por respostas inflamatórias e processos metabólicos mitocondriais subsequentes geram moléculas de radicais livres altamente reativas. ERO é um termo bastante amplo que abrange não somente radicais de oxigênio como radical superóxido ( $O_2^-$ ), hidroxila ( $OH^-$ ), óxido nítrico (NO), mas também derivado do oxigênio que não é radical, como peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Um exemplo de ERN é o óxido nítrico (BERRA; MENCK; DI MASCIO, 2006).

Em condições fisiológicas as vias de defesa compensam a produção de ERO e ERN, portanto nessas condições as espécies reativas possuem papéis fisiológicos que incluem a sinalização. Em condições de produção excessiva ou se as defesas do

organismo estiverem comprometidas, as ERO e ERN poderão reagir com ácidos graxos, proteínas e DNA, causando danos a esses substratos. (MAES *et al.*, 2011).

Radical livre compreende toda estrutura química capaz de apresentar orbitais contendo um ou mais elétrons desemparelhados, os quais conferem ao radical livre uma grande capacidade de reagir com moléculas alvo (JARDIM, 2005). Radicais livres, EROs e ERN, entre outras espécies reativas, são partes integrantes do metabolismo humano e é observada em diversas condições fisiológicas. (NASCIMENTO *et. al.*, 2013).

#### **1.4 Astrócitos e seu envolvimento no processo convulsivo**

As células gliais fazem parte do Sistema Nervoso e dentre suas diversas funções destacam-se o auxílio no suporte e as ações no funcionamento do sistema nervoso central (SNC). A microglia é a célula glial que desempenha o papel imunomodulador no SNC (LING *et al.*, 1973). Quando há lesão no tecido nervoso, ocorrem ativação e proliferação microglial com subsequente secreção de citocinas, prostaglandinas e outras substâncias que participam do processo inflamatório (KREUTZBERG *et al.*, 1996; HANISCH *et al.*, 2002).

Os astrócitos são as células gliais encontradas em maior quantidade no SNC, tendo importância no suporte trófico, metabólico e estrutural dos neurônios (Ricci *et al.*, 2009). A interação entre os astrócitos e os neurônios em situações fisiológicas é conhecida de longa data (RAMÓN & CAJAL, 1899), entretanto os seus detalhes ainda precisam ser esclarecidos (CARMIGNOTO, 2000). Essas células expressam diversas citocinas e fatores neurotróficos que podem interferir no metabolismo e na sobrevivência neuronal (RANSOM & RANSOM, 2012). Além disso, estas moléculas regulam a sinalização sináptica e podem também apresentar influência sobre o desenvolvimento das células neuronais precursoras do SNC (SEIFERT *et al.*, 2006). Quando o SNC sofre uma lesão, os astrócitos tornam-se reativos, estado no qual a célula deflagra mecanismos de neuroproteção (ARAQUE *et al.*, 2001).

A reatividade dos astrócitos é uma característica patológica de vários tipos de epilepsias: focal refratária, epilepsia secundária à isquêmica, traumática, infecciosa ou lesão cerebral (SOFRONIEW & VINTERS, 2010).

Por muito tempo essas células foram vistas como meras coadjuvantes nas redes neuronais, porém, com os recorrentes avanços da neurociência, foi observado que, devido a sua estreita relação com os neurônios, os astrócitos são considerados reguladores chaves do funcionamento cerebral (HALASSA *et al.*, 2007; SIDORYK-WEGRZYNOWICZ & ASCHNER, 2013).

Durante o desenvolvimento do SNC de mamíferos, as células precursoras neuronais geram inicialmente os neurônios e em seguida os astrócitos (CLARKE & BARRES, 2013). Ao contrário dos neurônios, os astrócitos não são células eletricamente excitáveis, ou seja, não geram impulsos elétricos. Essas células exibem uma forma de excitabilidade que é baseada na variação da concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ , uma vez que a ativação de seus receptores para neurotransmissores leva a um aumento na concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ , estímulo esse que pode propagar-se para as células vizinhas como uma espécie de onda intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  (CORNELL-BELL *et al.*, 1990; SCEMES & GIAUME, 2006). Esse aumento do  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular promove a liberação dos denominados gliotransmissores, os quais são substâncias neuroativas capazes de controlar diversos processos cerebrais, tais como tônus vascular e atividade neuronal (HAYDON & CARMIGNOTO, 2006).

Os Astrócitos também são capazes de realizar a modulação das vias de sinalização de transmissores, incluindo glutamato, GABA e adenosina, e, consequentemente apresentam potencial para modular a transmissão sináptica e excitabilidade neuronal (CLASADONTE & HAYDON, 2010; HALASSA *et al.*, 2007). Isso se dá em virtude da formação da chamada sinapse tripartida. Esta é constituída por três integrantes: elementos pré-sinápticos e pós-sinápticos neuronais e os astrócitos, a partir de seus processos celulares. A sinapse tripartida constitui-se um dos sítios de atuação dos gliotransmissores, os quais atuam sobre o processo sináptico através de mecanismos capazes de regularem a função pré-sináptica e modular a resposta pós-sinaptica.

Até recentemente, a epilepsia foi considerada como uma condição quase que exclusivamente relacionada aos neurônios. Levando-se em consideração o conceito

atualmente aceito de que os astrócitos são parte ativa e integrante no processo de comunicação da transmissão sináptica excitatória e inibitória, evidências emergentes tem sugerido um papel crítico para estas células da glia na patogênese de distúrbios neurológicos, como a epilepsia (HALASSA *et al.*, 2007; WETHERINGTON *et al.*, 2008).

Atualmente as drogas antiepilepticas são direcionadas para agirem especificamente sobre neurônios, no entanto, estudos atuais revelaram a importância do envolvimento dos astrócitos na epileptogênese (HEUSER *et al.*, 2014).

## 1.5 Carbapenêmicos

Os carbapenêmicos são antibióticos  $\beta$ -lactâmicos que possuem em sua estrutura um átomo de carbono na posição 1, uma ligação insaturada entre C2 e C3 no anel de cinco membros e um substituinte hidroxietila com configuração *trans* na posição 6 na cadeia lateral, contrastando com os restantes beta-lactâmicos (SOUSA, 2006). Apresentam um amplo espectro e são utilizados como agentes de última linha para tratamento de muitas bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, incluindo os microrganismos produtores de ESBL (extended-spectrum beta-lactamases) (BRADLEY, *et al.*, 1999; CARLET, *et al.*, 2013; PATERSON & BONOMO, 2005; TORRES, *et al.*, 2007).

O largo espectro de atividade é associado com a sua resistência intrínseca a quase todas  $\beta$ -lactamases. A estabilidade a essas  $\beta$ -lactamase é devido ao substituinte *trans*- $\alpha$ -1-hidroxietila (KAHAN, *et al.*, 1979).

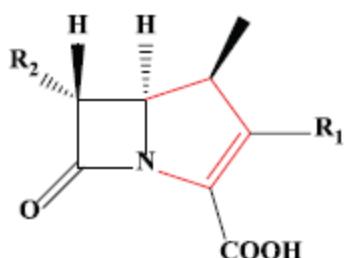


Figura 1 - Estrutura química dos carbapenêmicos

Fonte: Carbapenems: Past, Present, and Future - *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

Os antibióticos carbapenêmicos atuam inibindo a síntese da parede celular bacteriana, através de um mecanismo que bloqueia a transpeptidação responsável pela união dos componentes individuais do peptidoglicano. Esses fármacos ligam-se covalentemente às PBPs (penicilin-binding-protein) presentes na parede bacteriana, principalmente as PBP1 e PBP2, provocando a lise osmótica da bactéria (MARTÍNEZ & CALVO, 2010). Para que estes antibióticos consigam exercer o seu efeito, é necessário que atravessem a parede celular bacteriana e se liguem às PBPs, mantendo o seu anel beta-lactâmico intacto. Dado que as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas possuem uma estrutura diferente, é de esperar que o modo como estes penetram nas bactérias seja também diferente. Apesar de os microrganismos Gram-negativos apresentarem por fora uma camada rica em lipídeos, os representantes dessa classe farmacológica conseguem atravessar essa camada devido ao seu peso molecular e à sua hidrofilia compatível com os canais de porina (SOUSA, 2006).

Os carbapenêmicos possuem um amplo espectro de ação, incluindo a maioria dos microrganismos Gram-positivos, excetuando os MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), tal como a maioria dos Gram-negativos, excluindo o *S. maltophilia* e *B. cepacia* e praticamente todas as bactérias anaeróbias (PAPP-WALLACE *et al.*, 2011).

O imipenem, meropenem (mero), ertapenem (erta) são os carbapenêmicos mais utilizados. Cada fármaco apresenta suas vantagens e desvantagens.

O imipenem foi aprovado para utilização em 1985 pela Food and Drug Administration (FDA). É produzido por *Streptomyces cattleya*, com tempo de semi-vida curto, mas com enorme espetro de ação. Tem sido o carbapenem mais amplamente utilizado. É rapidamente degradada pela desidropeptidase renal I (DHP-I) e requer a co-administração com cilastatina, um DHP-I inhibitor (JONES & PFALLER, 1998; LIVERMORE, 2001). É usado apenas em ambiente hospitalar, via intramuscular (IM) ou intravenosa (IV), pois a sua absorção oral é reduzida, sendo apenas sugerido em casos de infecções agudas graves (HELLINGER & BREWER, 1991).

O meropenem foi aprovado para uso em 1995 pela FDA e não se degrada significativamente por DHP-I. É um antibiótico de largo espetro e resistente à degradação por beta-lactamases, exceto por carbapenemases. É também apenas usado

em última linha no combate a graves infecções e em ambiente hospitalar; mais ativo contra *Pseudomonas aeruginosa* que o imipenemo (ZHANEL *et al.*, 2005).

Ertapenem foi aprovado para utilização em 2001 pela FDA e é também estável contra DHP-I (MORI *et al.*, 1996). É usado em infeções graves na comunidade e, sobretudo em ambiente hospitalar. Apresenta um espectro de ação mais reduzido; baixa concentração mínima inibitória (CMI) contra enterobactérias (YELLIN *et al.*, 2002; ZHANEL *et al.*, 2005).

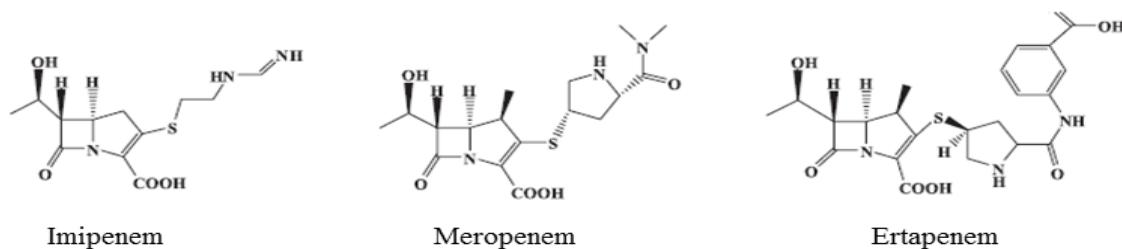


Figura 2 - Estrutura química do imipenem, meropenem e ertapenem

Fonte: Carbapenems: Past, Present, and Future - *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.

O tratamento com algum fármaco da classe dos carbapenêmicos pode desencadear várias reações adversas, as mais comuns são: náuseas, dor de cabeça, diarréia, vômito, flebite, erupção cutânea e prurido, no entanto, podem ocorrer reações relacionadas ao sistema nervoso central – SNC, especialmente convulsões (NORRBY, 2000).

## 1.6 Carbapenêmicos e Epilepsia

Além dos efeitos adversos mais simples os carbapenêmicos estão associados com incidência de várias reações graves como anafilaxia, nefrotoxicidade, leucopenia, trombocitopenia, toxicidade dermatológica e diarréia, esses efeitos são mais frequentes quando comparados à neurotoxicidade (GRANOWITZ & BROWN, 2008).

O risco de neurotoxicidade é inerente a todos os representantes da classe, mas a incidência varia entre os fármacos (NORRBY, 2000). Estudos em animais confirmam que a neurotoxicidade com imipenem-cilastatina pode ser notado em níveis

substancialmente mais baixos no sangue do que com outros  $\beta$ -lactâmicos e em relação ao meropenem e ao ertapenem (ENG; MUNSIF; NANGCO, 1989). O FDA exigiu uma rotulagem para controlar o uso dos carbapenêmicos, na tentativa de reduzir os índices de toxicidade ao SNC (NORRBY, 2000).

## 2 JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

Os Antibióticos p-lactâmicos são conhecidos por causar convulsões tanto em animais experimentais quanto na clínica. (SHIMADA *et al.*, 1992). Os carbapenêmicos também podem induzir convulsões em várias espécies animais, quando administrados em doses elevadas e a sua ação convulsiva tem sido relacionada com a inibição do sistema GABA, entretanto esse possível mecanismo não está elucidado (MILLER *et al.*, 2011).

Os compostos carbapenêmicos também provocaram mudanças nas concentrações dos aminoácidos no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado, as quais estão envolvidas nos processos de gênese, propagação e manutenção das convulsões (LIMA, 2011).

O meropenem e ertapenem apesar de terem sido feitas para não apresentar esse efeito adverso ainda estão envolvidos com o aparecimento de convulsão e não foi sugerido nenhum possível mecanismo. Devido à importância farmacoterapêutica desses fármacos enquanto antimicrobianos para a clínica faz-se necessário a investigação que possibilite conhecer a reação adversa citada, bem como os mecanismos envolvidos, visando à prevenção deste grave efeito adverso.

Acredita-se que o imipenem, meropenem e ertapenem apresentem um efeito modulador sobre o funcionamento do sistema colinérgico muscarínico, em nível central, como mecanismo alternativo para potencialização das convulsões no modelo da pilocarpina, sugerindo um possível mecanismo colinérgico envolvido.

Nesse contexto, o presente trabalho investigou as alterações provocadas por esses antibióticos a fim de contribuir com informações que auxiliem no conhecimento dos mecanismos envolvidos nessas convulsões, e assim fornecer subsídios para estudos envolvendo estratégias de inovação terapêutica e tecnologia farmacêutica, objetivando minimizar ou inibir esse efeito adverso, propiciando melhor utilização de suas ações farmacológicas e terapêuticas.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

- Avaliar os efeitos comportamentais e neuroquímicos de compostos carbapenêmicos em modelo de convulsões induzidas por pilocarpina *in vivo e in vitro*.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Verificar alterações comportamentais dos animais tratados com carbapenêmicos durante 7 dias, utilizando modelo de convulsão induzida por pilocarpina, pelos seguintes parâmetros: latência da primeira convulsão e morte.
- Determinar os níveis de peroxidação lipídica (TBARS) e de formação de nitrito e em hipocampo, corpo estriado e córtex frontal de camundongos.
- Quantificar os níveis de glutationa reduzida (GSH) nas áreas cerebrais em hipocampo, corpo estriado e córtex frontal de camundongos.
- Analisar a viabilidade celular de astrócitos submetidos ao tratamento com carbapenêmicos *in vitro*.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Drogas Utilizadas

Os antibióticos utilizados foram doados pelo Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), já a Pilocarpina foi adquirida da SIGMA-ALDRICH. As doses utilizadas assim como as vias de administração estão descritas abaixo.

Tabela 1 - Drogas Utilizadas

| Drogas               | Concentrações   | Via                    |
|----------------------|-----------------|------------------------|
| Imipenem/Cilastatina | 100 e 200 mg/Kg | Subcutânea             |
| Meropenem            | 100 e 200 mg/Kg | Subcutânea             |
| Ertapenem            | 100 e 200 mg/Kg | Subcutânea             |
| Pilocarpina          | 400mg/Kg        | Intraperitoneal (i.p.) |

Fonte: Elaborada pelo autor.

#### ▪ Cálculo das Drogas

As doses foram convertidas para camundongos de acordo com a literatura. As doses de 100 e 200 mg/kg correspondem a 500mg e 1000mg respectivamente.

Os cálculos abaixo mostram como foi feito para chegarmos as doses equivalentes para animal, já que os antibióticos são comercializados em frasco ampola com doses fixas para humanos.

#### IMIPENEM/CILASTATINA

1 FA Tienam® 500mg: Possui 1,0g de massa total (Princípio Ativo + Excipientes)

Logo: 1,000g corresponde ----- 500mg de Imipenem/Cilastatina

X ----- 200mg de Imipenem/Cilastatina

X = 0,400g

## MEROPENEM

1 FA Meronem® 1000mg: Possui 1,308g de massa total (Princípio Ativo + Excipientes)

Logo: 1,500g corresponde ----- 1000mg de Meropenem

X ----- 200mg de Meropenem

X = 0,300g

## ERTAPENEM

1 FA Invanz® 1000mg: Possui 1,400g de massa total (Princípio Ativo + Excipientes)

Logo: 1,500g corresponde ----- 1000mg de Ertapenem

X ----- 200mg de Ertapenem

X = 0,300g

### ▪ Preparo das Drogas

Os carbapenêmicos (Imipenem + Cilastatina, Meropenem, Ertapenem), contidos em frascos ampola (FA), foram pesados e diluídos em solução salina 0,9%, obtendo-se as doses de 100 e 200 mg/Kg. Da mesma forma, pesou a Pilocarpina e dilui-se em salina 0,9% para obter a dose de 400mg/Kg.

### 4.2 Animais

Foram utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade Swiss, machos, adultos, pesando entre 28-34g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno com 414 x 344 x 168 mm de dimensão, com ciclo claro/escuro alternado de doze horas, recebendo ração e água *ad libitum*.

Todo o procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo 33/17. Os

protocolos experimentais seguiram os princípios éticos na experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

#### ■ Tratamento

Os animais foram tratados com os carbapenêmicos nas doses de 100 e 200 mg/Kg, administrados por via subcutânea, durante 7 dias. O grupo controle foi tratado com solução salina (NaCl, 0,9%). No último dia, duas horas após a administração dos antimicrobianos, administrou-se pilocarpina na dose de 400 mg/Kg, via intraperitoneal.

As doses utilizadas, assim com o tempo de tratamento simula o que ocorre na clínica. No entanto, a via de administração é diferente, mas não compromete os resultados, visto que um estudo farmacocinético realizado em camundongos, demonstrou que esses antimicrobianos são capazes de ultrapassar a barreira hemaencefálica (BHE).

Tabela 2 - Grupos Experimentais

| Grupos Experimentais | Droga Utilizada                    |
|----------------------|------------------------------------|
| Sadio                | Salina 0,9%                        |
| Controle             | Salina 0,9% + Pilocarpina 400mg/kg |
| IS 100               | Imipenem 100mg/kg + Salina 0,9%    |
| IS 200               | Imipenem 200mg/kg + Salina 0,9%    |
| IP 100               | Imipenem 100mg/kg + Pilo 400mg/kg  |
| IP 200               | Imipenem 200mg/kg + Pilo 400mg/kg  |
| MS 100               | Meropenem 100mg/kg + Salina 0,9%   |
| MS 200               | Meropenem 200mg/kg + Salina 0,9%   |
| MP 100               | Meropenem 100mg/kg + Pilo 400mg/kg |
| MP 200               | Meropenem 200mg/kg + Pilo 400mg/kg |
| ES 100               | Ertapenem 100mg/kg + Salina 0,9%   |
| ES 200               | Ertapenem 200mg/kg + Salina 0,9%   |
| EP 100               | Ertapenem 100mg/kg + Pilo 400mg/kg |
| EP 200               | Ertapenem 200mg/kg + Pilo 400mg/kg |

Fonte: Elaborada pelo autor.

**I** – imipenem/cilastatina; **M** – meropenem; **E** – ertapenem; **S** – Salina; **P** – pilocarpina.

### 4.3 Procedimento Experimental

O fluxograma abaixo resume como foi realizado o procedimento experimental.

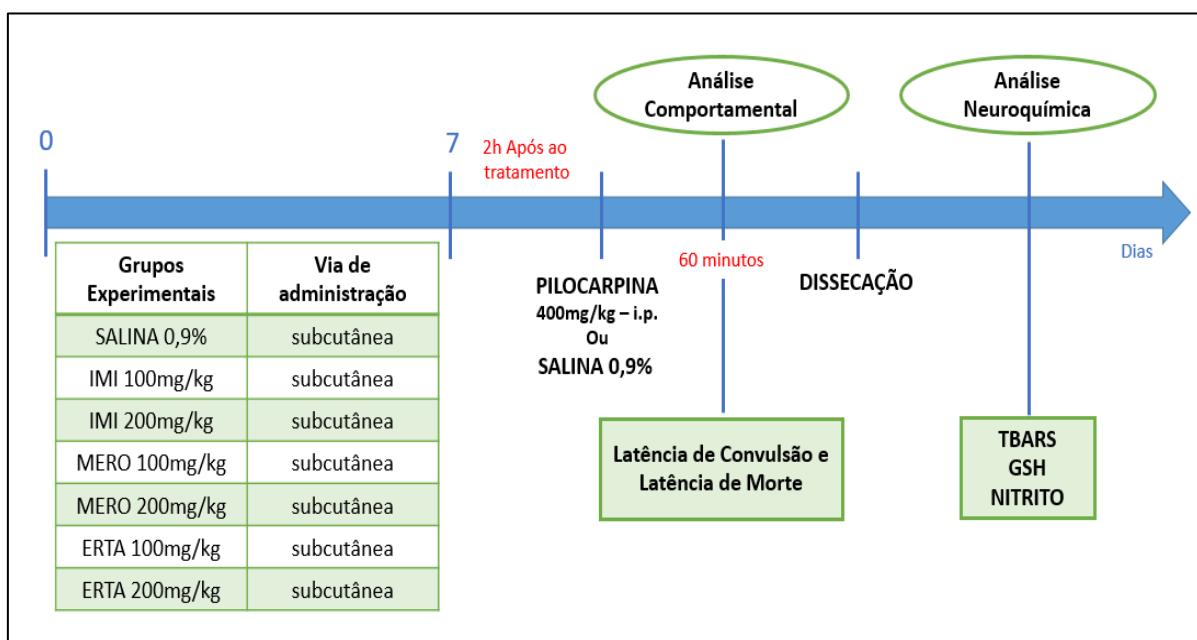


Figura 3 - Desenho Experimental

Fonte: Elaborada pelo autor.

### Teste das Convulsões Induzidas por Pilocarpina

Realizado de acordo com a metodologia descrita por Turski (1983) com a finalidade de comparar a atividade pró-convulsivante dos carbapenêmicos em estudo, utilizando-se, para isso, a via colinérgica. Duas horas após o tratamento dos grupos controle (salina 0,9%), imipenem/cilastatina (100 e 200 mg/Kg), meropenem (100 e 200 mg/Kg) e ertapenem (100 e 200 mg/Kg), administrou-se, por via intraperitoneal (i.p.), pilocarpina 400 mg/Kg. Os animais foram acondicionados em caixas individuais e observados por 60 minutos. Os parâmetros avaliados foram latência da primeira convulsão e latência de morte.

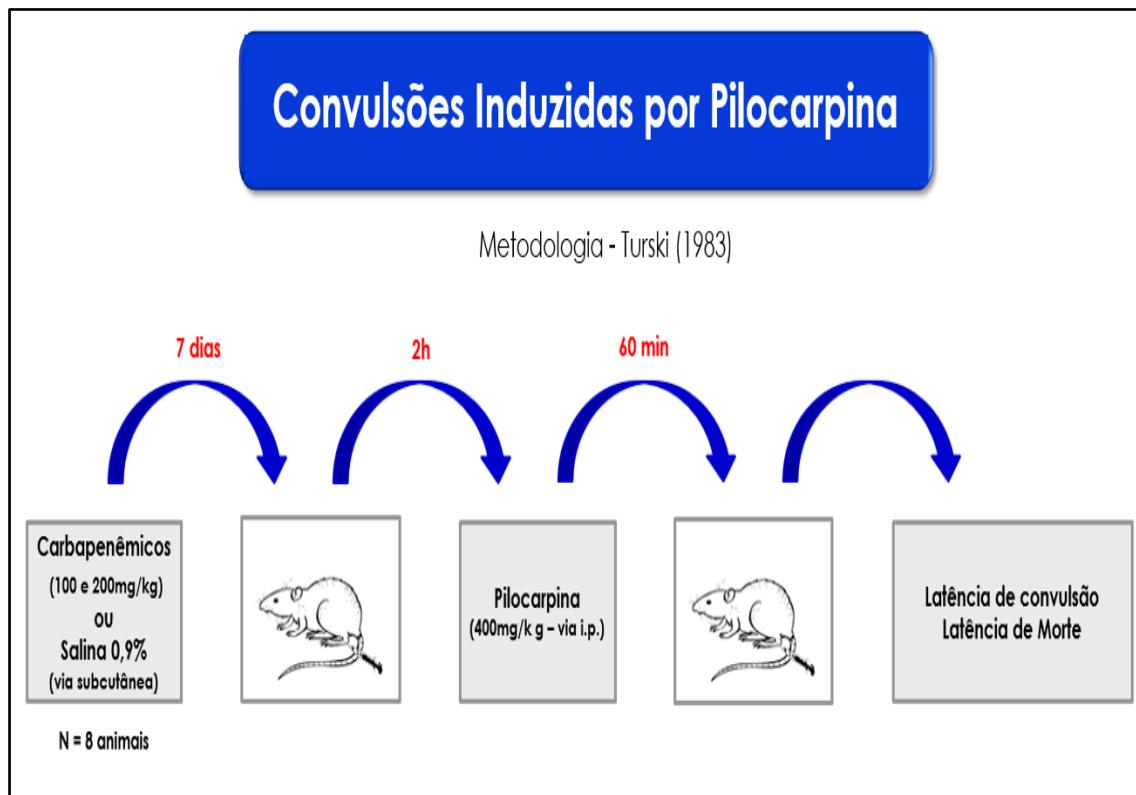


Figura 4 - Esquema do Teste Convulsão induzida por Pilocarpina

Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.3.1 Dissecção das Áreas Cerebrais

Depois da morte dos animais, os encéfalos foram retirados e rapidamente colocados sobre papel alumínio em uma placa de Petri com gelo. Para a retirada do CórTEX pré-frontal (CPF), a porção anterior dos lobos frontais (em torno de 1,5mm a partir do bulbo olfatório) foi removida e feita uma secção bilateral com o auxílio de uma tesoura de microdissecção (MACHADO, 1985).

Como as áreas corticais dos camundongos são geralmente menos evoluídas, menos diferenciadas e menos segregadas que o córtex cerebral de primatas existia uma controvérsia na literatura se roedores, realmente, possuíam córtex pré-frontal. A conclusão é que estes animais possuem um córtex frontal que pode ser definido anatomicamente e funcionalmente como córtex pré-frontal, o qual é subdividido em uma região orbital-símile e outra região que pode incluir as estruturas dorsolateral e anterior cingulado-símile (UYLINGS *et al.*, 2003).

Após a retirada do CPF, acompanhando a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi rebatida das leptomeninges com o auxílio de uma pinça reta de microdissecção, a qual, progredindo delicada e tangencialmente aos ventrículos laterais, divulsionou o córtex em toda a sua extensão fronto-occipital. O córtex já divulsionado foi rebatido para os lados, expondo região hipocampal (HC) e parte do corpo estriado (CE). O hipocampo e o corpo estriado (caudado, putamen e núcleo acumbens) foram isolados das estruturas circunjacentes por divulsionamento com uma tesoura de microdissecção, sendo a retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos, após o rebatimento lateral do córtex.

Terminada a dissecação, cada área cerebral (córtex pré-frontal, hipocampo, corpo estriado) foi acondicionada em papel alumínio devidamente identificado, pesado e conservado a -70 °C para uso posterior (BURKE GREENBAUN, 1987).

#### **4.3.2 Determinação de Parâmetros de Estresse Oxidativo**

- **Determinação de Glutationa Reduzida (GSH)**

Os níveis de GSH foram avaliados para fazer uma estimativa de defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método é baseado na reação de reagente de Ellman (DTNB), com grupos tiol livres. As áreas do cérebro foram diluídas em tampão de 0,02M de EDTA (10% w / v) e adicionadas a uma solução de ácido tricloacético a 50%. Após centrifugação (3000 rpm/15 min), o sobrenadante do homogeneizado foi recolhido e os níveis de GSH foram determinados (SEDLAK; LINDSAY, 1968). Resumidamente, as amostras foram misturadas com 0,4 M de tampão tris-HCl, pH 8,9 e 0,01 M de DTNB. Níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculada com base numa curva padrão de glutationa e expressos como ng de GSH/g de tecido úmido.

- **Determinação da Peroxidação Lipídica (TBARS)**

O grau de lipoperoxidação nas áreas cerebrais será medido através da determinação dos níveis de malondialdeído, conforme o método de Huong *et al.* (1998).

A peroxidação lipídica é uma das mais importantes expressões orgânicas do estresse oxidativo induzido pela reatividade de radicais livres do oxigênio. O método mais empregado para a determinação do malonildialdeído (MDA) em amostras biológicas é baseado na sua reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA).

As amostras foram homogenizadas com tampão fosfato de potássio monobásico 50 mM pH 7,4, 63 $\mu$ L do homogenato foi misturado a 100  $\mu$ L de ácido perclórico 35%, sendo estas centrifugadas (7000 rpm/15 min), no qual 150  $\mu$ L do sobrenadante foram recuperados e misturado com 50  $\mu$ L de ácido tiobarbitúrico 1,2%. Em seguida, estas amostras foram aquecidas em “banho maria” a 95°C durante 30 min. Após o resfriamento, a peroxidação lipídica foi determinada por absorbância a 535 nm e expressa como mcg de MDA / g de tecido úmido (OHKAWA; OHISHI; YAGI, 1979).

- **Determinação dos Níveis de Nitrito**

A mensuração do conteúdo de nitrito foi feita de acordo com o método descrito por Green *et al.* (1981). Este método é utilizado para determinação da formação de radicais derivados de nitrogênio, sendo um modo indireto de se determinar a síntese de óxido nítrico (NO).

Em uma placa de 96 poços foi adicionado 100  $\mu$ L do reagente de Griess (Partes iguais de: Sulfanilamida 0,1% em ác. fosfórico 5%, NEED 1%, Ácido Fosfórico 5% e Água destilada, na proporção de 1:1:1:1) juntamente com 100  $\mu$ L do homogenato de tecido a 10% em tampão fosfato. A absorbância foi medida em leitor de microplacas, em 560 nm e foi expressa em nM de nitrito/g de tecido úmido.

#### **4.3.3 Análise da atividade dos antimicrobianos sobre astrócitos *in vitro***

- **Linhagem celular**

A linhagem de astrócitos corticais imortalizados foi gentilmente concedida pela Profa. Dra. Soraya Soubhi Smaili (Laboratório de Sinalização de Cálcio e Morte Celular - Universidade Federal de São Paulo).

- **Cultivo da linhagem celular utilizada**

Os astrócitos corticais foram cultivados em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) suplementado com soro bovino fetal (10%) e antibióticos (100.000U/mL de penicilina, 10mg/mL estreptomicina). Foram incubadas em estufa a 37°C, atmosfera de 95% de umidade e 5% de CO<sub>2</sub>. Durante o período de cultivo foram feitos repiques sucessivos de acordo com a necessidade das células.

#### 4.3.3.1 Estudos de viabilidade celular em cultura de astrócitos em ensaio com MTT

A viabilidade celular foi determinada após tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem, ertapenem e pilocarpina. Este método baseia-se na atividade metabólica de células viáveis, as quais são capazes de converter o MTT em sal de formazam, um produto colorido e insolúvel em agua. As células foram plaqueadas em placas de 96 poços a uma densidade celular de 1x10<sup>5</sup> cels/mL e tratadas com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem (32µg/mL; 64µg/mL; 128µg/mL), por 24 horas. Posteriormente, realizou-se o tratamento com uma combinação entre os antimicrobianos na concentração mais elevada (128µg/mL) e pilocarpina (31,83mM) por 24 horas. Após o tratamento das células, o substrato da cultura foi retirado e então adicionado 10µL de 3-(4,5-dimetilazil-2-il)-2,5 difenil- tetrazolico (MTT) dissolvido em PBS (500µg/mL). Após incubação por 4 horas a 37°C em estufa com 5% de CO<sub>2</sub>, o sobrenadante foi removido e adicionado SDS (10%) em HCL 0,01N para solubilizar os cristais de formazan. As placas foram incubadas por 17h e, em seguida, uma leitura espectrofotometrica foi realizada em um comprimento de onda de 570nm. (MOSMANN,1983).

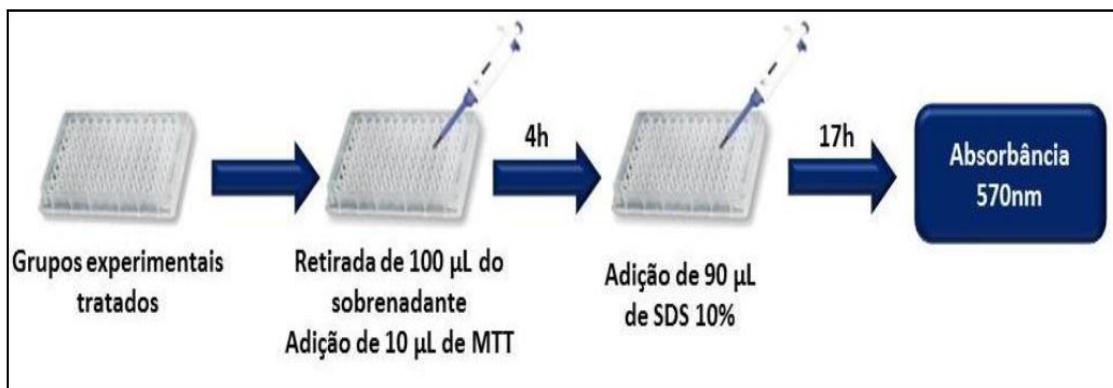


Figura 5 – Esquema do tratamento dos astrócitos para obtenção da viabilidade celular

Fonte: De Menezes, 2013.

#### 4.4 Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada através do *software* GraphPad Prism, versão 6.0 para Windows. Os resultados dos experimentos comportamentais *in vivo* foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguido pelo teste de Tukey (*post hoc*). Para análise estatística dos ensaios *in vitro*, foi realizada ANOVA seguido pelo pós-teste de Bonferroni. Os valores são representados pela Média ± Erro Padrão da Média (EPM).

O critério de significância utilizado foi  $p < 0,05$ . Os asteriscos ( $*p < 0,05$ ;  $**p < 0,01$ ;  $***p < 0,001$ ) caracterizam o grau de significância quando comparados ao grupo controle, já o símbolo ( $^+p < 0,05$ ;  $^{++}p < 0,01$ ;  $^{+++}p < 0,001$ ) é utilizado quando comparado ao grupo sadio; ao comparar as doses dos carbapenêmicos entre si, utilizou-se o símbolo ( $^{\#}p < 0,05$ ;  $^{\#\#}p < 0,01$ ;  $^{\#\#\#}p < 0,001$ ).

## 5. RESULTADOS

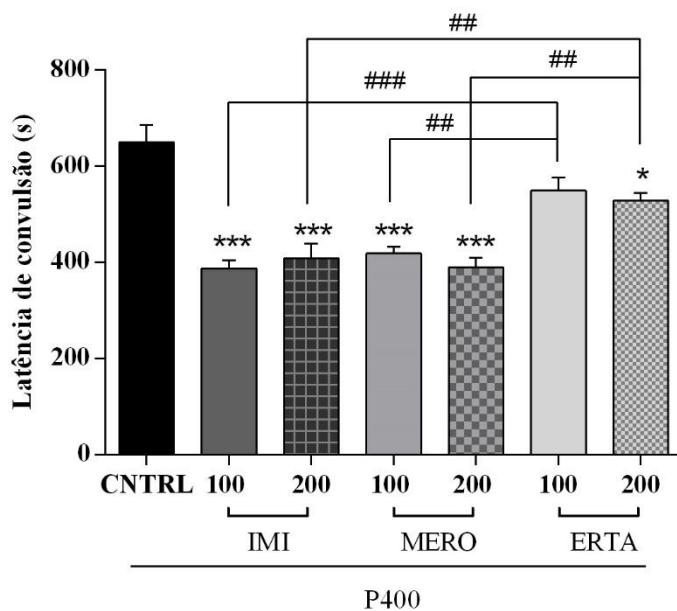
### 5.1 Estudo Comportamental

#### 5.1.1 Efeito da administração por 7 dias de antibióticos carbapenêmicos sobre as convulsões induzidas por pilocarpina.

- **Latência de Convulsão**

Nos grupos tratados com imipenem/cilastatina nas doses de 100mg + P400 ( $387,0 \pm 17,53$ ) e 200mg + P400 ( $407,8 \pm 30,49$ ; meropenem nas doses de 100mg + P400 ( $418,0 \pm 13,44$ ) e 200mg + P400 ( $388,8 \pm 21,15$ ); e ertapenem nas doses de 100mg + P400 ( $549,2 \pm 27,35$ ) e 200mg + P400 ( $528,5 \pm 15,37$ ); houve diminuição significativa da latência de convulsão quando comparado ao grupo controle P400 ( $684,2 \pm 35,67$ ). (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Efeito da administração por 7 dias de antibióticos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem) nas doses de 100mg e 200mg/kg sobre a latência de convulsão induzida por pilocarpina (P400) em camundongos.

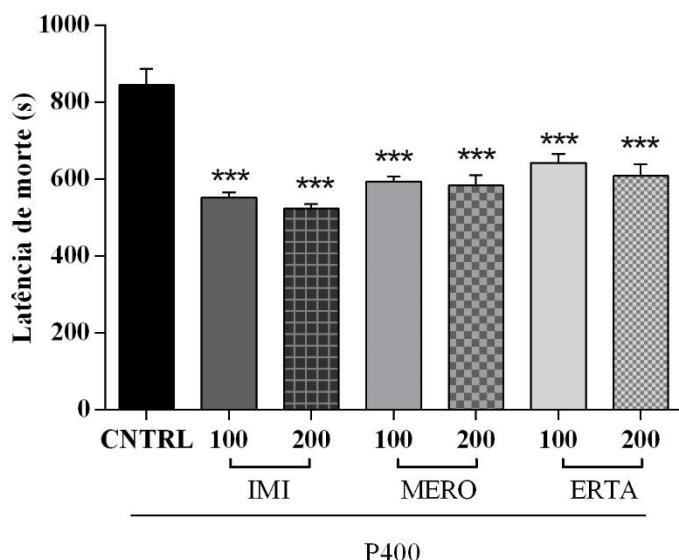


Os dados representam média  $\pm$  E.P.M. A análise estatística dos dados foi feita por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. \*\*\* ou \*, quando comparado ao controle ( $p<0,001$  e  $p<0,05$ ), respectivamente; ### ou ##, quando comparado as doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,001$  e  $p<0,05$ ), respectivamente.

#### ▪ Latência de Morte

Na observação dos animais, verificou-se que a latência de morte diminuiu significativamente nos grupos que foram tratados com imipenem/cilastatina na dose de 100mg + P400 ( $552,2 \pm 13,49$ ) e 200mg + P400 ( $524,0 \pm 10,59$ ); meropenem nas doses de 100mg + P400 ( $593,7 \pm 12,70$ ) e 200mg + P400 ( $583,7 \pm 26,81$ ); e ertapenem nas doses de 100mg + P400 ( $642,2 \pm 22,68$ ) e 200mg + P400 ( $609,0 \pm 28,9$ ) quando comparados com o grupo controle P400 ( $844,7 \pm 42,48$ ). (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Efeito da administração por 7 dias de antibióticos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem) nas doses de 100mg e 200mg/kg sobre a latência de morte induzida por pilocarpina (P400) em camundongos.



Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. \*\*\*, quando comparado ao controle ( $p<0,001$ ).

## 5.2 Estudo Neuroquímico

### 5.2.1 Determinação da Peroxidação Lipídica (TBARS)

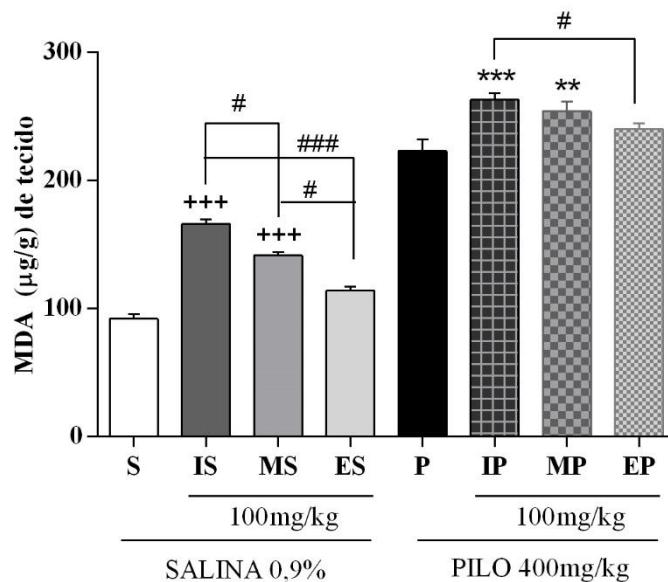
A investigação dos níveis de peroxidação lipídica foi realizada em córtex pré-frontal, corpo estriado e hipocampo de camundongos adultos, tratados com carbapenêmicos, via subcutânea, por 7 dias. Os grupos imipenem/cilastatina (100mg + P400 e 200mg + P400); meropenem (100mg + P400 e 200mg + P400); e ertapenem (100mg + P400 e 200mg + P400); foram comparados com o grupo controle (P400). Enquanto, os grupos imipenem, meropenem, e ertapenem nas doses de (100 e 200mg/kg); foram comparados com o grupo salina 0,9%.

5.2.1.1 Efeito do tratamento de imipenem/cilastatina, de meropenem e de ertapenem na dose de 100mg/kg sobre o nível de Peroxidação Lipídica (TBARS) em modelo de convulsão induzido por P400.

- **Córtex Pré-Frontal**

A investigação dos níveis de peroxidação lipídica em córtex pré-frontal mostrou que houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de MDA nos grupos tratados apenas com imipenem/cilastatina ( $165,9 \pm 3,838$ ) e com meropenem ( $141,3 \pm 2,933$ ) em relação ao grupo tratado com salina 0,9% ( $91,94 \pm 3,385$ ); ao comparar os grupos que receberam P400, observa-se que houve aumento com significância ( $p<0,001$  e  $p<0,01$ ) nos grupos tratados com imipenem/cilastatina ( $262,9 \pm 5,117$ ) e com meropenem ( $253,8 \pm 7,717$ ), respectivamente, em relação ao grupo tratado apenas com P400 ( $222,9 \pm 8,906$ ). O grupo IS 100 ( $165,9 \pm 3,838$ ) apresenta um aumento significativo ( $p<0,05$  e  $p<0,001$ ) quando comparado aos grupos MS 100 ( $141,3 \pm 2,933$ ) e ES 100 ( $113,93 \pm 3,268$ ), respectivamente; já o grupo MS 100 ( $141,3 \pm 2,933$ ), apresenta um aumento significativo ( $p<0,05$ ) quando comparado ao grupo ES 100 ( $113,93 \pm 3,268$ ). O grupo IP 100 ( $262,9 \pm 5,117$ ) apresenta aumento significativo ( $p<0,05$ ) quando comparado com EP 100 ( $240,2 \pm 4,056$ ). (Gráfico 3)

Gráfico 3 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



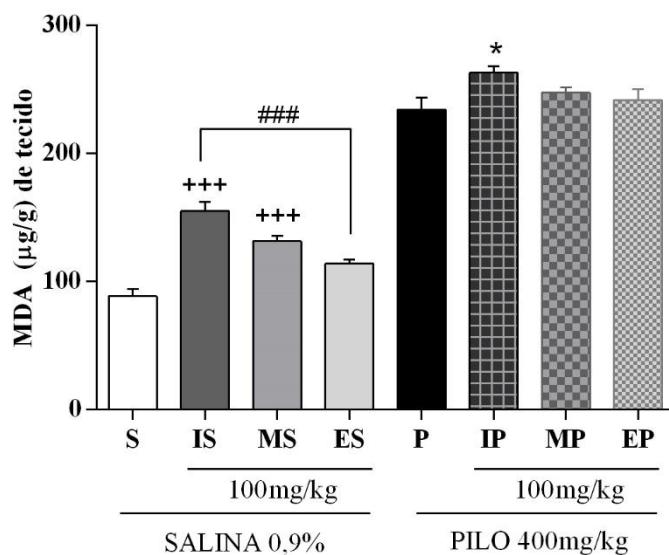
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. <sup>+++</sup>, quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ), <sup>\*\*</sup> ou <sup>\*\*\*</sup>, quando comparado ao controle ( $p<0,01$  e  $p<0,001$ ), respectivamente; <sup>#</sup> ou <sup>##</sup>, quando comparar doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,01$  e  $p<0,001$ ), respectivamente.

#### ■ Corpo Estriado

Foi observado que, no corpo estriado, houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de MDA nos grupos tratados com imipenem/cilastatina e meropenem na dose de 100mg/kg quando comparados ao grupo salina 0,9%; ao comparar os grupos que receberam P400, observa-se um aumento com significância ( $p<0,05$ ) no grupo IP 100 em relação ao grupo P400. O grupo IS 100 apresenta um aumento significativo ( $p<0,001$ ) quando comparado ao grupo ES 100. Grupo salina 0,9% ( $88,27 \pm 5,521$ ); IS 100 ( $154,8 \pm 7,121$ ); MS 100 ( $131,3 \pm 4,444$ ); ES 100 ( $113,9 \pm 3,268$ ); P400 ( $234,1 \pm$

9,276); IP 100 ( $262,8 \pm 5,117$ ); MP 100 ( $247,3 \pm 4,253$ ); EP 100 ( $241,6 \pm 8,532$ ). (Gráfico 4)

Gráfico 4 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



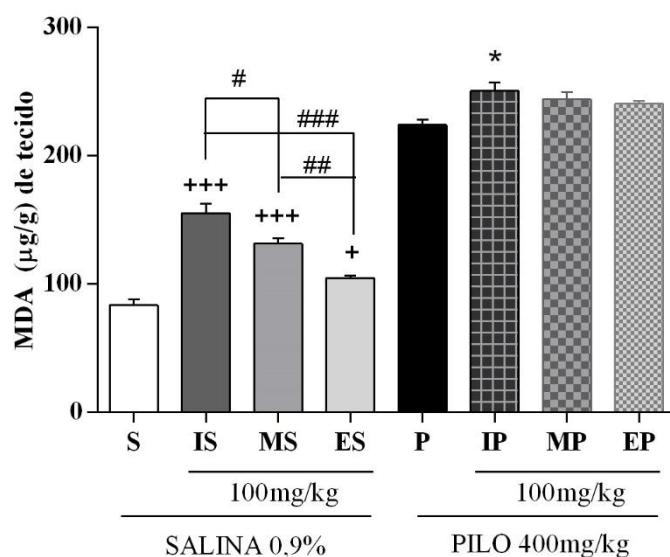
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. +++, quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ); \*, quando comparado ao grupo P400 ( $p<0,05$ ); #, quando comparado as doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,001$ ).

#### ▪ Hipocampo

Foi observado que, no hipocampo, houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de MDA nos grupos tratados com imipenem/cilastatina e meropenem na dose de 100mg/kg quando comparados ao grupo tratado com salina 0,9%; já ao comparar o grupo tratado com ertapenem na dose de 100mg/kg ao grupo tratado com salina 0,9%, observa-se um aumento com significância de ( $p<0,05$ ); ao comparar os grupos que receberam P400, observa-se que houve aumento com significância de ( $p<0,05$ ) no grupo tratado com imipenem/cilastatina. O grupo IS 100 apresenta um aumento significativo

( $p<0,05$  e  $p<0,001$ ) quando comparado aos grupos MS 100 e ES 100, respectivamente; já o grupo MS 100, apresenta um aumento significativo ( $p<0,01$ ) quando comparado ao grupo ES 100. Grupo salina 0,9% ( $83,39 \pm 4,452$ ); IS 100 ( $155,2 \pm 7,343$ ); MS 100 ( $131,3 \pm 4,444$ ); ES 100 ( $104,7 \pm 1,785$ ) P400 ( $223,8 \pm 4,355$ ); IP 100 ( $250,4 \pm 6,558$ ); MP 100 ( $243,8 \pm 5,866$ ); EP 100 ( $240,5 \pm 2,083$ ). (Gráfico 5)

Gráfico 5 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



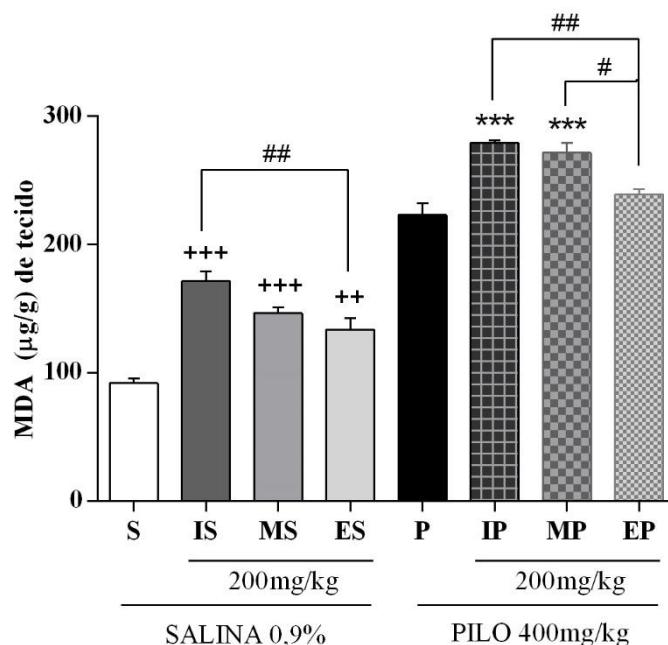
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. <sup>+++</sup>, quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ), <sup>\*</sup>, quando comparado ao controle ( $p<0,05$ ), respectivamente; <sup>#</sup> ou <sup>##</sup> ou <sup>###</sup>, quando comparar doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,01$ ;  $p<0,001$  e  $p<0,05$ ), respectivamente.

5.2.1.2 Efeito do tratamento de imipenem/cilastatina, de meropenem e de ertapenem na dose de 200mg/kg sobre o nível de Peroxidação Lipídica (TBARS) em modelo de convulsão induzido por P400.

- **Córtex Pré-Frontal**

A investigação dos níveis de peroxidação lipídica em córtex pré-frontal mostrou que houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de MDA nos grupos tratados apenas com imipenem/cilastatina e com meropenem na dose de 200mg/kg em relação ao grupo tratado com salina 0,9%; já ao comparar o grupo tratado com ertapenem na dose de 200mg/kg ao grupo tratado com salina 0,9%, observa-se um aumento com significância de ( $p<0,01$ ). Ao comparar os grupos que receberam P400, observa-se que houve aumento com significância ( $p<0,001$ ) nos grupos tratados com imipenem/cilastatina e com meropenem em relação ao grupo tratado apenas com P400. O grupo IS 200 apresenta um aumento significativo ( $p<0,01$ ) quando comparado ao grupo ES 200; os grupos IP 200 e MP 200 apresentam um aumento com significância ( $p<0,01$  e  $p<0,05$ ), respectivamente, quando comparados ao EP 200. Grupo salina 0,9% ( $91,94 \pm 3,385$ ); IS 200 ( $171,5 \pm 7,610$ ); MS 200 ( $146,5 \pm 4,740$ ); ES 200 ( $133,6,7 \pm 8,9722$ ) P400 ( $222,9 \pm 8,722$ ); IP 200 ( $279,0 \pm 1,839$ ); MP 200 ( $271,5 \pm 7,610$ ); EP 200 ( $238,8 \pm 3,926$ ). (Gráfico 6)

Gráfico 6 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



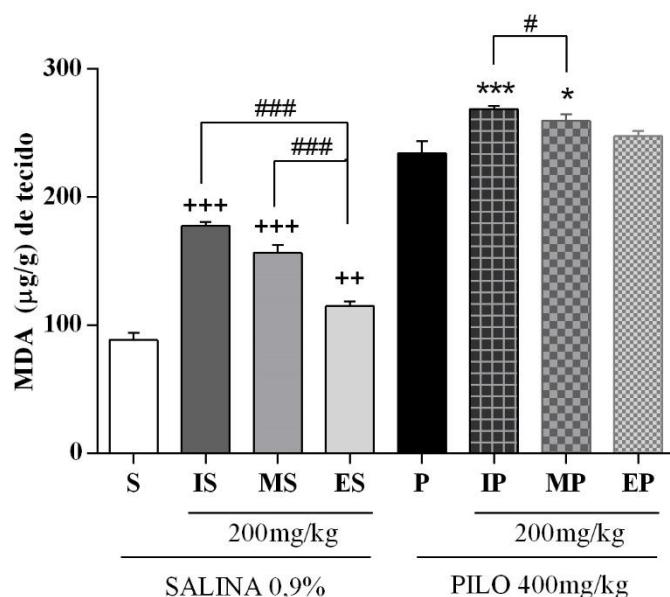
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. \*\*\*, quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ), \*, quando comparado ao controle ( $p<0,05$ ), respectivamente; # ou ## ou ###, quando comparar doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,01$ ;  $p<0,001$  e  $p<0,05$ ), respectivamente.

#### ■ Corpo Estriado

Foi observado que, no corpo estriado, houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de MDA nos grupos IS 200 e MS 200 quando comparados ao grupo salina 0,9%; já o grupo ES 200 apresenta um aumento significativo ( $p<0,01$ ) em relação ao grupo tratado com salina 0,9%. Ao comparar os grupos que receberam P400, observa-se um aumento com significância ( $p<0,001$ ) no grupo IP 200 e ( $p<0,05$ ) no grupo MP 200 em relação ao grupo P400. O grupo IS 200, assim como o grupo MS 200 apresentam um aumento significativo ( $p<0,001$ ) quando comparado ao grupo ES 200. O grupo IP 200 apresenta um aumento significativo ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo MP 200. Grupo

salina 0,9% ( $88,27 \pm 5,521$ ); IS 200 ( $177,5 \pm 2,936$ ); MS 200 ( $156,4 \pm 5,960$ ); ES 200 ( $115,0 \pm 3,452$ ); P400 ( $234,1 \pm 9,276$ ); IP 200 ( $268,5 \pm 2,661$ ); MP 200 ( $259,4 \pm 5,261$ ); EP 200 ( $247,3 \pm 4,253$ ). (Gráfico 7)

Gráfico 7 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



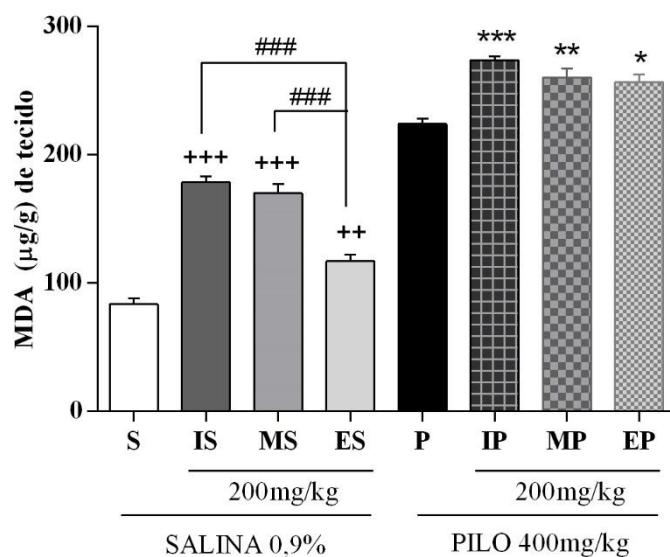
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. <sup>+++</sup>, quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ); <sup>\*</sup>, quando comparado ao grupo P400 ( $p<0,05$ ); <sup>##</sup>, quando comparado as doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,001$ ).

#### ■ Hipocampo

Foi observado que, no hipocampo, houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de MDA nos grupos tratados com imipenem/cilastatina e meropenem na dose de 200mg/kg quando comparados ao grupo tratado com salina 0,9%; já ao comparar o grupo tratado com ertapenem na dose de 200mg/kg ao grupo tratado com salina 0,9%, observa-se um aumento com significância de ( $p<0,01$ ). Ao comparar os grupos que receberam P400, observa-se que houve aumento com significância de ( $p<0,001$ ;  $p<0,01$ ;

$p<0,05$ ) nos grupos tratados com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem, respectivamente, em relação ao P400. O grupo IS 200 e MS 200 apresentam um aumento significativo ( $p<0,001$ ) quando comparados ao grupo ES 200. Grupo salina 0,9% ( $83,39 \pm 4,452$ ); IS 200 ( $178,3 \pm 4,815$ ); MS 200 ( $169,9 \pm 6,884$ ); ES 200 ( $117,0 \pm 5,067$ ) P400 ( $223,8 \pm 4,355$ ); IP 200 ( $273,6 \pm 6,907$ ); MP 200 ( $260,1 \pm 6,907$ ); EP 200 ( $256,5 \pm 6,240$ ). (Gráfico 8)

Gráfico 8 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de Peroxidação Lipídica (TBARS) em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*.  $^{+++}$  ou  $^{++}$ , quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ;  $p<0,01$ ), respectivamente; \* ou \*\* ou \*\*\*, quando comparado ao controle ( $p<0,05$ ;  $p<0,01$ ;  $p<0,001$ ), respectivamente;  $^{###}$ , quando comparar doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,001$ ).

### 5.2.2 Determinação de Nitrito

Foi realizada análise dos níveis de nitrito em córtex pré-frontal, corpo estriado e hipocampo de camundongos adultos, tratados com carbapenêmicos, via subcutânea, por

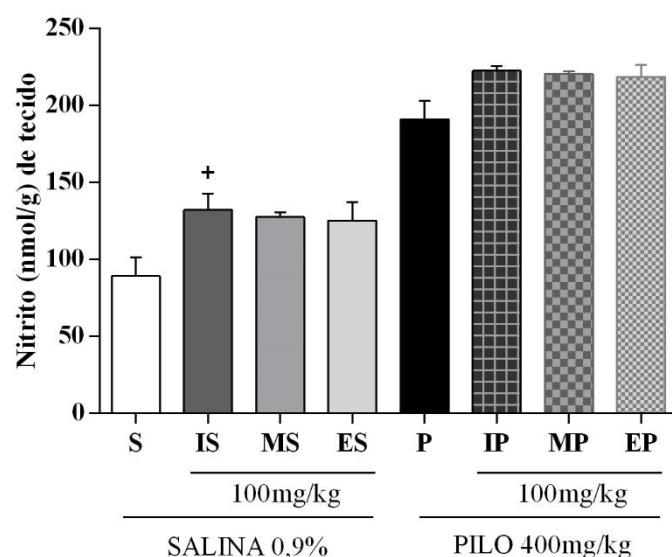
7 dias. Os grupos imipenem/cilastatina (IS 100 e IS 200); meropenem (MS 100 e MS 200); e ertapenem (ES 100 ES 200); foram comparados com o grupo salina 0,9%. Enquanto, imipenem/cilastatina (IP 100 e IP 200); meropenem (MP 100 e MP 200); e ertapenem (EP 100 e EP 200); foram comparados com o grupo controle (P400).

5.2.2.1 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a determinação do conteúdo de nitrito em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400.

#### ▪ CórTEX PRÉ-FRONTAL

Foi observado que no córtex pré-frontal houve um aumento significativo ( $p<0,05$ ) dos níveis de nitrito apenas no grupo IS 100 quando comparado ao grupo salina 0,9%. Grupo salina 0,9% ( $84,97 \pm 12,23$ ); IS 100 ( $132,0 \pm 10,61$ ); MS 100 ( $127,4 \pm 2,992$ ); ES 100 ( $125,2 \pm 11,78$ ); P400 ( $191,0 \pm 12,10$ ); IP 100 ( $222,3 \pm 3,241$ ); MP 100 ( $220,2 \pm 1,659$ ); EP 100 ( $218,5 \pm 7,726$ ).

Gráfico 9 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

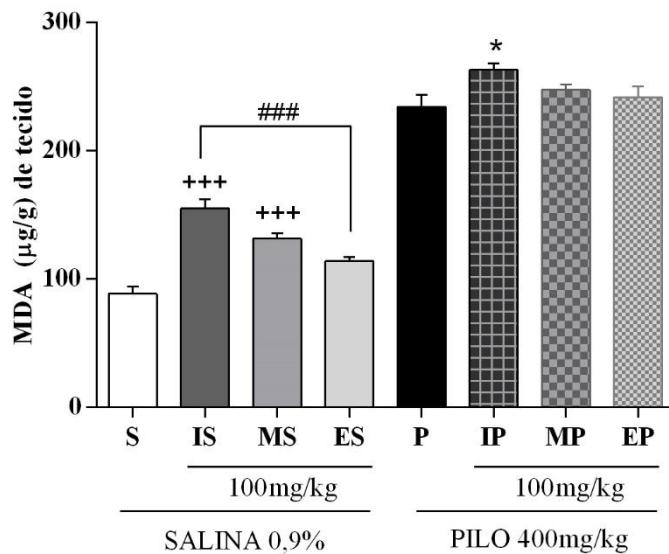


Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*; <sup>+</sup>, quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,01$ ).

▪ **Corpo Estriado**

Foi observado que no corpo estriado houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de nitrito nos grupos IS 100 e MS 100 quando comparados ao grupo salina 0,9%; já ao comparar os grupos tratados com P400, observa-se um aumento significativo ( $p<0,05$ ) ao comparar o grupo IP 100 com o grupo P400. Grupo salina 0,9% ( $82,42 \pm 10,55$ ); IS 100 ( $134,2 \pm 3,886$ ); MS 100 ( $113,5 \pm 4,844$ ); ES 100 ( $104,4 \pm 3,814$ ); P400 ( $189,0 \pm 8,655$ ); IP 100 ( $243,2 \pm 6,700$ ); MP 100 ( $226,0 \pm 3,282$ ); EP 100 ( $216,4 \pm 4,669$ ). (Gráfico 10)

Gráfico 10 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

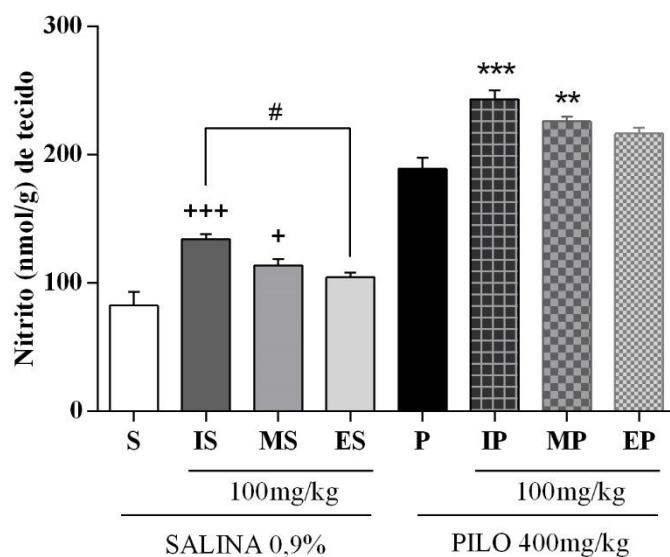


Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. <sup>+++</sup>, quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ); <sup>\*</sup>, ao comparar com o grupo P400 ( $p<0,001$ ); <sup>###</sup>, quando for comparado doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,001$ ).

- **Hipocampo**

Foi observado que no hipocampo houve um aumento significativo dos níveis de nitrito nos grupos IS 100 e MS 100 em relação ao grupo salina 0,9% com significância ( $p<0,001$ ) e ( $p<0,05$ ) respectivamente. Ao comparar os grupos tratados com P400, observa-se um aumento com significância ( $p<0,001$  e  $p<0,01$ ) nos grupos IP 100 e MP 100 em relação ao grupo P400, respectivamente. O grupo IS 100 apresenta um aumento com significância ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo ES 100. Grupo salina 0,9% ( $103,6 \pm 10,73$ ); IS 100 ( $139,1 \pm 4,171$ ); MS 100 ( $134,9 \pm 3,304$ ); ES 100 ( $128,0 \pm 1,251$ ); P400 ( $203,6 \pm 14,05$ ); IP 100 ( $255,2 \pm 3,740$ ); MP 100 ( $241,9 \pm 5,648$ ); EP 100 ( $231,0 \pm 1,592$ ). (Gráfico 11)

Gráfico 11 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



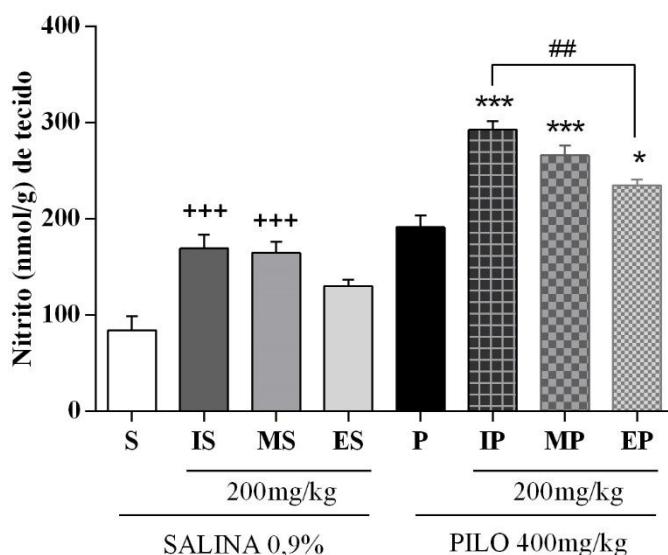
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*.  $^{+++}$  ou  $^{+}$ , quando comparado a salina 0,9% ( $p<0,001$ ;  $p<0,05$ ), respectivamente;  $^{**}$  ou  $^{***}$ , quando comparado ao controle ( $p<0,05$ ;  $p<0,01$ ;  $p<0,001$ ), respectivamente;  $^{#}$ , quando comparar doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,05$ ).

5.2.2.2 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a determinação do conteúdo de nitrito em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400.

- **Córtex Pré-Frontal**

Foi observado que no córtex pré-frontal houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de nitrito nos grupos IS 200 e MS 200 quando comparado ao grupo salina 0,9%; assim como nos grupos IP 200 e MP 200 em relação ao grupo P400, já o grupo EP 200 apresenta um aumento com significância ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo P400. O grupo IP 200 apresenta um aumento com significância ( $p<0,01$ ) em relação aos grupos EP 200. Grupo salina 0,9% ( $84,04 \pm 14,45$ ); IS 200 ( $169,2 \pm 14,22$ ); MS 200 ( $164,5 \pm 11,49$ ); ES 200 ( $130,3 \pm 6,417$ ); P400 ( $191,0 \pm 12,10$ ); IP 200 ( $292,4 \pm 9,146$ ); MP 200 ( $265,7 \pm 10,19$ ); EP 200 ( $234,9 \pm 5,550$ ). (Gráfico 12)

Gráfico 12 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



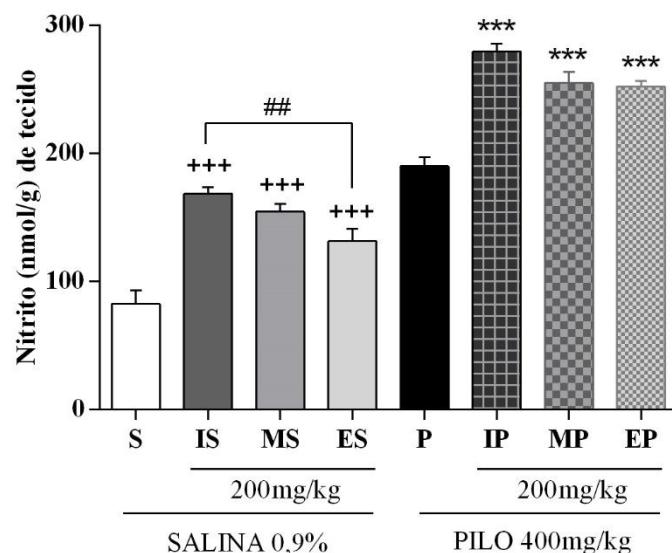
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*;  $^{+++}$ , quando comparado a salina 0,9%

( $p<0,001$ ). \* ou \*\*\*, quando comparado ao controle ( $p<0,05$ ;  $p<0,001$ ), respectivamente; \*\*, quando comparar doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,01$ ).

#### ■ **Corpo Estriado**

Foi observado que no corpo estriado houve um aumento significativo ( $p<0,001$ ) dos níveis de nitrito nos grupos IS 200, MS 200 e ES 200 quando comparados ao grupo salina 0,9%; já ao comparar os grupos tratados com P400, observa-se um aumento significativo ( $p<0,001$ ) ao comparar os grupos IP 200, MP 200 e EP 200 com o grupo P400. O grupo IS 200 apresenta um aumento com significância ( $p<0,01$ ) quando comparado ao grupo ES 200. Grupo salina 0,9% ( $82,42 \pm 10,55$ ); IS 200 ( $134,2 \pm 3,886$ ); MS 200 ( $113,5 \pm 4,844$ ); ES 200 ( $104,4 \pm 3,814$ ); P400 ( $189,0 \pm 8,655$ ); IP 200 ( $243,2 \pm 6,700$ ); MP 200 ( $226,0 \pm 3,282$ ); EP 200 ( $216,4 \pm 4,669$ ). (Gráfico 13)

Gráfico 13 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



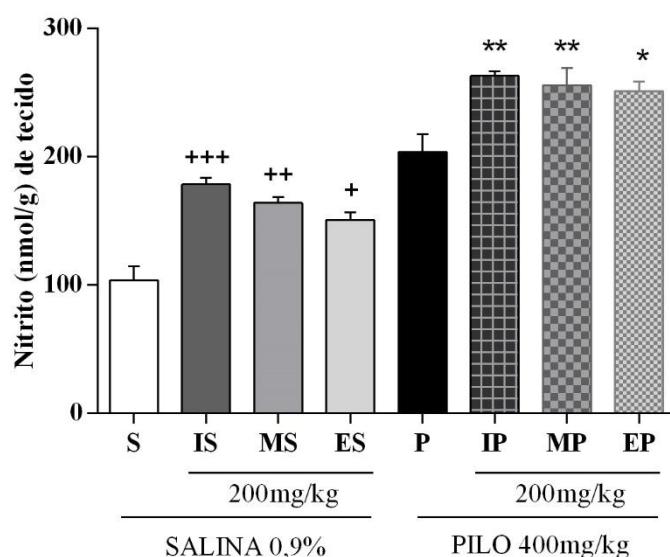
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. \*\*\*, quando comparado a salina 0,9%

( $p<0,001$ ); \*\*\*, ao comparar com o grupo P400 ( $p<0,001$ ); \*\*, quando for comparado doses dos antimicrobianos entre si ( $p<0,01$ ).

#### ▪ Hipocampo

Foi observado que no hipocampo houve um aumento significativo dos níveis de nitrito nos grupos IS 200, MS 200 e ES 200 em relação ao grupo salina 0,9% com significância ( $p<0,001$ ;  $p<0,01$  e  $p<0,05$ ), respectivamente. Ao comparar os grupos tratados com P400, observa-se um aumento com significância ( $p<0,01$ ) nos grupos IP 200 e MP 200 em relação ao grupo P400; já o grupo ES 200 apresenta um aumento com significância ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo P400. Grupo salina 0,9% ( $103,6 \pm 10,73$ ); IS 200 ( $178,4 \pm 4,889$ ); MS 200 ( $163,9 \pm 4,674$ ); ES 200 ( $150,6 \pm 5,754$ ); P400 ( $203,6 \pm 14,05$ ); IP 200 ( $262,8 \pm 3,854$ ); MP 200 ( $255,7 \pm 13,24$ ); EP 200 ( $251,0 \pm 7,604$ ). (Gráfico 14)

Gráfico 14 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. + ou ++ ou +++, quando comparado a salina 0,9%

( $p<0,05$ ;  $p<0,01$  e  $p<0,001$ ), respectivamente; \* ou \*\*, quando comparado ao grupo P400 ( $p<0,05$  e  $p<0,01$ ), respectivamente.

### **5.2.3 Dosagem da Glutationa Reduzida (GSH)**

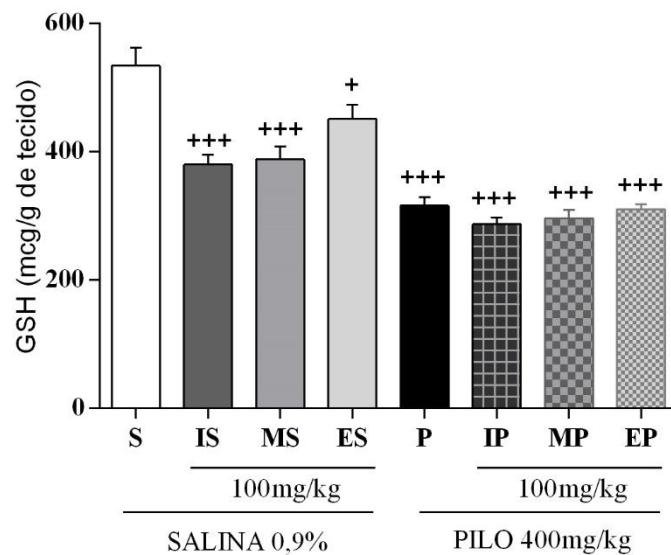
Foi realizado análise dos níveis de glutationa reduzida (GSH) em camundongos tratados com os carbapenêmicos, via subcutânea, durante 7 dias, em modelo de convulsão induzido por pilocarpina. Os grupos imipenem (IP 100 e IP 200); meropenem (MP 100 e MP 200); e ertapenem (EP 100 e EP 200); foram comparados com o grupo P400. Enquanto, os grupos imipenem (IS), meropenem (MS) e ertapenem (ES) nas doses de 100 e 200mg/kg, foram comparados com o grupo salina 0,9%.

5.2.3.1 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400.

#### **▪ CórTEX Pré-Frontal**

Foi observado que no córtex pré-frontal houve uma redução significativa ( $p<0,001$ ) da concentração de glutationa reduzida em quase todos os grupos quando comparados ao grupo salina 0,9%. Apenas o grupo ES 100 apresentou uma redução com significância ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo salina 0,9%. Grupo salina 0,9% (533,8  $\pm$  28,10); IS 100 (379,6  $\pm$  15,20); MS 100 (387,9  $\pm$  20,83); ES 100 (450,6  $\pm$  22,83); P400 (316,0  $\pm$  12,64); IP 100 (286,9  $\pm$  10,32); MP 100 (296,0  $\pm$  12,63); EP 100 (310,4  $\pm$  7,309). (Gráfico 15)

Gráfico 15 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

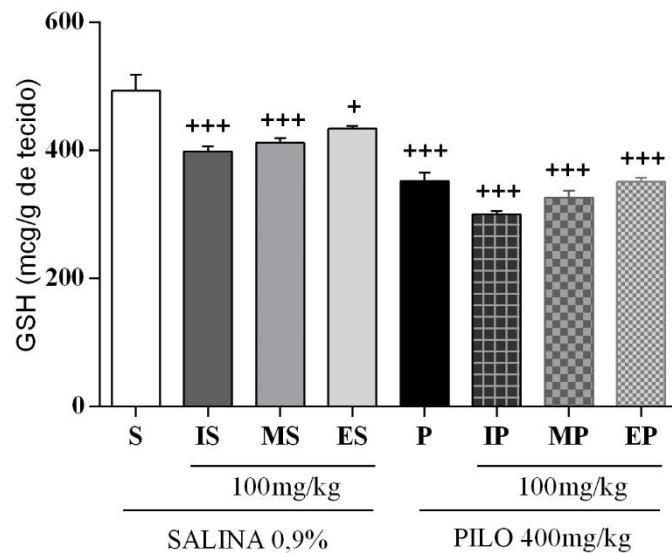


Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. + ou +++, quando comparado ao grupo salina 0,9% ( $p<0,05$  e  $p<0,001$ ), respectivamente.

#### ■ Corpo Estriado

Foi observado que no corpo estriado houve uma redução significativa ( $p<0,001$ ) da concentração de glutationa reduzida em quase todos os grupos quando comparados ao grupo salina 0,9%. Apenas o grupo ES 100 apresentou uma redução com significância ( $p<0,05$ ) em relação ao grupo salina 0,9%. Grupo salina 0,9% ( $493,4 \pm 25,08$ ); IS 100 ( $398,1 \pm 7,769$ ); MS 100 ( $411,6 \pm 7,673$ ); ES 100 ( $433,6 \pm 4,349$ ); P400 ( $352,1 \pm 13,37$ ); IP 100 ( $300,5 \pm 4,637$ ); MP 100 ( $326,5 \pm 10,98$ ); EP 100 ( $350,8 \pm 6,060$ ). (Gráfico 16)

Gráfico 16 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

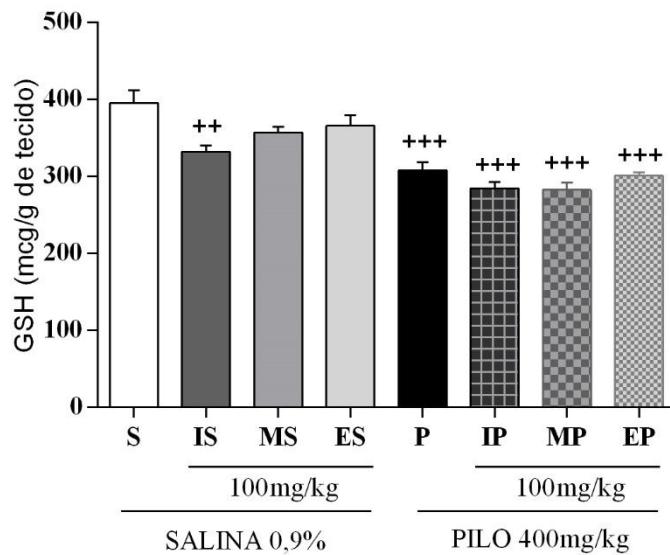


Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. + ou +++, quando comparado ao grupo salina 0,9% ( $p<0,05$  e  $p<0,001$ ), respectivamente.

#### ▪ Hipocampo

Foi observado que no corpo estriado houve uma redução significativa ( $p<0,001$ ) da concentração de glutationa reduzida nos grupos IP 100, MP 100, EP 100 e P400 quando comparados ao grupo salina 0,9%. O grupo IS 100 apresentou uma redução com significância ( $p<0,01$ ) em relação ao grupo salina 0,9%. Grupo salina 0,9% ( $395,2 \pm 16,69$ ); IS 100 ( $332,0 \pm 7,654$ ); MS 100 ( $357,0 \pm 7,356$ ); ES 100 ( $365,4,1 \pm 13,44$ ); P400 ( $307,9 \pm 10,59$ ); IP 100 ( $284,2 \pm 8,275$ ); MP 100 ( $282,3 \pm 9,417$ ); EP 100 ( $301,0 \pm 3,860$ ). (Gráfico 17)

Gráfico 17 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 100mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



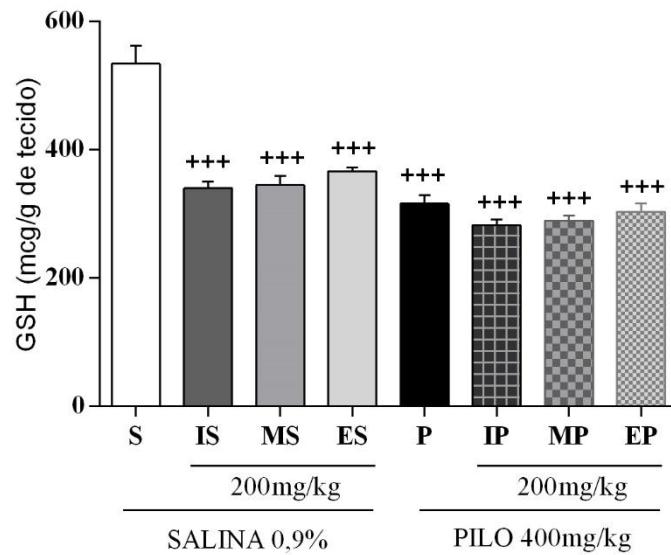
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. <sup>++</sup> ou <sup>+++</sup>, quando comparado ao grupo salina 0,9% ( $p<0,01$  e  $p<0,001$ ), respectivamente.

5.2.3.2 Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em camundongos em modelo de convulsão induzido por P400.

#### ▪ CórTEX PRÉ-FRONTAL

Foi observado que no córtex pré-frontal houve uma redução significativa ( $p<0,001$ ) da concentração de glutationa reduzida em todos os grupos quando comparados ao grupo salina 0,9%. Grupo salina 0,9% ( $533,8 \pm 28,10$ ); IS 200 ( $339,8 \pm 10,56$ ); MS 200 ( $344,5 \pm 14,15$ ); ES 200 ( $366,3 \pm 5,763$ ); P400 ( $316,0 \pm 12,64$ ); IP 200 ( $282,0 \pm 8,722$ ); MP 200 ( $289,2 \pm 8,100$ ); EP 200 ( $303,3 \pm 12,79$ ). (Gráfico 18)

Gráfico 18 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em córtex pré-frontal de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

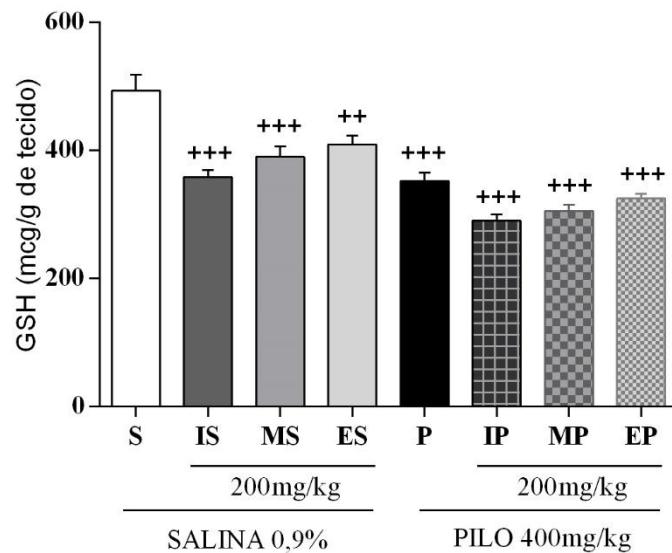


Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. +++, quando comparado ao grupo salina 0,9% ( $p<0,001$ ).

#### ■ Corpo Estriado

Foi observado que no corpo estriado houve uma redução significativa ( $p<0,001$ ) da concentração de glutationa reduzida em quase todos os grupos quando comparados ao grupo salina 0,9%. Apenas o grupo ES 100 apresentou uma redução com significância ( $p<0,01$ ) em relação ao grupo salina 0,9%. Grupo salina 0,9% ( $493,4 \pm 25,08$ ); IS 200 ( $358,3 \pm 11,02$ ); MS 200 ( $389,9 \pm 15,65$ ); ES 200 ( $409,5 \pm 13,49$ ); P400 ( $352,1 \pm 13,37$ ); IP 200 ( $290,0 \pm 10,48$ ); MP 200 ( $305,4 \pm 9,641$ ); EP 200 ( $324,6 \pm 7,385$ ). (Gráfico 19)

Gráfico 19 - Efeito do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre a concentração da glutationa reduzida (GSH) em corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

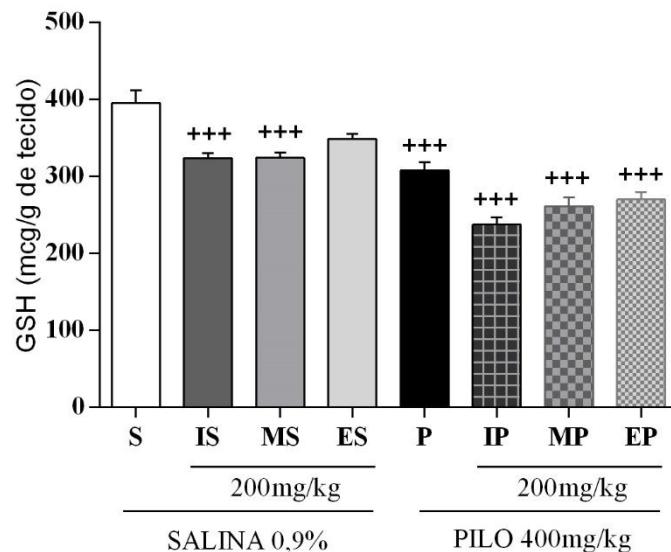


Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*. <sup>++</sup> ou <sup>+++</sup>, quando comparado ao grupo salina 0,9% ( $p<0,01$  e  $p<0,001$ ), respectivamente.

#### ▪ Hipocampo

Foi observado que no corpo estriado houve uma redução significativa ( $p<0,001$ ) da concentração de glutationa reduzida em quase todos os grupos quando comparados ao grupo salina 0,9%, com exceção do grupo ES 100. Grupo salina 0,9% ( $395,2 \pm 16,69$ ); IS 200 ( $323,4 \pm 7,654$ ); MS 200 ( $324,0 \pm 6,561$ ); ES 200 ( $348,5 \pm 6,596$ ); P400 ( $307,9 \pm 10,59$ ); IP 200 ( $237,2 \pm 9,090$ ); MP 200 ( $260,9 \pm 11,17$ ); EP 200 ( $269,6 \pm 9,720$ ). (Gráfico 20)

Gráfico 20 - Efeitos do tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem na dose de 200mg/kg sobre os níveis de nitrito em hipocampo de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.



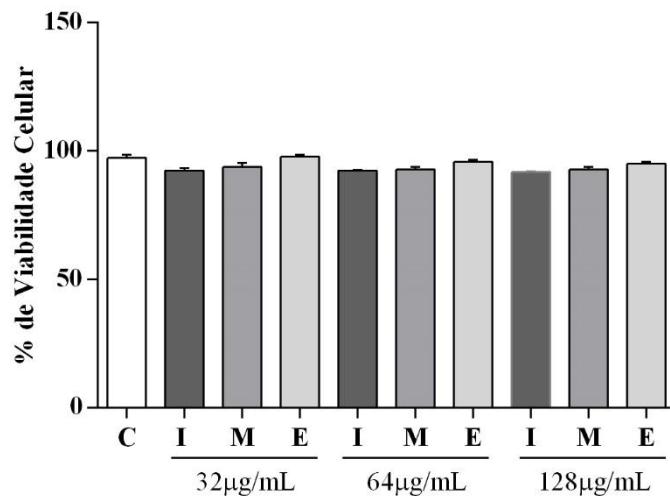
Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Tukey como teste *post hoc*.  $^{+++}$ , quando comparado ao grupo salina 0,9% ( $p<0,001$ ), respectivamente.

### 5.3 Análise da atividade dos antimicrobianos sobre astrócitos *in vitro*

#### 5.3.1 Determinação da viabilidade celular após o tratamento com imipenem/cilastatina, meropenem, ertapenem e pilocarpina

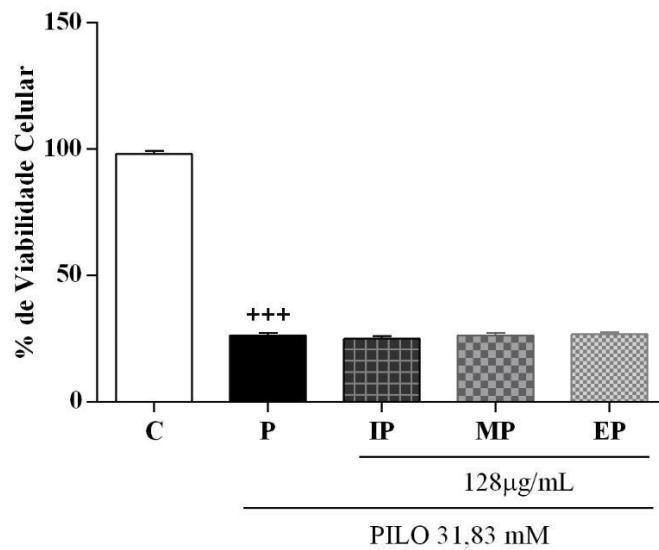
Os resultados referentes a exposição de astrócitos corticais a diferentes concentrações dos antimicrobianos (32, 64 e 128 $\mu$ g/mL) nos mostram que estes não são capaz de exercer, estatisticamente, efeito sobre a viabilidade de astrócitos nas concentrações analisadas. (Gráfico 21) Grupo C ( $97,19 \pm 1,221$ ), I 32 ( $92,30 \pm 0,8935$ ), M 32 ( $93,63 \pm 1,63$ ), E 32 ( $97,14 \pm 0,6734$ ), I 64 ( $92,30 \pm 0,2045$ ) M 64 ( $92,63 \pm 1,139$ ) E 64 ( $95,74 \pm 0,6734$ ), I 128 ( $91,64 \pm 0,3717$ ), M 128 ( $92,63 \pm 1,031$ ), E 128 ( $94,97 \pm 0,8900$ ).

Gráfico 21 - Percentual de viabilidade celular de astrócitos corticais expostos a diferentes concentrações de imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem durante 24 horas.



Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA seguido por Bonferroni como teste *post hoc*. Os valores obtidos não apresentaram significância.

Gráfico 22 – Percentual de viabilidade celular de astrócitos corticais expostos a concentração mais elevada de imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem associados a pilocarpina durante 24 horas.



Resultados representados como média  $\pm$  E.P.M. Análise estatística por ANOVA

seguido por Bonferroni como teste *post hoc*. <sup>+++</sup>, quando comparado ao grupo controle (p<0,001).

## 6 DISCUSSÃO

Os antibióticos carbapenêmicos são bem tolerados pela maioria dos pacientes, no entanto, um importante efeito adverso associado à sua administração, é a toxicidade ao SNC (NORRBY, 1996). Um estudo investigou o risco de convulsões com o uso de carbapenêmicos e relatou taxas de até 6%, especialmente quando a dosagem não foi cuidadosamente ajustada em relação à função renal (ZHANEL *et al.*, 2009). Um estudo de meta-análise, realizado recentemente, revelou que o risco de convulsões associadas aos antimicrobianos imipenem/cilastatina, meropenem e doripenem em relação a outros antibióticos foram 3,50 (2,23 - 5,49); 1,04 (0,61 - 1,77) e 0,44 (0,13 - 1,53), respectivamente, com intervalo de confiança de 95% (CANNON *et al.*, 2014). Portanto, o uso dos carbapenêmicos continua a ser uma preocupação.

O modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina é útil para estudar o envolvimento dos diferentes sistemas de neurotransmissores como moduladores da epileptogênese, e ainda permite investigar alterações comportamentais, histopatológicas, e parâmetros neuroquímicos relacionados com a atividade epiléptica (CAVALHEIRO *et al.*, 1991; MARINHO *et al.*, 1997). A pilocarpina é um agonista colinérgico, que em altas doses, é amplamente utilizado para induzir convulsões cerebrais límbicas em estruturas contendo uma alta concentração de receptores muscarínicos, como o cérebro (GAO *et al.*, 2012). O modelo de pilocarpina mimetiza diversos aspectos das convulsões parciais complexas com generalização secundária em humanos e, dessa forma, constitui-se um modelo de epilepsia do lobo temporal (VIANNA *et al.*, 2005). A epilepsia do lobo temporal é uma desordem crônica, frequentemente associada a um estímulo inicial precipitante como estado epiléptico, trauma e convulsões febris prolongadas (ENGEL & PEDLEY, 1997).

A análise comportamental demonstra que a administração sistêmica de pilocarpina em roedores induz convulsões com foco de início no sistema límbico, principalmente no hipocampo (TURSKI, 1983). Imediatamente após a administração de pilocarpina, os camundongos podem apresentar persistentes mudanças comportamentais, incluindo piloereção, cromodacriorréia, acinesia inicial, ataxia, tremores, automatismos mastigatórios como mioclonia dos músculos faciais que persistem de 10 a 15 minutos (TURSKI *et al.*, 1983a).

No presente estudo, a observação comportamental após o tratamento durante 7 dias com imipenem/cilastatina, meropenem e ertapenem nas doses de 100 e 200mg/kg, no modelo de convulsão induzida por pilocarpina, mostrou que todos os antibióticos em estudo apresentam efeito pró-convulsivante visto que foram capazes de reduzir, não somente o tempo de latência, mas também o tempo de morte.

Os mecanismos envolvidos na toxicidade induzida por antibióticos são multifatoriais e geralmente não são bem compreendidos. Acredita-se que o potencial indutor de crises destes antibióticos pode estar diretamente relacionado com a semelhança do anel  $\beta$ -lactâmico com a estrutura do neurotransmissor  $\gamma$ -aminobutírico que é antagonista dos receptores de GABA. Para que este antagonismo ocorra é necessário que a anel  $\beta$ -lactâmico esteja intacto (DE SARRO *et al.*, 1989; CHOW; HUI; SZETO, 2005).

O neurotransmissor GABA medeia sua ação inibitória ao se ligar com receptor GABA<sub>A</sub>, permitindo o influxo de íons Cl<sup>-</sup> para dentro do terminal nervoso pós-sináptico, causando uma hiperpolarização do potencial da membrana, o que resulta na diminuição da resposta do terminal nervoso pós-sináptica aos estímulos e consequentemente na inibição do disparo neuronal. No entanto, o antagonismo da ligação ao receptor GABA<sub>A</sub> conduzindo a um potencial de membrana aumentado e desta forma a um estado excitatório que despolariza mais prontamente em resposta a estímulos (CHOW; HUI; SZETO, 2005).

Estudos anteriores sugeriram que as ações convulsivas dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos podem estar relacionadas com suas habilidades para inibir a ligação do receptor GABA<sub>A</sub> (DAY *et al.*, 1995; JIN *et al.*, 1999; SHIMADA *et al.*, 1992). Em estudos de ligação *in vitro*, os valores de concentração inibitória a 50% para a ligação específica de [<sup>3</sup>H] muscimol, um agonista do receptor GABA<sub>A</sub>, em membranas sinápticas de rato foram 0,48, 15,63 e 46,44 mM para imipenem, meropenem e doripenem, respectivamente (HORIUCHI *et al.*, 2006). Day *et al.*, (1995), relataram que, embora imipenem (400 mg/kg) tenha baixado significativamente o limiar convulsivo de pentilenotetrazol em camundongos, não foram observadas diferenças significativas entre meropenem (400 mg/kg), biapenem (400 mg/kg) e salina 0,9% (controle). Estes resultados indicaram que o imipenem tinha a maior afinidade para os receptores GABA<sub>A</sub>. Um estudo posterior com injeção intracerebroventricular em

camundongos relatou que enquanto o imipenem induziu convulsões clônicas de forma dose-dependente (2,5 e 10 mg/kg), o meropenem induziu convulsões apenas em doses acima de 100 mg/kg (HORIUCHI *et al.*, 2006).

Mais recentemente, Kazuaki e colaboradores (2016), sugeriram que a neurotoxicidade associada aos carbapenêmicos está diretamente relacionada a concentração desses fármacos no tecido cerebral, ou seja, maiores concentrações cerebrais têm sido associadas a um aumento do risco de convulsões. Nesse sentido, vale salientar que a penetração de fármacos no tecido cerebral pode variar de acordo com o tipo de carbapenem administrado, e que propriedades físico-químicas, como peso molecular e lipossolubilidade (lipofilicidade) são fatores dominantes na determinação do transporte unidirecional através da barreira hematoencefálica – BHE (SUZUKI *et al.*, 1989).

Sobre a capacidade de penetração da BHE, um estudo farmacocinético fez esta análise ou relação a alguns carbapenêmicos, e concluiu que para a taxa de penetração era inversamente proporcional ao peso molecular. De acordo com os resultados, o imipenem/cilastatina penetra em maior quantidade, seguido do meropenem, e depois do ertapenem. Já os pesos moleculares variam na seguinte forma: imipenem (299,347 g/mol) < meropenem (383,464 g/mol) < ertapenem (475,516 g/mol) (KAZUAKI *et al.*, 2016).

Acredita-se que outras características farmacocinéticas e farmacodinâmicas também possam estar envolvidas no potencial epileptogênico dos carbapenêmicos. Um estudo anterior relatou que o aumento da basicidade da cadeia lateral C2 está ligada ao potencial epileptogênico (SUNAGAWA *et al.*, 1995). Sabe-se que a basicidade é influenciada pela N-acetilação ou N-metilação do anel ciclopenteno C2, e a presença de qualquer uma das substituições diminui efetivamente o potencial de convulsão ao diminuir a basicidade. A cadeia lateral C2 do imipenem é mais básica. Enquanto, meropenem e ertapenem possuem cadeias laterais de C2 menos básicas, o que provavelmente é responsável pela neurotoxicidade reduzida observada com estes agentes. A cadeia lateral de C2 do ertapenem é diferenciada do meropenem apenas por um ácido carboxílico meta-substituído em um anel benzoico (MERCK & CO, 2010). Espera-se que os dois compostos tenham basicidade resultando em um perfil

epileptogênico semelhante, embora isso não tenha sido especificamente descrito (ZHANEL *et al.*, 2008).

Com base em nossos resultados, podemos sugerir que todos os carbapenêmicos têm a capacidade em desencadear a convulsão, mas não podemos afirmar se está diretamente proporcional a concentração no tecido cerebral. No entanto, existem outros fatores capazes de aumentar ou diminuir o potencial pró-convulsivante desses fármacos, visto que todos os carbapenêmicos em estudos mostraram resultados significativos, de maneira diferente, em relação aos controles.

Nossos resultados corroboram com um estudo, no qual relata que o meropenem e o ertapenem induziram atividade convulsiva mais fraca do que o imipenem em animais (DAY *et al.*, 1995; HORIUCHI *et al.*, 2006).

Já é bem descrito que o modelo de convulsão induzido por pilocarpina pode ocasionar dano neuronal em diferentes estruturas cerebrais (BONAN *et al.*, 2000; CAVALHEIRO *et al.*, 1991; JOVANOVIC *et al.*, 2003; McCARRON *et al.*, 2003). Sabe-se também que o estresse oxidativo pode ser um dos indutores desse dano neuronal e este tem sido implicado em uma variedade de condições neurológicas agudas e crônicas, incluindo a epilepsia (BONFOCO *et al.*, 1995; HAMED *et al.*, 2004).

O estresse oxidativo (EO) é resultado de um desequilíbrio entre o mecanismo oxidante e as defesas antioxidantes em nosso organismo, e tem sido relacionado com a fisiopatologia de uma série de doenças, incluindo transtornos neuropsiquiátricos (BERK *et al.*, 2011; HAMAI *et al.*, 2006; JUNG *et al.*, 2007; LIU *et al.*, 2012). Várias moléculas estão associadas nesse desequilíbrio. Como as espécies reativas de oxigênio (ERO), espécies reativas de nitrogênio (ERN) e vias de sinalização do óxido nítrico (NO) (SZABÓ, 2007).

Os radicais livres são moléculas que contêm um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos, o que confere a essas estruturas certo grau de reatividade, tornando-as capazes de reagir com qualquer composto situado próximo a sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora (ALLEN & TRESINI, 2000; BERTRAM, 2008). A formação dos radicais livres constitui uma ação contínua e fisiológica. Estes radicais desempenham um papel duplo nos sistemas biológicos, podendo ser prejudiciais ou benéficos para o organismo (MENA *et al.*, 2009).

A produção de radicais lipídicos pode dar início a uma reação em cadeia que tem como consequência a perda da seletividade na troca iônica e a liberação do conteúdo das organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos e a formação de produtos citotóxicos como o malonaldeído (MDA), que culminam na destruição parcial ou completa da membrana celular (AIKENS & DIX, 1991; PILAI *et al.*, 2004).

Freitas e colaboradores (2006a) identificaram níveis aumentados de peroxidação lipídica durante o período agudo das convulsões induzidas por pilocarpina, em várias áreas cerebrais de ratos. Tejada e colaboradores (2006) identificaram o aumento da peroxidação lipídica, induzida por pilocarpina, no hipocampo e córtex de ratos. Níveis elevados de lipoperoxidação também foram relatados em hipocampo de ratos, nas fases aguda e crônica de convulsões induzidas por pilocarpina ou ácido caínico, e na epilepsia induzida por *kindling* (abrasamento) (DAL-PIZZOL *et al.*, 2000; FRANTSEVA *et al.*, 2000a).

O aumento observado nos níveis de MDA em hipocampo, corpo estriado e córtex pré-frontal demonstraram os animais tratados com os carbapenêmicos durante 7 dias e, posteriormente, submetidos a convulsão por pilocarpina 400mg/kg indica que esses antibióticos são capazes de contribuir para a produção de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico, indica efeito oxidante.

Danos na membrana celular e mitocondrial, incluindo a peroxidação lipídica, podem contribuir de forma significativa para alterações paroxísticas nessas membranas e seu mau funcionamento durante a epileptogênese. Dados na literatura demonstram que o aumento na produção de radicais livres e dano lipídico por peroxidação ocorrem durante as convulsões e na injúria neuronal mediada pelo processo convulsivo (FRANTSEVA *et al.*, 2000b; PATEL, 2004).

Existem evidências de que a convulsão apresenta sinais aumentados de estresse oxidativo e que há participação dos caminhos do óxido nítrico (NO) na sua patogenia (REHNI *et al.*, 2009). Embora exerça diversas funções fisiológicas úteis, quando em excesso, o NO pode exercer efeitos nocivos. Em determinadas condições, o NO e o O<sub>2</sub><sup>-</sup> podem interagir, resultando na formação de peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), um produto extremamente tóxico. Este composto é capaz de reagir com diversas moléculas como: proteínas, lipídios, carboidratos e ácidos nucléicos, danificando-os. Além disso, seus

prováveis produtos de decomposição, o radical OH<sup>-</sup> e o dióxido de nitrogênio, dentre outros, têm semelhante potencial deletério (UZÜM *et al.*, 2005).

O NO no SNC pode ser produzido pela NO sintase (NOS) endotelial (NOSe), uma enzima constitutiva, e pela NOS neuronal (NOSn). Outra parte do NO é sintetizada pela NOS induzível (NOSi) que regula a resposta imune. O excesso de NOSi foi detectada em hipocampo de camundongos geneticamente epilépticos (MURASHIMA *et al.*, 2002). O nitrito (metabólito estável do NO) pode ser associado com a fisiopatologia da convulsão, uma vez que o estresse oxidativo cerebral induzido pelas convulsões pode ser bloqueado ou reduzido de forma significativa através do bloqueio da inibição da enzima NOSi (RAJASEKARAN, 2004). Durante as convulsões, nitrito e nitrato têm sido implicados em muitos mecanismos moleculares do processo, podendo participar do subsequente dano neuronal em todo o cérebro e ativar outros mecanismos que potencializem os danos e a propagação do foco epiléptico (SOSUNOV *et al.*, 2005).

Nossos resultados mostram que todos os carbapenêmicos nas concentrações de 100mg/kg e 200mg/kg foram capazes de aumentar os níveis de nitrito no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos submetidos ao pré-tratamento por 7 dias. Mesmo não observando aumento significativo em todas as áreas nos grupos cuja a convulsão foi induzida por pilocarpina, ainda assim, podemos dizer que esses antibióticos são capazes de contribuir para o aumento dos níveis de nitrito nas áreas estudadas.

Em condições fisiológicas o corpo dispõe de mecanismos antioxidantes que conseguem neutralizar as EROs, porém em desequilíbrio por uma produção excessiva de EROs, por uma ineficiência do sistema antioxidante ou ainda pela combinação dos dois fatores, caracterizado o EO, um processo fisiopatológico que pode levar a toxicidade celular e até mesmo um dano ou morte da mesma. Esse sistema fisiológico antioxidante é constituído por agentes de ação não enzimática e enzimática (HALLIWELL, 2007; BARREIROS *et al.*, 2006). O sistema de defesa enzimático inclui as enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutationa Peroxidase (GSH-Px). Estas enzimas estão presentes tanto no citoplasma celular como na mitocôndria, local onde há maior produção de EROs (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; LAMBETH *et al.*, 2008; ROVER *et al.*, 2001).

A GSH pode ser considerada um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante da célula, independente do tecido é encontrada nas mesmas concentrações em diferentes áreas cerebrais e demais órgãos, protegendo-a contra a lesão resultante da exposição a agentes, como os íons ferro (HUBER *et al.*, 2008; GALLEANO & PUNTARULO, 1995), o oxigênio, as radiações ionizantes, a luz ultravioleta (DENEKE & FANBURG, 1989) e de compostos químicos como, por exemplo, a pilocarpina e o ácido caínico (FREITAS *et al.*, 2006a). Da mesma forma, diminui a susceptibilidade às lesões, atuando como transportadora e reservatório da cisteína e ainda, participa da desintoxicação de diversos agentes químicos e da eliminação de produtos de lipoperoxidação. Pode ainda, ser requerida para a síntese de DNA, de proteínas e de algumas prostaglandinas fisiologicamente (DENEKE & FANBURG, 1989; HUBER *et al.*, 2008).

Nossos resultados mostraram uma redução significativa nos níveis de GSH em todas as áreas nos grupos de animais que foram pré-tratados com os carbapenêmicos em relação ao grupo veículo (salina a 0,09%). Portanto, um dos mecanismos de defesa desses animais encontra-se frágil, o que pode propiciar um surgimento de quadro convulsivo.

O sistema colinérgico é responsável pela ativação inicial de neurônios excitatórios glutamatérgicos, o que daria início a atividade convulsiva. A liberação excessiva de glutamato durante a convulsão manteria as células despolarizadas, produzindo liberação contínua de cálcio dos estoques intracelulares, culminando em lesão de membranas celulares e de outras organelas, provocando a morte celular por excitotoxicidade (SCORZA, 2006). Acredita-se que a diminuição do metabolismo da acetilcolina, pela redução ou bloqueio da atividade da AChE, pode facilitar a instalação da atividade epiléptica, em virtude do aumento da concentração da acetilcolina endógena, que pode ativar diretamente o sistema colinérgico e, de forma direta ou indireta, induzir mudanças neuroquímicas em outros sistemas de neurotransmissão, dentre eles, glutamatérgico e GABAérgico, uma vez que estes podem estar implicados durante o estabelecimento e desenvolvimento das convulsões límbicas (IMPERATO *et al.*, 1998).

Portanto, nosso estudo sugere uma atividade pró-convulsivante baseada em mecanismo via colinérgica, no entanto, é necessário a realização de outros testes para comprovar esse mecanismo envolvido.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram que todos os carbapenêmicos possuem uma atividade pró-convulsivante relacionada a mecanismos colinérgicos. Como também, ação oxidante em todas as doses estudadas. Sugere-se que esses fármacos possuam um efeito modulador sobre o funcionamento do sistema colinérgico muscarínico, em nível central, como mecanismo alternativo para potencialização das convulsões no modelo de P400, indicando um possível mecanismo colinérgico envolvido. Experimentos adicionais devem ser realizados para o melhor esclarecimento dos mecanismos envolvidos na atividade pró-convulsivante dos carbapenêmicos.

## REFERÊNCIAS

- AIKENS, J.; DIX, T.A. Perhydroxyl radical (HOO<sup>•</sup>) Initiated lipid-peroxidation—The role of fatty-acid hydroperoxides. **J. Biol. Chem.**, v.266, pp. 15091-15098, 1991.
- ALLEN, R.G. & TRESINI, M. Oxidative stress and gene regulation. **Free Rad Biol Med.**, pp. 463-499, 2000.
- AZNAOUR, N.; MECHAWAR, N.; DESCARRIES, L. Comparative analysis of cholinergic innervation in the dorsal hippocampus of adult mouse and rat: a quantitative immunocytochemical study. **Hippocampus**, v. 12, pp. 206-217, 2002.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim Nova.**, v.29, pp. 113-123, 2006.
- BERK, M.; KAPCZINSKI, F.; ANDREAZZA, A. C.; DEAN, O. M.; GIORLANDO, F.; MAES, M.; YÜCEL, M.; GAMA, C. S.; DODD, S.; DEAN, B.; MAGALHÃES, P. V.; AMMINGER, P.; MCGORRY, P.; MALHI, G. S. Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. **Neurosci Biobehav Rev.**, v.5, n.3, pp. 804-817, 2011.
- BERGER, I.; GILLIS, R.A.; VITAGLIANO. S.; PANICO, W.H.; AGEE, S.; KELLY, M., *et al.* NMDA receptors are involved at the ventrolateral nucleus tractus solitari for termination of inspiration. **Eur J Pharmacol.**, v.277, pp. 195-208, 1995.
- BERTRAM, R. Hass, Cellular responses to reactive oxygen species-induced DNA damage and aging, **Biol. Chem.** V.389 pp. 211-220, 2008.
- BERRA, C.M.; MENCK, C.F.M.; DI MASCIO, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e sinalização no controle do ciclo celular. **Química Nova**, v.29, n.6, pp. 1340-1344, 2006.
- BIALER, M.; WHITE, H.S. Key factors in the discovery *and* development of new antiepileptic drugs. **Nature rev. drug discov.**, v.9, n.1, pp. 68-82, 2010.
- BONAN, C.D., WALZ, R., PEREIRA, G.S., WORM, P.V., BATTASTINI, A.M.O., CAVALHEIRO, E.A., IZQUIERDO, I., SARKIS, J.J.F. Changes in synaptosomal ectonucleotidase activities after status epilepticus induced by pilocarpine and kainic acid. **Epilepsy Res.**, v.9, pp. 229-238, 2000.
- BONFOCO, E., KRAINIC, D., ANKARCRONA, M., NOCOTERA, P., LIPTON, A.S. Apoptosis and necrosis: two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.92, pp. 7162-7166, 1995.

BRADLEY, J.S.; *et al.* Carbapenems in clinical practice: a guide to their use in serious infection. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.11, pp. 93-100, 1999.

BRUNEAU, E.G.; AKAABOUNE, M. Running to stand still: ionotropic receptor dynamics at central and peripheral synapses. **Mol. Neurobiol.**, 34 (2), pp. 137-151, 2006.

CALANDRA, G.B.; BROWN, K.R.; GRAD, L.C.; AHONKHAI, V.I.; WANG, C.; AZIZ, M.A. Review of adverse experiences *and* tolerability in the first 2,516 patients treated with A comparative study on the convulsant activity of carbapenems *and* betalactams. **Drugs Exp Clin Res**, v.18, pp. 377-381, 1992.

CANNON, J.P.; LEE, T.A.; CLARK, N.M.; SETLAK, P.; GRIM, S.A. The risk of seizures among the carbapenems: a meta-analysis. **J Antimicrob Chemother**, v.69, pp. 2043-2055, 2014.

CARLET, J.; HUTTNER, A.; HARBARTH, S. Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 World Healthcare-Associated Infections Forum. **Antimicrob Resist Infect Control**, v.2, p. 31, 2013.

CAVALHEIRO, E.A.; LEITE, J.P.; BORTOLOTTO, Z.A.; TURSKI, W.A.; IKONOMIDOU, C.; TURSKI, L. Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling *and* spontaneous recurrent seizures. **Epilepsia**, v.32, pp. 778-782, 1991.

CHAUDHARY, U.J.; DUNCAN, J.S.; LEMIEUX, L.A. A dialogue with historical concepts of epilepsy from the Babylonians to Hughlings Jackson: Persistent beliefs. **Epilepsy and Behavior**, v.21, pp. 109-114, 2011.

CHOW, K.M.; HUI, A.C.; SZETO, C.C. Neurotoxicity induced by  $\beta$ -lactam antibiotics: from bench to bedside. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v.24, pp. 649-653, 2005.

DAY, I.P.; GOUDIE, J.; NISHIKI, K.; WILLIAMS, P.D. Correlation between in vitro *and* in vivo models of proconvulsive activity with the carbapenem antibiotics, biapenem, imipenem/cilastatin *and* meropenem. **Toxicol Lett**, v.76, pp. 239-243, 1995.

DE LORENZO, R.J.; CHURN, S.B.; KOCHAN, L.D. Chronic inhibition of  $\text{Ca}^{2+}$ /Calmodulin Kinase II activity in the pilocarpine model of epilepsy. **Brain Res**, v.875, pp. 66-77, 2000.

DE SARRO, A.; DE SARRO, G.B.; ASCIOTI, C.; NISTICO, G. Epileptogenic activity of some  $\beta$ -lactam derivatives: structure-activity relationship. **Neuropharmacology**, v.28, pp. 359-365, 1989.

DENEKE, S.M., FANBURG, B.L. Regulation of cellular glutathione. **Am. J. Physiol.**, v.257, pp. 163-173, 1989.

ELGOYHEN, A.B.; KATZ, A.; ROTHLIN, C.V.; VETTER, D.E.; HEINEMANN, S.F.; BOULTER, J. The  $\alpha 10$  nicotinic subunit is a determinant of the cochlear outer hair cell cholinergic receptor function. **Elsevier Science.**, v.22, pp. 2-4, 2000.

ENG, R.H.K.; MUNSIF, A.N.; NANGCO, B.G. Seizure propensity with imipenem. **Arch Intern Med.**, v.149, pp. 1881-1883, 1989.

ENGEL, J.; PEDLEY, T.A. Epilepsy: a comprehensive textbook, **Lippincott-Raven. Philadelphia**, pp. 2013-2019, 1997.

ENGEL JR, J. ILAE Commission Report. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures *and* with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. **Epilepsia**, v 42, n.6, pp. 796-800, 2001.

FERREIRA, A.L.A., MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Brasil**, v.4, n.1, pp. 61-68, 1997.

FISHER, R.; van EMDE BOAS, W.; BLUM, W. *et al.* Epileptic seizures *and* epilepsy: definitions proposed by the international League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v.46, n. 4, pp. 470-472, 2005.

FREITAS, R.M.; SOUSA, F.C.F.; VASCONCELOS, S.M.M.; VIANA, G.S.B.; FONTELES, M.M.F. Pilocarpine-induced seizures in adult rats: lipid peroxidation level, nitrite formation, GABAergic and glutamatergic receptor alterations in the hippocampus, striatum and frontal cortex. **Pharm Biochem Behav.**, v.78, pp. 327-332, 2004.

FREITAS, R.M.; SOUSA, F.C.F.; VIANA, G.S.B.; FONTELES, M.M.F. Acetylcholinesterase activities in hippocampus, frontal cortex and striatum of Wistar rats after pilocarpine-induced status epilepticus. **Neurosci. Lett.**, v.399, pp. 76-79, 2006a.

Effect of gabaergic, glutamatergic, antipsychotic and antidepressant drugs on pilocarpineinduced seizures and status epilepticus. **Neurosci. Lett.**, v.408, pp. 79-83, 2006.

GALLEANO, M., PUNTARULO, S. Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. **Biochim. Biophys Acta**, v.1271, pp. 321-326, 1995.

GAO, F.; LIU, Y.; LI, X.; WANG, Y.; WEI, D.; JIANG, W. Fingolimod (FTY720) inhibits neuroinflammation and attenuates spontaneous convulsions in lithium-pilocarpine induced status epilepticus in rat model. **Pharmacol Biochem Behav.** 103(2). doi: 10.1016/j.pbb.2012.08.025. pp. 187-196, 2012.

GRANOWITZ, E.; BROWN, R.B. Antibiotic Adverse Reactions *and* Drug Interactions. **Crit Care Clin.** v.24, pp. 421-442, 2008.

GRASSHOFF. C.; GILEESSEN, T.; THIERMANN, H.; WAGNER, E.; SZINICZ, L. The effect of acetylcolinesterase-inhibition in depolarization-induced GABA release from rat striatal slices. **Toxicology**, v.184, pp. 149-156, 2003.

GREEN, L.; FISHER, E.B.JR.; PERLOW, S.; SHERMAN, L. Preference reversal and selfcontrol: choice as a function of reward amount and delay. **Behav. Anal. Lett.**, v.1, pp. 43-51, 1981.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochem Soc Trans.**, v.35, pp. 147-150, 2007.

HAMAI, M.; IWAI, M.; IDE, A.; TOMOCHIKA, H.; TOMONO, Y.; MOGI, M.; HORIUCHI, M. Comparison of inhibitory action of candesartan and enalapril on brain ischemia through inhibition of oxidative stress. **Neuropharmacology**, v.51, n.4, pp. 822-828, 2006.

HARMAN, D. Aging-a theory based on free radical and radiation-chemistry. **J. Gerontol.**, v.11, pp. 298-300, 1956.

\_\_\_\_\_. Free-radical theory of aging—dietary implications. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.25, pp. 839-843, 1972.

HELLINGER, W.C.; BREWER, N.S. Imipenem. **Mayo Clin Proc.**, 66(10), pp. 1074-1081, 1991.

HIRSCH, E.H.; BARAM, T.Z.; SNEAD III, O.C. Ontogenetic study of lithium-pilocarpineinduced status epilepticus in rats. **Brain Res.**, v.583, pp. 120-126, 1992.

HORIUCHI, M.; KIMURA, M.; TOKUMURA, M.; HASEBE, N.; ARAI, T.; ABE, K. Absence of convulsive liability of doripenem, a new carbapenem antibiotic, in comparison imipenem/cilastatin. **Am J Med**, v.78, pp. 73-78, 1985.

HORIUCHI, M.; KIMURA, M.; TOKUMURA, M.; HASEBE, N.; ARAI, T; ABE, K. Absence of convulsive liability of doripenem, a new carbapenem antibiotic, in comparison with beta-lactam antibiotics. **Toxicology**. v.222, pp. 114-124, 2006.

HUBER, P.C; ALMEIDA, W.P; FATIMA, A. Glutationa e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**, v.31, n.5, pp. 1170-1179, 2008.

HUONG, N.T.T.; MATSUMOTO, K.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; WATANABE, H. In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.21, n.9, pp. 978-981, 1998.

IMPERATO, A., DAZZI, L., CARTA, G., COLOMBO, G., BIGGION, G. Rapid increase in basal acetylcholine release in the hippocampus of freely moving rats induced

by withdrawal from long-term ethanol intoxication. **Brain Res.**, v.784, pp. 347-350, 1998.

ISOKAWA, M. Modulation of GABA<sub>A</sub> receptor-mediated inhibition by postsynaptic calcium in epileptic hippocampal neurons. **Brain Res** v.810, pp. 241-250, 1998.

JARDIM, F.M.A. **Efeito da Ingestão Crônica de Cafeína na Atividade de Enzimas Antioxidantes, Peroxidação Lipídica e na Produção de Radicais Livres em diferentes Regiões do Sistema Nervoso Central em Ratos Adultos**. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.

JIN, C.; JUNG, I.; KU, H.; YOOK, J.; KIM, D.H.; KIM, M.; CHO, J.H.; OH, C.H. Low convulsive activity of a new carbapenem antibiotic, DK-35C, as compared with existing congeners. **Toxicology**, v.138, pp. 59-67, 1999.

JONES, R.N. & PFALLER, M.A. Bacterial resistance: a worldwide problem. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v.31, pp. 379-388, 1998.

JOPE, R.S.; MORRISETT, R.A.; SNEAD, O.C. III Characterization of lithium potentiation of pilocarpine-induced status epilepticus in rats. **Experimental Neurology**, v.91, pp. 471-480, 1986.

JOVANOVIC, M., SCLAKOVIC, V., VASILJEVIC, I., RADENOVIC, L. 7-nitroindazole reduces nitrite concentration in rat brain after intrahippocampal kainate-induced seizure. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v.135, pp. 443-450, July 2003.

JUNG, K.H.; CHU, K.; LEE, S.T.; KIM, S.J.; SONG, E.C.; KIM, E.H.; PARK, D.K.; SINN, D.I.; KIM, J.M.; KIM, M.; ROH, J.K. Blockade of AT1 receptor reduces apoptosis, inflammation, and oxidative stress in normotensive rats with intracerebral hemorrhage. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.322, n.3, pp. 1051-1058, 2007.

KAHAN, J.S.; *et al.* Thienamycin, a new-lactam antibiotic. I. Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. **J. Antibiot.** Tokyo, v.32, pp. 1-12, 1979.

KAZUAKI MATSUMOTO a, \*, YUJI KURIHARA a, b, YUKO KURODA a, SEIJI HORI c, JUNKO KIZU a **Pharmacokinetics and brain penetration of carbapenems in mice** **J Infect Chemother**, v.22, pp. 346-349, 2016.

KOHL, B.H.; DANNAHARDT, G. The NMDA receptor complex: a promising target for novel antiepileptic strategies. **Curr Med Chem**, v.8, pp.269-272, 2001.

KOSS, T.; TEPPER, J.M. Dual cholinergic control of fast-spiking interneurons in the neostriatum. **Nature Neuroscience**, v.2, pp. 467-472, 1999.

\_\_\_\_\_. Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. **J Neurosci**, v.22, pp. 529-535, 2002.

LAMBETH, J.D.; KRAUSE, K.H.; CLARK, R.A. NOX enzymes as novel targets for drug development. **Semin Immunopathol.**, v.30, n.3, pp. 339-363, 2008.

LIMA, C.N.C. **Potencial convulsivante de carbapenêmicos em diferentes modelos experimentais de convulsão**: avaliação comparativa, comportamental e neuroquímica. Dissertação de mestrado. Pós graduação em Fisiologia e Farmacologia. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2011.

LIU, F.; HAVENS, J.; YU, Q.; WANG, G.; DAVISSON, R.L.; PICKEL, V.M.; IADECOLA, C. The link between angiotensin II-mediated anxiety and mood disorders with NADPH oxidase-induced oxidative stress. **Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.**, v.4, n.1, pp. 28-35, 2012.

LIVERMORE, D.M. Of Pseudomonas, porins, pumps and carbapenems. **J Antimicrob Chemother**, 47(3), pp. 247-250, 2001.

MAES, M. *et al.* Depression's multiple comorbidities explained by (neuro) inflammatory and oxidative & nitrosative stress pathways. **Neuro Endocrinol Lett.**, v.32 (1) pp. 7-24, 2011.

MARINHO, M.M.F.; SOUSA, F.C.F.; BRUIN, V.M.S.; AGUIAR, L.M.V.; PINHO, R.S.N.; VIANA, G.S.B. Inhibitory action of a calcium channel blocker (nimodipine) on seizures and brain damage induced by pilocarpine and lithium-pilocarpine in rats. **Neuroscience Letters**, v.235, pp. 13-16, Sept. 1997.

MARTIN, E.D.; ARAQUE, A.; BUNO, W. Synaptic regulation of the slow Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> current in hippocampal CA1 pyramidal neurons: implication in epileptogenesis. **J. Neurophysiol**, v.86, pp. 2878-2886, 2001.

MARTÍNEZ, L.; CALVO, J. El problema creciente de la resistencia antibiótica en bacilos gramnegativos: situación actual. **Enferm Infect Microbiol Clin.**, v.28, pp. 25-31, 2010.

McCARRON, J. G.; BRADLEY, K. N.; MCMILLAN, D.; MUIR, T. C. Sarcolemma agonist-induced interactions between InsP<sub>3</sub> and ryanodine receptors in Ca<sup>2+</sup> oscillations and waves in smooth muscle. **Biochemical Society Transactions**, v.31, pp. 929-924, 2003.

MENA, S.; ORTEGA, A.; ESTRELA, J. Mini review Oxidative stress in environmental- induced carcinogenesis. **Environmental Mutagenesis**. v.674, pp. 36-43, 2009.

MERCK & CO. Inc. Invanz (ertapenem) package insert. Whitehouse Station, NJ; 2010.

- MICHOTTE, Y.; KHAN, G.M.; SMOLDERS, I.; EBINGER, G. Anticonvulsant effect and neurotransmitter modulation of focal and systemic 2-chloroadenosine against the development of pilocarpine-induced seizures. **Neuropharmacology**, v.39, pp. 2418-2432, 2000.
- MORI, M.; HIKIDA, M.; NISHIHARA, T.; NASU, T.; MITSUHASHI, S. Comparative stability of carbapenem and penem antibiotics to human recombinant dehydropeptidase-I. **J Antimicrob Chemother**, 37(5), pp. 1034-1036, 1996.
- MOSHE, S.L.; PERUCCA, E.; RYVLIN, P.; TOMSON, T. **Epilepsy: new advances**. Lancet, v.38, pp. 884-898, 2015.
- NASCIMENTO, J.L.; FREITAS, R.M.; PIRES, L.F. Determinação dos níveis de malonaldeído e nitrito em indivíduos portadores de traço falciforme. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, Salvador, v.12, n.1, pp.65-69, jan./abr. 2013.
- NATHANSON, N.M.; McKINNON, L.A.; KALAYDJIAN, A.E.; HAMILTON, S.E.; ROSOFF, M.L.; NADLER, L.S. Molecular analysis of the regulation of muscarinic receptor expression and function. **Life Sciences**, v.64, pp. 375-379, 1999.
- NOEBELS, J.L.; AVOLI, M.; ROGAWSKI, M.A.; OLSEN, R.W.; DELGADO-ESCUETA, A.V. **Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies**. 4th ed. Oxford: Oxford University, Press. 2012.
- NORRBY, S. R. Neurotoxicity of carbapenem antibiotics. **Drug Saf.**, v.15, pp. 87-90, 1996.
- NORRBY, S.R. Neurotoxicity of carbapenem antibiotics: consequences for their use in bacterial meningitis. **J Antimicrob Chemother**, 45(1), pp. 5-7, 2000.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical biochemistry**, v.95, n.2, pp. 351-358, 1979.
- PAPP-WALLACE, K.M.; *et al.* Carbapenems: Past, Present, and Future. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.55, pp. 4943-4960, 2011.
- PATEL, M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures. **Free Radic. Biol. Med.**, v.15, pp. 1951-1962, 2004.
- PATERSON, D.L.; and BONOMO, R.A. Extended-spectrum-lactamases: a clinical update. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.18, pp. 657-686, 2005.
- PEPEU, G. Brain acetylcholine: an inventory of our knowledge on the 50<sup>th</sup> anniversary of its discovery. **Trends Pharmacol. Sci.**, v.4, pp. 416-418, 1983.
- PERSINGER, M.A.; LEUNG, L.S.; STEWART, L.S. Diurnal variation in pilocarpine-induced generalized tonic-clonic seizure activity. **Epilepsy Research**, v.44, pp. 207-212, 2001.

PILLAI, G.R.; SRIVASTAVA, A.S.; HASSANEIN, T.I.; CHAUAN, D.P. and Carrier, E. Induction of apoptosis in human lung cells by curcumim. **Cancer Letters**. v.208, pp. 163-170, 2004.

QUEENAN, A.M. & BUSH, K. Carbapenemases: the Versatile  $\beta$ -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v.20, pp. 440-458, 2007.

RODRIGUES, A.D. et al. Neuroprotective and anticonvulsant effects of organic and conventional purple grape juices on seizures in Wistar rats induced by pentylenetetrazole. **Neurochemistry International**, v.60, pp. 799-805, 2012.

ROVER JR, L.; HOEHR, N.F.; VELLASCO, A.P. Sistema antioxi-dante envolvendo o ciclo metabólico da glutationa associado à métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quím Nova**, v.24, n.1, pp. 112-119, 2001.

SCORZA C. **Expressão da proteína nestina no cérebro de ratos submetidos ao status epilepticus induzido pela pilocarpina:** avaliação do período pós-natal ao envelhecimento. Tese. São Paulo: Departamento de Neurologia e Neurocirurgia, Universidade Federal de São Paulo, 2006.

SHIMADA, J.; HORI, S.; KANEMITSU, K.; SHOJI, Y.; NAKASHIO, S.; YANAGAWA, A. SOUSA, J.C. **Manual de Antibiótico Antibacterianos**. Porto, Fundação Fernando Pessoa, 2006.

SHIMADA, J.; KANEMITSU, K.; SHOJI, Y.; NAKASHIO, S.; YANAGAWA, A. A comparative study of the convulsant activity of carbapenems and beta-lactams. **Drugs Exp. Clin. Res.**, v.18, pp. 377-81, 1992.

SOUSA, J.C. (2006). **Manual de Antibiótico Antibacterianos**. Porto, Fundação Fernando Pessoa.

STEFAN, H.; PAULINI-RUF, A.; HOPFENGÄETNER, R.; RAMPP, S. Network characteristics of idiopathic generalized epilepsies in combined MEG/EEG. **Epilepsy Research**, v.85, pp. 187-198, 2009.

SUNAGAWA, M.; MATSUMURA, H.; SUMITA, Y.; NOUDA, H. Structural features resulting in convulsive activity of carbapenem compounds: effect of C-2 side chain. **J Antibiot**, Tokyo, v.48, pp. 408-416, 1995.

SZABÓ, C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. **Nat. Rev. Drug. Discov.**, v.6, pp. 917-935, 2007.

THURMAN, D.J.; BEGHI, E.; BEGLEY, C.E. *et al.* and the ILAE. Commission on Epidemiology. Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. **Epilepsia**, 52 (suppl 7), pp. 2-26, 2011.

TORRES, J.A.; VILLEGRAS, M.V.; and QUINN, J.P. Current concepts in antibiotic-resistant gram-negative bacteria. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v.5, pp. 833-843, 2007.

TURSKI, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: a behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. **Behavior Brain Research**. v.9, pp. 315-335, 1983.

TURSKI, W.A.; CAVALHEIRO, E.A.; SCHWARTZ, M.; CZUCZWAR, S.J.; KLEINROK, Z.; TURSKI, L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: a behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. **Behav. Brain Res.**, v.9, pp. 315-335, 1983a.

VIANNA, E.P.M.; FERREIRA, A.T.; DONA, F.; CAVALHEIRO, E.A.; FERNANDES, M.J.S. Modulation of seizures and synaptic plasticity by adenosinergic receptors in an experimental model of temporal lobe epilepsy induced by pilocarpine in rats. **Epilepsia**, 46 (Suppl. 5), pp. 166-173, 2005.

**WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Disponível em:  
<http://www.who.int/mediacentre/infographic/mental-health/epilepsy/en>. Acesso em 15 mai. 2017.

YANG, K.; SU, J.; LANG, Y.; LIU, S.P. and YIN, J. Contradictory imaging and EEG results in resection surgery of bitemporal lobe epilepsy: A case report. **Exp Ther Med**, v.7, pp. 731-733, 2014.

YELLIN, A.E.; HASSETT, J.M.; FERNANDEZ, A.; *et al.* Ertapenem monotherapy versus combination therapy with ceftriaxone plus metronidazole for treatment of complicated intra-abdominal infections in adults. **Int J Antimicrob Agents**, 20 (2), 85-88 (3), pp. 165-173, Sep, 2002.

ZHANEL, G.G.; JOHANSON, C.; EMBIL, J.M.; *et al.* Ertapenem: review of a new carbapenem. **Expert Rev Anti Infect Ther**, 3 activity of doripenem, a new carbapenem. **Antimicrob Agents**, v.1, pp. 23-39, 2005.

ZHANEL, G.G.; KETTER, N.; REDMAN, R.; LEE, M.; RUBINSTEIN, E.; FRIEDLAND, I. Doripenem: a carbapenem with low seizureinducing potential [abstract]. Presented at the 48th annual ICAAC/IDSA 46th annual meeting: a joint meeting of the American Society for Microbiology and the Infectious Diseases Society of America, Washington, DC, October, pp. 25-28, 2008.

ZHANEL, G.G.; KETTER, N.; RUBINSTEIN, E.; FRIEDLAND, I.; REDMAN, R.; Overview of seizureinducing potential of doripenem. **Drug Saf**, v.32, pp. 709-716, 2009.