



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

CAMILA NAYANE DE CARVALHO LIMA

**POTENCIAL CONVULSIVANTE DE CARBAPENÊMICOS EM
DIFERENTES MODELOS EXPERIMENTAIS DE CONVULSÃO:
AVALIAÇÃO COMPARATIVA, COMPORTAMENTAL E
NEUROQUÍMICA**

**DEZEMBRO
2011**

CAMILA NAYANE DE CARVALHO LIMA

**POTENCIAL CONVULSIVANTE DE CARBAPENÊMICOS EM DIFERENTES
MODELOS EXPERIMENTAIS DE CONVULSÃO: AVALIAÇÃO COMPARATIVA,
COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Marta Maria de França Fonteles

**DEZEMBRO
2011**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

L697p

Lima, Camila Nayane de Carvalho.

Potencial convulsivante de carbapenêmico em diferentes modelos experimentais de convulsão: avaliação comparativa, comportamental e neuroquímica / Camila Nayane de Carvalho Lima. – 2011.

182 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Mestrado em Farmacologia, Fortaleza, 2011.

Orientação: Profa. Dra Marta Maria de França Fonteles.

1. Imipenem. 2. Cilastatina. 3. Epilepsia. I. Título.

CDD 616.853

**POTENCIAL CONVULSIVANTE DE CARBAPENÊMICOS EM DIFERENTES
MODELOS EXPERIMENTAIS DE CONVULSÃO: AVALIAÇÃO COMPARATIVA,
COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em: / /

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Dra. Danielle Silveira Macêdo
Universidade Federal do Ceará-UFC

Prof. Dr. Hemerson Iury Ferreira Magalhães
Universidade Federal do Ceará-UFC

Dedico esta dissertação ao meu exemplo de vida, a Profa. Josefa Gonçalves de Carvalho Lima que sempre me estimulou a dar este grande passo. Esta pessoa com muita sabedoria, discernimento, bom senso e dedicação esteve ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigada por ser minha mãe, profissional correta e competente, fonte de inspiração, apoio e ensino diário.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por me dar força para continuar a caminhada, enfrentar e superar cada desafio. Obrigado por me fazer o que sou e por me permitir chegar onde estou.

Aos meus pais, pela mágica da minha existência! A vocês, que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, que renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, pudesse realizar os meus. Por me proporcionarem as oportunidades que nunca tiveram. Minha eterna gratidão. Obrigada!

Ao meu grande amor, Ueber que por vezes deve ter detestado a mim e a este trabalho, pois ele sacrificou muitos momentos que poderíamos ter desfrutado juntos, mas sempre me incentivou, me apoiou, ajudou incondicionalmente, e, o melhor de tudo, sempre me cobrou para que eu continuasse e concluísse mais esta etapa de nossas vidas que vamos construindo juntos. EU TE AMO MUITO!

Aos meus irmãos Alan Roges e Eduardo pela convivência amiga, pelo carinho, por sempre acreditarem que eu poderia conseguir tudo, e ao primo Claudemi pela atenção e disponibilidade para ajudar em tudo.

Aos meus sobrinhos: Pablo e Ana Giúlia, por enfeitar e colorir minha vida!

À minha amiga Carol pela amizade de longa data, sólida e inabalável.

À minha querida amiga Belzinha, pela amizade e parceria, com muito bom humor sempre me colocando pra cima, obrigada pela grande ajuda, fundamental para a concretização deste trabalho.

A amiga Edith, por acompanhar de perto e me apoiar durante a maioria dos experimentos, pela amizade construída ao longo da pós-graduação, pelas risadas e por compartilhar conosco suas experiências de vida.

À querida amiga Nathália, pela sua dedicação e grande ajuda durante os experimentos, imprescindíveis para a realização deste projeto.

À querida amiga Luciana pela tranquilidade, pela confiança, por sua ajuda inestimável e incondicional.

À querida amiga Giuliana pelos momentos de cumplicidade e ajuda mútua.

A Professora Dra. Marta Maria de França Fonteles, pelo voto de confiança, pela oportunidade de participar de seu grupo, pelos ensinamentos científicos e amizade que foram de grande valia durante o mestrado. Obrigado por ter acreditado em mim

À Profa. Dra. Daniele Macêdo pelas dicas e orientações necessárias ao desenvolvimento deste projeto.

As Professoras Dra Cléa e Dra Silvânia, pela sua enorme contribuição científica para o desenvolvimento deste trabalho. A convivência com vocês durante esses dois anos foi especialmente agradável e proveitosa.

À Professora Aline Albuquerque, primeiramente pela acolhida, pelos seus ensinamentos científicos, pela sua disponibilidade em me ajudar, pelo seu carinho em nossas conversas. É um privilégio te conhecer! Você é um grande exemplo!

A todos os professores da pós-graduação o meu muito obrigado. A todos os colegas do Laboratório de Neurofarmacologia: João Henrique, Emiliano (Mimi), Camylla (mulher), Kamila (com K), Tassi, Alyne, Léo, Thici, Márcia Calheiros, Cacá, Edna, Mariana (morena), Mariana (lourinha), Helvira, Gersilene, Fernanda, Patrícia Xavier, Nayrton e outros... mesma luta, sempre vencedores...

À técnica do Laboratório de Neurofarmacologia Lena pela amizade e enorme contribuição na imobilização dos animais, sem a qual esse trabalho não seria possível.

A todos os funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia incluindo Vilani, Arnaldo (pela leitura dos aminoácidos), Aura Rhanes, Ana Paula (Paulinha), Cícera, Haroldo, Márcia, Alana, Fernando pela dedicação ao trabalho

À todos os animais que já estiveram e que hoje estão presentes em minha vida, me ensinando a amá-los e respeitá-los cada dia mais e me incentivando a continuar trilhando os passos desta bela mas nem sempre fácil profissão. Este trabalho é dedicado à eles, na esperança de que possa de alguma forma contribuir para sua qualidade de vida e bem estar.

A CAPES pelo apoio financeiro

Por fim, a todos que são parte daquilo que sou hoje, obrigada!

RESUMO

Epilepsia é o mais freqüente distúrbio neurológico, atingindo 50 milhões de pessoas no mundo, 40 milhões delas em países desenvolvidos. Pessoas de todas as raças, sexos, condições socioeconômicas e regiões são acometidas. A pilocarpina (P400) é um agonista colinérgico que se caracteriza por induzir convulsões que evoluem para *status epilepticus*, similar à epilepsia do lobo temporal humana. O pentilenotetrazol (PTZ) é um antagonista GABA que mimetiza convulsões do pequeno-mal (crise de ausência) e do tipo tônico-clônico em humanos. A estricnina é um potente convulsivante e atua, principalmente, como antagonista competitivo seletivo da inibição pós-sináptica mediada pela glicina. Sua principal ação é o aumento da excitabilidade reflexa da medula. A picrotoxina é um agente convulsivante que bloqueia os canais de cloro ativados pelo ácido gama-aminobutírico. Os agentes convulsivantes foram administrados intraperitonealmente, após 10 minutos da administração intravenosa dos carbapenêmcios. Com o desenvolvimento deste trabalho, podemos observar que o pré-tratamento com imipenem ou meropenem interfere com vários sistemas de neurotransmissores quando os animais são submetidos à convulsão induzida pela pilocarpina na dose de 400mg/kg, pentilenotetrazol na dose de 55mg/Kg, estricnina 2mg/Kg e picrotoxina 10mg/Kg. Tal efeito foi evidenciado através do aumento nos níveis de aminoácidos excitatórios como o glutamato e, por outro lado, uma diminuição nos níveis de aminoácidos inibitórios como o GABA reforçando a existência de uma possível via modulatória desses aminoácidos no controle e desenvolvimento de crises epiléticas quando ocorre o pré-tratamento com imipenem/cilastatina ou meropenem.

Palavras-chave: Imipenem/cilastatina. Meropenem. Convulsão.

ABSTRACT

Epilepsy is the most common neurological disorder, affecting 50 million people worldwide, 40 million of them in developed countries. People of all races, genders, socioeconomic conditions and regions are affected. The pilocarpine (P400) is a cholinergic agonist characterized by inducing seizures evolving to status epilepticus, similar to human temporal lobe epilepsy. The pentylenetetrazole (PTZ) is a GABA antagonist that mimics the small-mal seizures (absence seizure) and tonic-clonic seizures in humans. The strychnine is a potent convulsant and acts mainly as a selective antagonist of postsynaptic inhibition mediated by glycine. Its main action is to increase the excitability of the spinal reflex . The convulsant picrotoxin is an agent that blocks chloride channels activated by gamma-aminobutyric acid. Convulsant agents were administered intraperitoneally, 10 minutes after intravenous administration of carbapenêmcios With the development of this work, we found that pretreatment with imipenem or meropenem interfere with various neurotransmitter systems when animals are subjected to seizures induced by pilocarpine at a dose of 400mg/kg, 55mg/Kg at a dose of pentylenetetrazole, strychnine and picrotoxin 10mg/Kg 2mg/kg. This has been evidenced by increasing levels of excitatory amino acids such as glutamate and on the other hand, a decrease in levels of inhibitory amino acids such as GABA reinforcing the existence of a possible modulatory pathway of these amino acids in control and development of seizure occurs when pre-treatment with imipenem or meropenem.

Key-Words: Imipenem / cilastatin. Meropenem. Convulsion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Receptor GABA _A	23
Figura 2 – Receptor Muscarínico.....	25
Figura 3 – Receptor de Glutamato.....	27
Figura 4 – Estrutura química do Imipenem.....	31
Figura 5 – Estrutura química do Meropenem.....	33
Figura 6 – Dispositivo de retenção para administração via intravenosa na veia caudal de camundongos.....	48
Figura 7 – Aparelho de HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Laboratório de Neurofarmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC.....	62
Figura 8 – Latência de 1ª convulsão após administração de pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+PTZ55 e IMIP500+PTZ55) ou meropenem (MERO250+PTZ55 e MERO500+PTZ55).....	66
Figura 9 – Latência de morte após administração de pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+PTZ55 e IMIP500+PTZ55) ou meropenem (MERO 250+PTZ55 e MERO500+PTZ55).....	68
Figura 10 – Latência de 1ª convulsão após administração de picrotoxina (PICRO10) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+PICRO10 e IMIP500+PICRO10) ou meropenem (MERO250+PICRO10 e MERO500+PICRO10).....	72
Figura 11 – Latência de morte de camundongos adultos após administração de picrotoxina (PICRO10) em animais pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou meropenem (Mero250 ou 500).....	74
Figura 12 – Latência de 1ª convulsão após administração de estricnina 2m/kg (ESTRIC2) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP250+ESTRIC2 e IMIP500+ESTRIC2) ou meropenem (MERO250+ESTRIC2 e MERO500+ESTRIC2).....	78
Figura 13 – Latência de morte após administração de estricnina 2mg/kg (ESTRIC2) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+ESTRIC2 e IMIP500+ESTRIC2) ou meropenem (MERO 250+ESTRIC2 e MERO500+ESTRIC2).....	80

Figura 14 – Potencialização da atividade convulsivante da pilocarpina (P400) em camundongos machos swiss pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500mg/Kg) e meropenem (MERO 250 ou 500mg/Kg).....	84
Figura 15 – Latência de morte após administração de pilocarpina (p400) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+P400 e IMIP500+P400) ou meropenem (MERO 250+P400 e MERO500+P400)....	86
Figura 16 – Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.....	90
Figura 17 – Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.....	93
Figura 18 – Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.....	96
Figura 19 – Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.....	99
Figura 20 – Efeitos sobre as concentrações de GABA (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.....	102
Figura 21 – Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.....	105
Figura 22 – Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.....	108
Figura 23 – Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.....	111
Figura 24 – Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.....	114
Figura 25 – Efeitos sobre as concentrações de GABA (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.....	117

Figura 26 – Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido estriacina.....	120
Figura 27 – Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por estriacina.....	123
Figura 28 – Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por estriacina.....	126
Figura 29 – Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por estriacina.....	129
Figura 30 – Efeitos sobre as concentrações de GABA (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por estriacina.....	132
Figura 31 – Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina.....	135
Figura 32 – Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina.....	138
Figura 33 – Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina.....	141
Figura 34 – Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina.....	144
Figura 35 – Efeitos sobre as concentrações de GABA (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina.....	147
Figura 36 – Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre a atividade da AChE em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....	150
Figura 37 – Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre a atividade da AChE em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....	151

Figura 38 – Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre a atividade da AChE em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400..... 152

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Modelos experimentais para avaliação de drogas.....	41
Quadro 2 - Esquema do teste convulsão induzida por pentilenotetrazol.....	51
Quadro 2.1 Grupos Experimentais.....	52
Quadro 2.2 Droga utilizada e via de administração.....	52
Quadro 3. Esquema do teste convulsão induzida por picrotoxina.....	53
Quadro 3.1 Grupos Experimentais.....	54
Quadro 3.2 Droga utilizada e via de administração.....	54
Quadro 4. Esquema do teste convulsão induzida por estriçnina.....	55
Quadro 4.1 Grupos Experimentais.....	56
Quadro 4.2 Droga utilizada e via de administração.....	56
Quadro 5. Esquema do teste convulsão induzida por pilocarpina.....	57
Quadro 5.1 Grupos Experimentais.....	58
Quadro 5.2 Droga utilizada e via de administração.....	58
Quadro 6. Áreas cerebrais dissecadas.....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos machos pré-tratados com (IMIP250+PTZ55 e IMIP500+PTZ55) e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + PTZ55).....	69
Tabela 2- Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos machos pré-tratados com (MERO250+PTZ55 ou MERO500+PTZ55) e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + PTZ55).....	70
Tabela 3- Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/Kg (PICRO10) em camundongos e ácido valpróico (Ác. Valpróico 200 + PICRO10).....	75
Tabela 4- Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/Kg (PICRO10) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + PICRO10).....	76
Tabela 5- Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por estricnina 2mg/Kg (ESTRIC2) em camundongos e ácido valpróico (Ác. Valpróico 200 + ESTRIC2).....	81
Tabela 6- Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por estricnina 2mg/Kg (ESTRIC2) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + ESTRIC2).....	82
Tabela 7- Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pilocarpina (P400) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + P400).....	87
Tabela 8- Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pilocarpina (P400) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + P400).....	88
Tabela 9- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do aspartato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).....	91
Tabela 10- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do glutamato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).....	94
Tabela 11- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da glicina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).....	97

Tabela 12- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da taurina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).....	100
Tabela 13- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do GABA em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).....	103
Tabela 14- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do aspartato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).....	106
Tabela 15- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do glutamato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).....	109
Tabela 16- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da glicina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).....	112
Tabela 17- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da taurina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).....	115
Tabela 18- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do Gaba em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).....	118
Tabela 19- Efeitos do pré-tratamento com Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do aspartato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriçnina 2 mg/kg (ESTRIC2).....	121
Tabela 20- Efeitos do pré-tratamento com Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do glutamato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriçnina 2 mg/kg (ESTRIC2).....	124
Tabela 21- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da glicina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriçnina 2 mg/kg (ESTRIC2).....	127
Tabela 22- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da taurina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriçnina 2 mg/kg (ESTRIC2).....	130
Tabela 23- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do GABA em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriçnina 2 mg/kg (ESTRIC2).....	133

Tabela 24- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do aspartato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).....	136
Tabela 25- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do glutamato em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).....	139
Tabela 26- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da glicina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).....	142
Tabela 27- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da taurina em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).....	145
Tabela 28- Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do GABA em três áreas cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).....	148

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

±	Mais ou menos
%	Porcentagem
®	Marca registrada
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μL	Microlitro
μg	Micrograma
IV	Via intravenosa
i.p	Via intraperitoneal
i.c.v	Intracerebroventricular
vs	Versus
dL	Decilitro
ANOVA	Análise de variância
E.P.M.	Erro padrão da média
<i>et al.</i>	...E colaboradores
g	Gramas
GAD	Enzima glutamato descarboxilase
ACh	Acetilcolina
mg	Miligrama
mL	Mililitro
p	Nível de significância
MERO	Meropenem
IMIP	Imipenem/cilastatina
ESTRIC	Estricnina 2mg/kg
P400	Pilocarpina 400 mg/kg
PICRO	Picrotoxina 10mg/kg
SNC	Sistema nervoso central
PTZ	Pentilenotetrazol 55mg/kg
HPLC	High performance liquid chromatography
PBPs	Proteínas ligadoras de penicilina
5-HT	5-hidroxitriptamina
GABA	Ácido gama amino butírico
NMDA	N-metil-d-aspartato
WHO	Organização mundial de saúde
ESBL	Betalactamases de espectro amplificado
DHP-1	Diidropeptidase-1
VPA	Ácido valpróico
RAM	Reações adversas a medicamentos
UTI	Unidade de terapia intensiva
LCR	Líquido cefalorraquidiano
CPF	Córtex pré-frontal
CE	Corpo estriado
HC	Hipocampo
CNQX	6-cyano-2,3-dihydroxy-7-nitro-quinoline

DNQX	6,7-Dinitro-1,4-dihydro-quinoxaline-2,3-dione
PCP	fenciclidina
MK-801	MK-801 ou dizolcipina
AP7	2-amino-7-phosphono-heptanoic acid
CPP	4-(3-phosphonopropyl)-2-piperazine carboxylic acid
CPPene	3-(2-carboxypiperazin-4-yl)propenyl-1-phosphonic acid
AMPA	alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	20
1.1. Epilepsia.....	20
1.2. Neurotransmissão e epilepsia.....	21
1.2.1. Neurotransmissão GABAérgica.....	21
1.2.2. Neurotransmissão Colinérgico.....	24
1.2.3. Neurotransmissão Glutamatérgica.....	26
1.2.4. Neurotransmissão Glicinérgica.....	28
1.3. Compostos carbapenêmicos.....	29
1.4. Imipenem/cilastatina.....	30
1.5. Meropenem.....	31
1.6. O uso racional dos antimicrobianos carbapenêmicos.....	34
1.7. Convulsões causadas pelos carbapenêmicos.....	36
1.8. Modelos experimentais de convulsões em animais.....	39
2 RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	42
3 OBJETIVOS.....	45
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1. Animais.....	47
4.1.1. Via de inoculação dos carbapenêmicos em camundongos.....	48
4.2. Drogas utilizadas.....	49
4.3. Equipamentos utilizados nos Experimentos.....	50
4.4. Modelos experimentais de convulsões em animais.....	51
4.4.1. Teste da Convulsão induzida por Pentilenotetrazol.....	51
4.4.2. Teste da Convulsão Induzida por Picrotoxina.....	53
4.4.3. Teste da Convulsão Induzida por Estricnina.....	55
4.4.4. Teste da Convulsão Induzida por Pilocarpina.....	57
4.5. Dissecção das áreas cerebrais.....	59
4.6. Dosagem de aminoácidos com HPLC.....	61
4.6 Determinação da Atividade Acetilcolinesterásica (AChE).....	62
4.7. Análise estatística.....	63
5 RESULTADOS.....	65
5.1. Estudo Comportamental.....	65
5.2. Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre as convulsões induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ55).....	65

5.3. Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre as convulsões induzidas por Picrotoxina.....	71
5.4. Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre as convulsões induzidas por Estricnina.....	77
5.5. Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre as convulsões induzidas por Pilocarpina.....	83
<i>5.5.1. Comportamento de camundongos swiss adultos observados durante 1 hora após administração de Pilocarpina.....</i>	<i>83</i>
6. ASPECTOS NEUROQUÍMICOS – AMINOÁCIDOS. (HPLC).....	89
6.1. Efeitos do pré-tratamento com Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da Pentilenotetrazol 55mg/kg (PTZ55).....	89
6.2. Efeitos do pré-tratamento com Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da Picrotoxina 10mg/kg (PICRO10).....	104
6.3. Efeitos do pré-tratamento com Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da Estricnina 2mg/Kg (ESTRIC2).....	119
6.4. Efeitos do pré-tratamento com Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da Pilocarpina 400mg/kg (P400).....	134
6.5 Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre a atividade da AChE em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....	150
6.6 Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre a atividade da AChE em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....	151
6.7 Efeitos do Imipenem/cilastatina ou Meropenem sobre a atividade da AChE em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.....	152
7 DISCUSSÃO.....	150
7.1. Estudo Comportamental e determinação da Atividade Acetilcolinesterásica (AChE).....	150
7.2. Estudo da Determinação dos Níveis de Aminoácidos.....	152
8 CONCLUSÕES.....	157
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	159
REFERÊNCIAS.....	161

“Toda pesquisa é um permanente início-reinício em ciclos convergentes que representam a expressão pessoal cada vez mais livre, produtiva e construtiva em prol do benefício de todos.”

Cerato SMM.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epilepsia

Epilepsia é o mais freqüente distúrbio neurológico, atingindo 50 milhões de pessoas no mundo, 40 milhões delas em países desenvolvidos. Pessoas de todas as raças, sexos, condições socioeconômicas e regiões são acometidas (SCOTT, 2001). Elas podem sofrer conseqüências profundas, inclusive morte súbita, ferimentos, problemas psicológicos e transtornos mentais. (MARCHETTI, DAMASCENO, 2000). Também à epilepsia se associam problemas sociais e econômicos. Pode ser considerado um problema significativo de saúde pública (GOMES, 1997). Em recente estudo epidemiológico, foi encontrado 29% de prevalência de depressão em pacientes com epilepsia (BLUM, 2002).

Crises convulsivas, por definição, são descargas sincrônicas, de grande intensidade, paroxísticas e excessivas de um grupo de neurônios. Estas podem ser classificadas clinicamente em duas categorias: parciais e generalizadas. A efetividade do tratamento anticonvulsivante depende do tipo de convulsão. 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).

A fisiopatologia da convulsão ainda não está completamente definida. Os modelos de convulsão em animais reproduzem alterações comportamentais e eletroencefalográficas que são semelhantes à crise convulsiva em humanos (BEN-ARI *et al.*, 1980, 1981). Esses modelos são utilizados para estudar o envolvimento dos sistemas de neurotransmissores como moduladores da epileptogênese, como também permitem observar alterações comportamentais, histopatológicas, e outros dados neuroquímicos relacionados ao processo convulsivo (CAVALHEIRO *et al.*, 1994; MARINHO *et al.*, 1997, 1998, COSTA-LOTUFO *et al.*, 2002).

1.2 Neurotransmissão e epilepsia

1.2.1 Neurotransmissão Gabaérgica

O ácido γ -aminobutírico (GABA) é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central de vertebrados. 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. Uma vez liberado na fenda sináptica, o GABA liga-se a seu receptor, causando hiperpolarização, devido influxo de Cl^- ou efluxo de K^{++} , no neurônio pós-sináptico (ROBERTS, 1976).

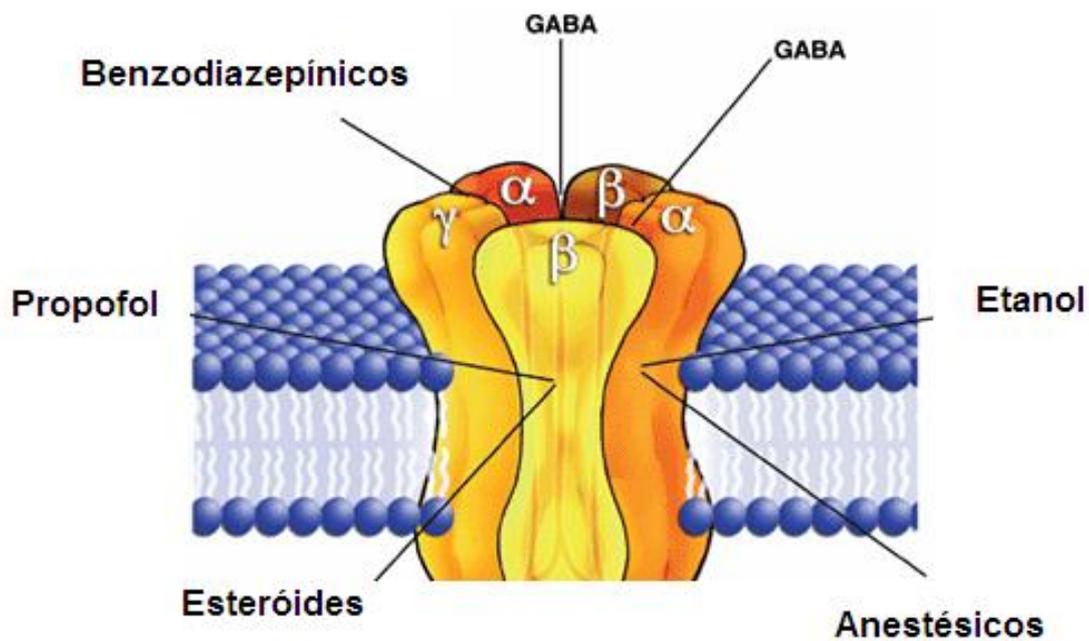
O GABA atua em dois tipos distintos de receptores: GABA_A e GABA_B . O receptor GABA_A consiste em um canal regulado por ligante, sensível ao cloreto e é antagonizado pela picrotoxina e bicuculina, ambas causando convulsões generalizadas (BORMANN, 1988; SILVILOTTI; NISTRÌ, 1991). Os receptores GABA_B são acoplados à proteína G e regulam canais de K^+ que quando ativados reduzem a condutância ao cálcio ou ativam os canais de potássio (BORMANN, 1988; BOWERY, 1993).

Os receptores GABA_A são os de maior importância por possuírem um papel central na regulação da excitabilidade cerebral, através de seus efeitos inibitórios, e, muitas drogas importantes, tais como benzodiazepínicos, apresentam vários efeitos relacionados com este receptor, tais como a sedação e a indução do sono, a redução da ansiedade e da agressão, a redução do tônus muscular e da coordenação, efeito anticonvulsivante, além de amnésia anterógrada. Estes efeitos dos benzodiazepínicos ocorrem através da potencialização da resposta ao GABA por facilitarem a abertura dos canais de cloreto ativados pelo GABA. Eles se ligam de um modo específico em um sítio regulador do receptor, distinto do sítio ligante do GABA, e agem de modo alostérico, aumentando a afinidade do GABA pelo receptor. (BOWERY, 1993)

O receptor GABA_A é um canal iônico acionado por ligante, consistindo de um aglomerado pentamérico, construído pela associação de 18 ou mais subunidades diferentes. A subunidade α do complexo pentamérico ocorre em seis isoformas ($\alpha 1$ - $\alpha 6$). Diferentes efeitos benzodiazepínicos podem, assim, estar ligados a diferentes subtipos de receptores de GABA_A, sugerindo a possibilidade de desenvolvimento de novas substâncias com efeitos mais seletivos do que os benzodiazepínicos existentes (ROBERTS, 1976).

Alguns estudos sugerem o envolvimento do sistema GABAérgico na manutenção e/ou propagação da epilepsia humana (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2002;). O sistema GABAérgico tem como neurotransmissor o GABA, este está presente em todo o tecido cerebral, porém não em outros tecidos de mamíferos, exceto em quantidades mínimas. No cérebro é um importante neurotransmissor inibitório em quantidade abundante (aproximadamente 10 $\mu\text{mol/g}$ de tecido); no sistema nigroestriatal, porém, ocorre em concentrações menores (2 a 5 $\mu\text{mol/g}$) em toda a substância cinzenta (LUDDENS & WISDEN, 1991).

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).

FIGURA 1. Receptor GABA_A

Fonte: Adaptado de: www.niaaa.nih.gov/.../0/gaba_receptor.gif

1.2.2 Neurotransmissão colinérgica

A acetilcolina (ACh) é um mediador químico de sinapses no sistema nervoso central (SNC), 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).

A administração periférica de altas doses do agonista muscarínico colinérgico pilocarpina produz convulsões em roedores (MARINHO *et al.*, 1997). O início dessas convulsões pode ser bloqueado pela atropina e atenuado pela inibição da atividade colinérgica endógena (JOPE *et al.*, 1986; 1992; MORRISETT *et al.*, 1987a; MARINHO *et al.*, 1997). Assim, o processo convulsivo, decorrente do tratamento de ratos com pilocarpina em doses convulsivas, parece depender da ativação dos receptores muscarínicos, podendo envolver o metabolismo dos fosfoinositídeos e sendo capaz de produzir lesões cerebrais e alterações comportamentais (MARINHO *et al.*, 1997; 1998).

O sistema colinérgico tem como neurotransmissor a acetilcolina (ACh). A ACh é um importante neurotransmissor excitatório no cérebro (NATHANSON *et al.*, 1999; OLNEY *et al.*, 1983 e 1986). A estimulação cerebral induzida pela ACh ocorre através da ativação dos receptores colinérgicos cerebrais, onde cerca de 99% destes 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).

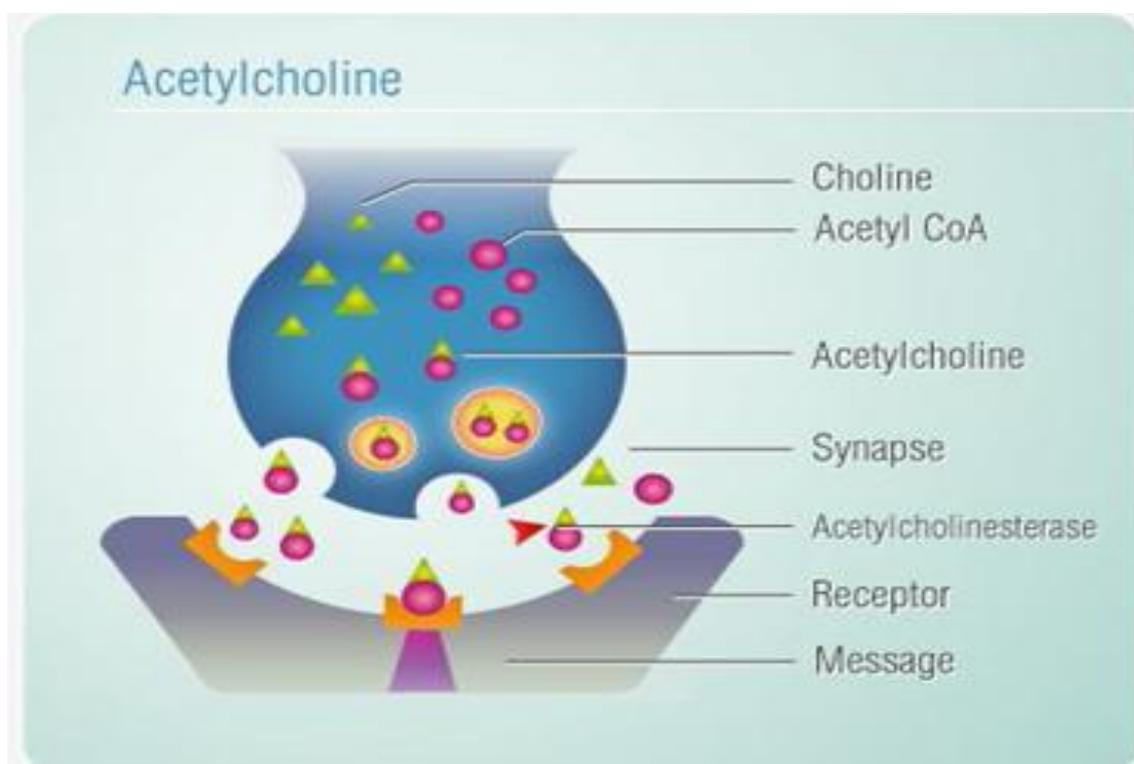
A clonagem gênica revelou a existência de cinco tipos de receptores muscarínicos (M1, M2, M3, M4, e M5) (BONNER *et al.*, 1987; LIAO *et al.*, 1989; NATHANSON *et al.*, 1999), sendo todos eles receptores acoplados à proteína G, onde os membros com numeração (M1, M3, e M5), atuam através da via do fosfato de inositol, enquanto os de numeração par (M2 e M4) operam inibindo a adenilato ciclase, portanto, reduzindo o AMPc intracelular (PERALTA *et al.*, 1987 e 1988; HULME *et al.*, 1990; WESS *et al.*, 1990).

Diversos estudos anatomopatológicos 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 amígdaloide, córtex entorrinal e neocórtex (TURSKI *et al.*, 1983a). Tais alterações correspondem a anormalidades dendríticas e axonais, acompanhadas da perda de neurônios e de reação

gliótica (CLIFFORD et al., 1987). A perda neuronal é principalmente evidente na região hipocampal CA1 e CA3 e no hilo do giro denteado, embora também ocorra em outras regiões encefálicas (TURSKI *et al.*, 1983).

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 *et al.*, 2002).

FIGURA 2. Receptor Muscarínico



Fonte: <http://www.fag.edu.br/professores/yjamal/Farmacologia%20II/SNC.pdf>

1.2.3 Neurotransmissão glutamatérgica

O aminoácido glutamato, que, juntamente com o aspartato, é um dos mais abundantes neurotransmissores excitatórios no SNC de mamíferos (ATTWELL, 2000; MELDRUM, 2000; TAPIERO *et al.*, 2002; TZSCHENTKE, 2002). Muitos estudos realizados ao longo dos últimos anos têm comprovado o papel da transmissão glutamatérgica no desenvolvimento neural, na plasticidade sináptica fisiológica (fundamental nos processos de aprendizado e memória), bem como na neuroplasticidade patológica (envolvendo reorganização sináptica e morte celular) observados em processos como: isquemia, hipoglicemia, epilepsia, doenças neurodegenerativas, dependência e tolerância a drogas, dor neuropática, ansiedade e depressão (MELDRUM, 2000; OTTERSEN & MATHISEN, 2000).

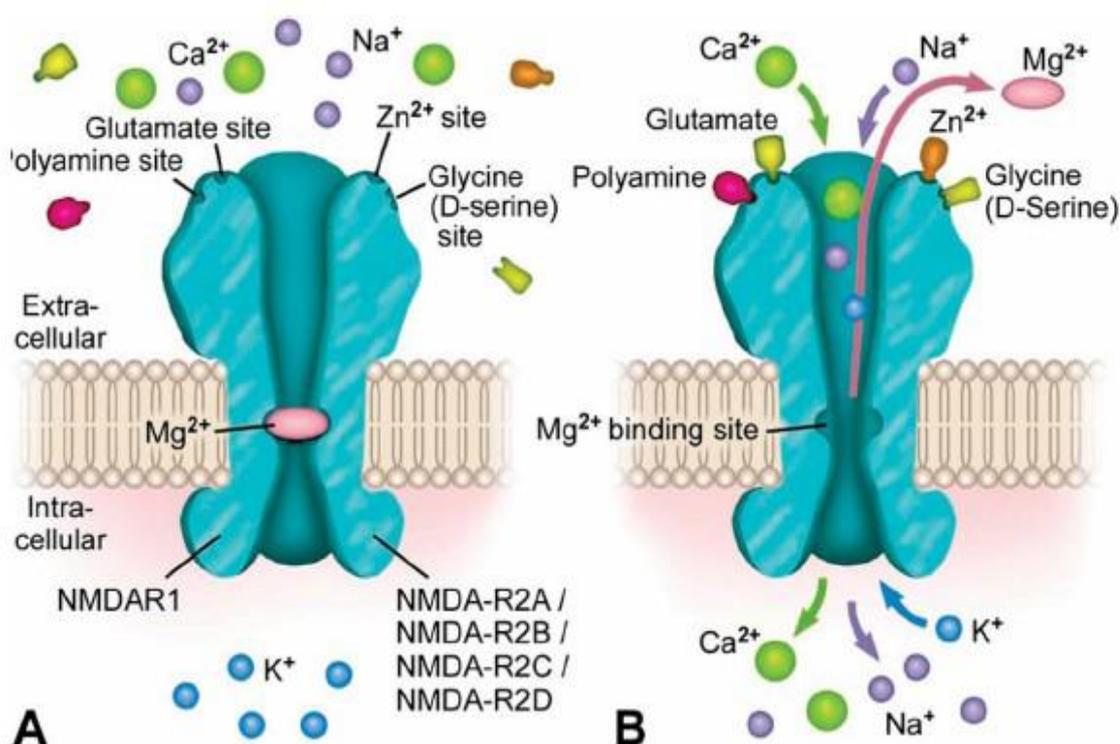
O glutamato é o neurotransmissor da via trissináptica que compreende desde o córtex entorrinal passando pelo giro dentado e CA3 para CA1 e o subículo. Há três famílias de receptores ionotrópicos para glutamato: receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), o qual intermedia lenta excitação voltagem-dependente e é de maior importância para a potenciação a longo prazo ; receptor D-L- α -amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxalona-propionato (AMPA), para excitação rápida; e o receptor cainato, cuja função ainda não é clara em detalhes (ZILLES *et al.*, 2000). Além disso, foi posteriormente estabelecido que o glutamato, também, se ligava a receptores metabotrópicos – um tipo de receptor acoplado a um sistema envolvendo a participação de proteínas G, que funciona através da liberação de segundos mensageiros, os quais ativam canais iônicos presentes na membrana (DANBOLT, 2001).

Os receptores NMDA, AMPA e cainato são canais iônicos que abrem após serem ativados aumentando o influxo de Na⁺ ou de Na⁺ e Ca⁺⁺ (DANBOLT, 2001). Além disso, em situações patológicas em que o glutamato se acumula no espaço extracelular os receptores NMDA são implicados na neurotoxicidade glutamatérgica, conhecida como excitotoxicidade (MELDRUM, 2000). Alguns estudos indicam o envolvimento do sistema glutamatérgico no desenvolvimento e/ou na manutenção de crises convulsivas, as quais estão presentes no fenômeno epiléptico (MILLAN *et al.*, 1993; LING *et al.*, 2001).

As concentrações de glutamato, tanto no meio extracelular como na fenda sináptica, são estritamente controladas por mecanismos envolvendo enzimas e transportadores de glutamato em neurônios e células gliais (DANBOLT, 2001). Em algumas condições

patológicas, tais como estado de mal epiléptico, isquemia, e lesão traumática do cérebro e medula espinhal, esses mecanismos são ineficazes em manter as concentrações fisiológicas de glutamato no tecido neural e o nível deste neurotransmissor pode elevar-se várias vezes àqueles de condições de homeostase tecidual, levando à morte celular por excitotoxicidade (CHOI, 1988; CHOI, 1994; FERRAGUTI, 2006).

Figura 3. Ilustração do receptor de glutamato do tipo NMDA.



Fonte: Modificado de Halbach & Dermietzel, 2006.

1.2.4 Neurotransmissão glicinérgica

A glicina é um aminoácido não essencial com uma estrutura bastante simples (NELSON; COX, 2000) e que desempenha dois papéis fundamentais no sistema nervoso central: um deles é como neurotransmissor químico, particularmente importante nas sinapses inibitórias da espinal medula e tronco cerebral (SIEGEL *et al.*, 1989) e o outro é como co-agonista da transmissão excitatória no cérebro através da ativação dos receptores NMDA (N-metil-D-aspartato), pertencentes à família dos receptores de glutamato, que apresentam uma resposta extremamente potenciada pela glicina (JOHNSON; ASCHER, 1987).

A glicina pode participar em diversos processos metabólicos e é sintetizada a partir da glucose, apesar do seu precursor imediato ser a serina. Vários estudos usando precursores radioativos sugerem que a grande maioria da glicina encontrada no cérebro é originada pela síntese *de novo* a partir da serina e não pelo transporte através do sangue (SIEGEL *et al.*, 1989).

Para a glicina são conhecidos, até ao momento, dois tipos de transportadores, o GlyT1 (glycine transporter 1), localizado na membrana dos astrócitos, (GUASTELLA *et al.*, 1992) e o GlyT2 (glycine transporter 2) que existe na membrana dos terminais pré-sinápticos (LIU *et al.*, 1993). Ambos promovem a entrada da glicina nas células acompanhada do co-transporte de íons sódio (Na⁺) e Cl⁻ (ROUX; SUPPLISSON, 2000).

1.3 Compostos carbapenêmicos

Os carbapenêmicos são uma classe de antimicrobianos estruturalmente relacionados com a penicilina. Os principais agentes desta classe são imipenem, meropenem, ertapenem e doripenem, além de outros como o farapenem que ainda não está sendo comercializado no Brasil. Possuem um largo espectro de ação e constituem um arsenal terapêutico importante contra as infecções causadas por bactérias Gram-negativas como as Enterobacteriaceae, e os bacilos Gram-negativos não fermentadores como o *Acinetobacter* spp e a *Pseudomonas aeruginosa*. (GREER, 2008).

Os carbapenêmicos agem inibindo a síntese da parede celular através de sua ligação às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs). Assim como os monobactâmicos foram desenvolvidos para vencer os microrganismos gram-negativos produtores de beta-lactamase resistentes às penicilinas de amplo espectro e de espectro ampliado (BARTON, 2007).

Estudos clínicos demonstram a eficácia dos carbapenêmicos no tratamento de várias infecções incluindo infecções intra-abdominais complicadas, infecções de pele, pneumonia adquirida na comunidade, pneumonia nosocomial, infecções do trato urinário complicadas, meningites (somente meropenem) e febre neutropênica.

Considerando seu espectro de atividade e estabilidade à hidrólise pela maioria das β – lactamases incluindo as betalactamases de espectro ampliado (ESBL), os carbapenêmicos se destacam com grande importância no uso hospitalar como antimicrobianos de reserva no tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas resistentes a outros agentes β -lactâmicos. Desse modo, devem ser reservados para casos de infecções por germes resistentes a alternativas, já que sua utilização não criteriosa tem levado ao surgimento de bactérias resistentes, superinfecções por fungos oportunistas e maior mortalidade de pacientes críticos por sepse grave e choque séptico, além de serem poderosos na produção de β – lactamases (BUSH, 1995; ARAKAWA, 2000).

Os efeitos adversos assemelham-se aos observados nos outros β -lactâmicos, sendo a náusea e os vômitos os mais frequentemente registrados. Pesquisas indicam um raro, mas sério efeito adverso - a crise convulsiva. Alguns estudos associam este efeito ao uso excessivo em pacientes com insuficiência renal.

1.4 Imipenem/cilastatina

O Tienan® é um antibiótico β -lactâmico administrado intravenoso desenvolvido em 1980. Tem um espectro muito amplo de atividade. O imipenem pertence ao subgrupo de carbapenêmicos. É derivado de um composto chamado tienamicínico, que é produzida pela bactéria *Streptomyces cattleya* (ERIC, 2008).

1.4.1 Descrição

O composto original, a tienamicina, é produzido pelo microrganismo do solo *Streptomyces cattleya*. O imipenem pertence aos carbapenêmicos (subclasse dos betalactâmicos); sua ação bactericida é produzida por sua união às proteínas que ligam penicilina 1A, 1B, 2, 4, 5 e 6 nas membranas citoplasmáticas de *Escherichia coli* e a PBP 1A, 1B, 2, 4 e 5 de *Pseudomonas aeruginosa*, o que origina a inibição da síntese da parede da célula bacteriana.

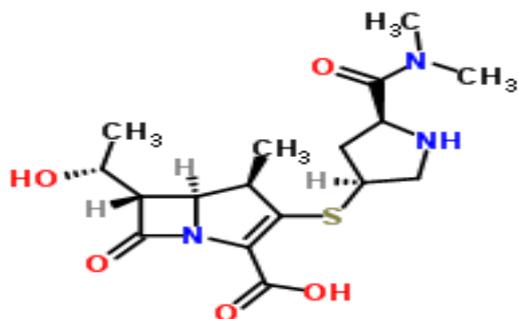
1.4.2 Farmacocinética

O imipenem tem uma farmacocinética linear, é lipofílico, e penetra rapidamente em vários compartimentos corporais, incluindo as vias respiratórias, intra-abdominal, e tecidos moles. Como outros antibióticos β -lactâmicos, o imipenem tem um maior grau de penetração nas meninges quando elas estão mais permeáveis como no caso de uma inflamação (GREER, 2008).

O imipenem, um dos mais antigos carbapenêmicos, é frequentemente suscetível à degradação pela enzima diidropetidase-1 (DHP-1) localizada no túbulo proximal, e assim imipenem requer administração juntamente com um inibidor da DHP-1 como a cilastatina. Adições posteriores à classe como o meropenem, ertapenem e doripenem têm apresentado aumento na estabilidade à DHP-1 e assim são administradas sem um inibidor da DHP-1 (HIKIDA, 1992). O imipenem parece ter uma afinidade maior pelos PBP 1A, 1B e 2. Não é absorvido no trato gastrointestinal e só deve ser administrado por via parenteral. Sua união às proteínas é baixa. Metaboliza-se no rim e por hidrólise do anel betalactâmico na célula tubular ou no filtrado glomerular. Sua meia-vida aproximada é de 1 hora e a concentração plasmática

máxima é de 14 a 24mg/ml, 21 a 58mg/ml e de 41 a 83mg/ml após uma dose IV de 250mg, 500mg e 1g respectivamente, durante 20 minutos.

Figura.4 Estrutura química do Imipenem



Fonte: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.389924.html>

1.5 Meropenem

O MERO (MERONEM®) é um antibiótico indicado em adultos e crianças para o tratamento das seguintes infecções causadas por únicas ou múltiplas bactérias sensíveis e como tratamento empírico anterior à identificação do microrganismo causador: Infecções do trato respiratório inferior, Infecções do trato urinário, incluindo infecções complicadas, Infecções intra-abdominais, Infecções ginecológicas, incluindo infecções puerperais, Infecções de pele e anexos, Meningite, Septicemia, Tratamento empírico, incluindo monoterapia inicial para infecções presumidamente bacterianas, em pacientes neutropênicos, Infecções polimicrobianas: devido ao seu amplo espectro de atividade bactericida contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, aeróbias e anaeróbias, meropenem é útil para o tratamento de infecções polimicrobianas. (HOFFMAN, 2009).

1.5.1 Descrição

O Meropenem pertence aos carbapenêmicos, grupo de antibacterianos com um amplo espectro de atividade contra bactérias gram-negativas, gram-positivas e anaeróbicas. O Meropenem tem eficácia clínica e bacteriológica no tratamento de infecções graves em adultos e crianças.

1.5.2 Farmacocinética

Uma infusão em voluntários sadios resulta em picos de níveis plasmáticos de aproximadamente 11 mcg/ml para doses de 250 mg; 23 mcg/ml para doses de 500 mg; 49 mcg/ml para doses de 1,0 g e 115 mcg/ml após dose de 2,0 g. Após administração IV de 500 mg, os níveis plasmáticos de meropenem declinam até valores de 1 mcg/ml ou menos, 6 horas após a administração. Em indivíduos com função renal normal, a meia-vida de eliminação de meropenem é de aproximadamente 1 hora. A ligação de meropenem às proteínas plasmáticas é de aproximadamente 2%. Aproximadamente 70% da dose IV administrada é recuperada como meropenem inalterado na urina após 12 horas. Depois desse período uma pequena excreção urinária é detectável. Meropenem possui um metabólito microbiologicamente inativo. Meropenem tem boa penetração na maioria dos tecidos e fluidos corporais, incluindo o líquido cérebro-espinhal de pacientes com meningite bacteriana, alcançando concentrações acima das requeridas para inibir a maioria das bactérias. A biodisponibilidade de meropenem, determinada pela área sob a curva (ASC), após injeção IM é de 93,8% (HORIUCHI, 2006; PACKAGE, 2007).

1.5.3 Farmacodinâmica

O Meropenem é um antibiótico carbapenêmico para uso parenteral que penetra rapidamente e amplamente em uma variedade de fluidos e tecidos corporais, também penetra na barreira hemato-encefálica, embora, como com outros agentes β -lactâmicos, a permeabilidade é maior em pacientes com meningite e inflamação. É excretado principalmente pelos rins com cerca de metade a três quartos da dose excretados na urina e mais um quarto excretado metabólito microbiologicamente inativo. Ao contrário do Imipenem, o Meropenem é estável contra hidrólise pela desidropeptidase renal humana

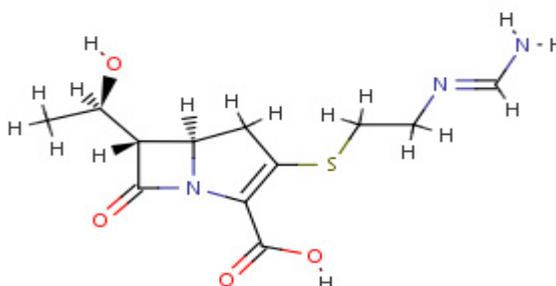
(DHP-1) e administração concomitante de cilastatina (inibidor DHP-1) não é necessária (JONES,2004).

1.5.4 Espectro de atividade

O Meropenem exerce sua ação bactericida interferindo com a síntese da parede celular bacteriana vital para a bactéria. A facilidade com que penetra a parede celular das bactérias, seu alto nível de estabilidade para todas as serina β -lactamases e sua atividade marcada para as proteínas de ligação à penicilina (PBPs) explicam sua potente ação bactericida contra um amplo espectro de bactérias aeróbicas e anaeróbicas.

O Meropenem em alguns pacientes pode reduzir os níveis de ácido valpróico à níveis sub-terapêuticos.(LUNDE, 2007).

Figura.5 Estrutura química do Meropenem



Fonte: <http://www.drugs.com/ingredient/imipenem.html>

1.6 O uso racional dos antimicrobianos carbapenêmicos

Os medicamentos são considerados, de acordo com Vieira (2006), a principal ferramenta terapêutica para a recuperação ou manutenção das condições de saúde da população. Não obstante, a Política Nacional de Medicamentos aprovada através da Portaria nº 3.916/98 traz como propósito para esse elemento “garantir a necessária segurança, eficácia e qualidade destes produtos, a promoção do uso racional e o acesso da população àqueles considerados essenciais”.

Daí vem à percepção para o que ele se propõe diante do contexto saúde-doença e sua relação risco-benefício. O termo relação risco-benefício é frequentemente usado como um termo geral ligado à utilização do medicamento. De acordo com Herxheimer (2000), risco é uma palavra que se refere à probabilidade de um evento adverso ocorrer. Usualmente os riscos de um medicamento são de origem e frequências diversas, comparados aos seus benefícios. Para muitos medicamentos esses benefícios são limitados a poucas indicações e pacientes de forma individual, geralmente resumindo-se a um simples benefício do seu uso em associação com riscos potenciais múltiplos. (EDWARDS *et al.*, 1996).

Os benefícios de um fármaco são normalmente quantificados por ensaios clínicos controlados e as informações adicionais sobre seus riscos, após essas condições ideais, são insuficientes. A aceitabilidade dessa relação quando extrapolada para a população em geral dependerá das decisões tomadas pelas autoridades regulatórias para liberação de sua comercialização (EDWARDS *et al.*, 1996). Quanto à segurança dos medicamentos, como mencionado por Coelho (1998), o problema é bem mais complicado, pois, em termos reais, a utilização de qualquer medicamento, mesmo daqueles considerados mais seguros, sempre implicará em algum risco. Um risco aceitável torna o medicamento relativamente seguro, daí passando a ser considerado o seu grau de segurança.

Dentre os problemas mais comuns relatados com o uso de medicamentos estão as reações adversas (PATEL; ZED, 2002). As Reações Adversas a Medicamentos (RAM) tem sido um risco cada vez mais preponderante quando se fala em vigilância terapêutica. Sequencialmente ao risco, a Reação Adversa a Medicamentos (RAM) é “uma resposta nociva e não intencional ao uso de um medicamento, que ocorre em doses normalmente utilizadas em seres humanos para profilaxia, diagnóstico, tratamento de doenças ou modificação de função fisiológica” (WHO, 2000).

Para minimizar os riscos de reações adversas a medicamentos e os custos com a utilização de medicamentos, estes devem ser usados de maneira racional.

Cada ano, muitos pacientes são internados com risco de vida devido reações adversas a medicamentos. Além disso, durante a segunda metade do século XX 6% a 7% dos pacientes hospitalizados apresentaram uma reação adversa grave. Aproximadamente 5% das internações por reações adversas foram fatais correspondendo aproximadamente 100.000 mortes nos Estados Unidos anualmente (LAZAROU, 1998).

Os idosos e pacientes infectados pelo HIV tem alto risco de reações. Muitas dessas reações resultam em admissão em unidade de terapia intensiva (UTI). Mais de 70% dos pacientes na UTI recebem antibióticos para o tratamento ou profilaxia, muitas vezes sendo este uso empírico e mais da metade destes pacientes são polimedicados. (FAULKNER, 2005; PIRMOHAMED, PARK,2001) Portanto, atribuir uma determinada reação adversa a um antibiótico específico pode ser extremamente difícil, por envolver vários fatores que operam em uníssono, e podem não ser percebidos pelos médicos.

Antibióticos carbapenêmicos têm o potencial de causar convulsões. Imipenem / cilastatina, é um antibiótico carbapenêmico, que tem alguma penetração no líquido cefalorraquidiano (LCR) e é frequentemente associado com um aumento do risco de atividade convulsiva em comparação com outros carbapenêmicos. Portanto, este pode, potencialmente, limitar o uso de um antibiótico eficaz em pacientes com cuidados neurocríticos para determinar o verdadeiro risco convulsivo induzido por drogas nesses pacientes em tratamento de infecções sistêmicas ou meningite.(HOFFMAN *et al.*,2009).

Os antibióticos Carbapenêmicos têm sido usados para tratar infecções desde meados da década de 1980. Sua importância tem aumentado com o tempo, especialmente com o aumento da resistência à terceira geração de cefalosporinas. Desde então os carbapenêmicos permanecem ativos contra a maioria dos organismos gram-positivos e Gram-negativos, eles são frequentemente usados em pacientes criticamente doentes para tratamento empírico até que informações mais específicas sobre a sensibilidade dos microorganismos estejam disponíveis (MACKENZIE; CHAPMAN, 1994).

Pacientes com cuidados neurocríticos têm um risco aumentado de desenvolver a atividade convulsiva devido à seus distúrbios subjacentes; portanto, a necessidade de identificação e prevenção de medicamentos que podem aumentar o risco de convulsões são essenciais. Portanto, usando um abordagem baseada em evidências para seleção de um agente antimicrobiano de amplo espectro e eficaz, tal como um carbapenêmico, para o tratamento de

infecções graves pode ajudar a otimizar o atendimento do paciente e evitar indesejáveis efeitos adversos das drogas (HOFFMAN *et al.*,2009).

As dificuldades para interrupção e adequação da antibioticoterapia (em particular a antibioticoterapia empírica) em pacientes com infecções de alta gravidade têm-se associado ao aumento do tempo de uso de carbapenêmicos em pacientes internados em UTI e ao agravamento da multirresistência microbiana nos hospitais. A observação de aspectos relacionados à epidemiologia das infecções hospitalares e das infecções adquiridas na comunidade, a diversidade da farmacocinética e o espectro de ação dos carbapenêmicos torna-se fator chave, tendo por objetivo o uso racional destes antimicrobianos (ZHANEL,2005).

1.7 Convulsões causadas pelos carbapenêmicos

Os antibióticos podem , ocasionalmente, causar alterações agudas no sistema nervoso periférico e central, dentre as disfunções do sistema nervoso central, incluem convulsões e atividade mental anormal. Alucinações, espasmos e convulsões podem ser causadas por antibióticos como a penicilina, imipenem-cilastatina, ciprofloxacina, e, raramente, outros β -lactâmicos (ENG, 1989).

Os carbapenêmicos estão associados com incidência de vários efeitos adversos graves como anafilaxia, nefrotoxicidade, leucopenia, trombocitopenia, toxicidade dermatológica e diarreia, esses efeitos são mais frequentes quando comparados à neurotoxicidade. (GRANOWITZ, BROWN, 2008).

Essas convulsões podem ser o resultado da interferência dos beta-lactâmicos com a função do neurotransmissor inibitório ácido γ -aminobutírico (CHOW, 2005).

A penicilina G um antibiótico da classe dos β -lactâmicos pode causar toxicidade do sistema nervoso central, quando administrado intravenosa em adultos em suspensões com mais de 20 a 50 milhões de unidades por dia (SNAVELY, 2008). Pacientes com função renal anormal, hiponatremia, ou lesões cerebrais pré-existentes podem apresentar sinais de neurotoxicidade em doses mais baixas.

A dose máxima recomendada de imipenem-cilastatina em adultos com função renal normal é de 4 g por dia. As crises ocorrem mais regularmente com este agente do que com outros β -lactâmicos. A incidência encontrada em humanos das crises são de 0,9% para 2,0%. Já os estudos realizados pós-comercialização apresentam um percentual de 0,1% para 0,15% (FILE, 1987)

Estudos em animais confirmam que a neurotoxicidade com imipenem-cilastatina pode ser notado em níveis substancialmente mais baixos no sangue do que com outros β -lactâmicos (ENG, 1989) Alguns autores não recomendam o uso do imipenem/cilastatina em doses superiores a 2 g por dia, exceto no tratamento de infecções por *Pseudomonas aeruginosa*. (GRANOWITZ, BROWN, 2008)

Os carbapenêmicos são uma classe de antimicrobianos em que uma das reações adversas, as convulsões, são associadas ao tratamento e, portanto, vêm gerando interesse científico. Tem-se observado que o uso excessivo em pacientes com insuficiência renal pode provocar convulsões.

Alguns estudos já apontam que o meropenem tem menos tendência a causar convulsões do que o imipenem. Logo, para uso em pacientes susceptíveis a desordens no SNC tem-se prevalecido o uso do meropenem.

Entretanto, as bulas de ambos o imipenem / cilastatina e meropenem apresentam similar incidência de crises convulsivas com base em estudos utilizados para aprovação dessas drogas. Dos 1723 pacientes avaliados que receberam imipenem / cilastatina houve uma incidência de 0,4%. Já durante ensaios clínicos iniciais com meropenem de 2.904 pacientes tratados, houve uma incidência de convulsão de 0,7% independentemente da relação de drogas (PACKAGE, 2007a; PACKAGE, 2007b).

Uma revisão da literatura de um estudo pediátrico é freqüentemente citado como demonstrando o potencial neurotóxico de imipenem / cilastatina no tratamento de meningite.

Este estudo mostrou, que doses de 25 mg / kg a cada 6 h, 7 das 21 (33,3%) crianças tratadas com imipenem / cilastatina desenvolveu convulsões. Nenhuma das sete crianças que apresentaram quadro convulsivo no estudo tinham doenças pré-existentes do sistema nervoso central, insuficiência renal, ou trauma craniano. As doses utilizadas foram o limite superior das doses recomendadas para crianças. O resultados deste estudo teve impacto no uso do imipenem / cilastatina no tratamento de meningite (WONG, ROSS, 2007)

Outro estudo realizado com 204 pacientes em fase III de investigação em que os pacientes com distúrbios pré-existentes do SNC foram excluídos mostrou que ambos os carbapenêmicos foram bem tolerados, entretanto os eventos adversos relacionados com a droga foram relatados em 10 (9%) dos pacientes tratados com meropenem e em 12 (12%) dos pacientes tratados com imipenem/cilastatina(COLARDYN,FAULKNER,1996)

Em uma revisão de banco de dados de 46 ensaios olhando para quase 5.000 pacientes tratados com meropenem, a incidência global de convulsões foi de 0,46% (n = 22) e crises convulsivas consideradas relacionadas com meropenem foi de 0,08% (n = 4) . Esta revisão também incluiu mais de 1.800 pacientes tratados com imipenem / cilastatina que em comparação apresentou uma crise global de incidência de 0,55% (n = 10) e associada à droga incidência de 0,28% (n = 5). Notou-se que todos os quatro pacientes tratados com meropenem que convulsionaram eram idosos e dois tiveram um clearance de creatinina baixa, embora nenhum destes pacientes tinham doenças convulsivas pré-existentes. (NORRBY, GILDON, 1999)

Em um grande estudo, incluindo > 6000 pacientes tratados com meropenem e outros antibióticos, as taxas de convulsão foram de 0,4% em cada grupo e 0,02% foi considerado relacionado ao meropenem. Seis dos 15 casos de crises convulsivas com uso do meropenem eram crianças com meningite bacteriana. Três dessas crianças também tiveram transtornos concomitantes do sistema nervoso central. Três pacientes com crises convulsivas com o uso do meropenem tiveram doenças do SNC sem meningite (HIKIDA, 1992). Por outro lado, quando o meropenem foi comparado com ceftazidima / tobramicina para o tratamento de infecções do trato respiratório, embora os pacientes de alto risco foram excluídos, a taxa de convulsão com o meropenem foi 2,9%(PESTOTNIK, 1993)

Além disso, para assegurar a dosagem adequada de imipenem/cilastatina, não deve ser usado concomitantemente com vários medicamentos, que incluem o ácido valpróico, ciclosporina, e ganciclovir, pois o uso de imipenem / cilastatina com ácido valpróico pode causar uma redução clinicamente significativa nas concentrações de ácido valpróico, o que pode resultar em diminuição no controle das crises. O uso combinado de ciclosporina e imipenem / cilastatina pode aumentar os efeitos adversos neurotóxicos, bem como o uso concomitante de ganciclovir e imipenem/cilastatina também não é recomendado devido ao risco aumentado de atividade convulsiva. (HOFFMAN et al, 2009).

Portanto, o objetivo do presente estudo é investigar um sério efeito adverso dessa classe de antimicrobianos, as convulsões. Para tal, o estudo terá como base a comparação entre os efeitos de carbapenêmicos sobre as convulsões induzidas em vários modelos animais de convulsão e a investigação das áreas cerebrais envolvidas.

1.8 Modelos experimentais de convulsões em animais, sistemas e mecanismos envolvidos

Sabe-se que atividade convulsiva está associada a mudanças bioquímicas em algumas áreas cerebrais e afeta diversos neurotransmissores: dopamina, glutamato, serotonina, ácido γ -aminobutírico (GABA) (CAVALHEIRO et al., 1994); o metabolismo dos carboidratos; os sistemas de segundos mensageiros e a expressão gênica, processos envolvidos na fisiopatologia das alterações neuronais (SIMONIC et al., 2000).

Para a investigação de aspectos relacionados às convulsões, existem vários modelos experimentais em animais, que afetam sistemas como: Sistema Gabaérgico, Sistema Glutamatérgico, Sistema Colinérgico e as vias da Glicina envolvidos na ocorrência de convulsões

Desde a década de 1960, os modelos experimentais servem como *screening* farmacológico de drogas antiepilépticas (WHITE, 1997), contribuindo, paralelamente, com informações a respeito dos mecanismos envolvidos na gênese e manutenção das crises. De um modo geral, dois fatores são cruciais em estudos desta natureza: a escolha do modelo experimental e as drogas a serem estudadas.

Nas décadas de 80 e 90, dois modelos foram extensamente utilizados: o modelo da pilocarpina e o modelo do ácido caínico, e ambos replicam características fenomenológicas das epilepsias humanas do lobo temporal (TURSKI et al., 1983a; 1989). A administração local ou sistêmica desses compostos resulta em um padrão de crise límbica duradoura bastante característica (*status epilepticus*), que após um período conhecido como silencioso (de 3 a 14

dias), leva o animal a apresentar crises espontâneas e recorrentes (TURSKI Et al., 1983). A lesão cerebral induzida pelo *status epilepticus* nesses modelos pode ser considerada como equivalente a um evento epileptogênico no ser humano, como, por exemplo, uma convulsão febril.

O modelo de convulsões decorrentes da administração do agonista muscarínico, pilocarpina, em roedores assemelha-se, em muitos aspectos, à epilepsia “lobo-temporal”, “psicomotora” ou “límbica”, como, por exemplo, nos padrões eletroencefalográficos, comportamento e seqüelas morfológicas (LEITE et al., 1990; CAVALHEIRO et al., 1991).

A epilepsia do lobo temporal humana é uma desordem crônica, freqüentemente associada a um estímulo inicial precipitante como estado epiléptico, trauma e convulsões febris prolongadas (ENGEL; PEDLEY, 1997). É um dos distúrbios neurológicos mais comuns, apresentando taxa de prevalência de 5% (DELORENZO et al., 2001).

De uma maneira geral, as convulsões induzidas por pilocarpina podem produzir danos neuronais em diversas áreas e, especialmente, nas estruturas límbicas, causando perda neuronal no hipocampo, amígdala, córtex piriforme, córtex entorrinal, septum lateral, tálamo, neocórtex e substância negra, sugerindo o envolvimento de diferentes áreas durante o estabelecimento do processo epiléptico (BORELLI et al., 2002; CLIFFORD et al., 1987; HONCHAR et al., 1990; MARINHO et al., 1997; TURSKI et al., 1983).

As convulsões induzidas pela administração sistêmica da estriçnina consistem apenas extensões tônicas. A estriçnina é um potente convulsivante e atua, principalmente, como antagonista competitivo seletivo da inibição pós-sináptica mediada pela glicina. Sua principal ação é o aumento da excitabilidade reflexa da medula (QUINTANS-JÚNIOR & MELLO, 2006).

Pentilenotetrazol (PTZ) é uma das principais substâncias indutoras de convulsão que são utilizadas na triagem pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes, podendo ser utilizada como modelo de crises generalizadas do tipo ausência ou mioclônicas como de crises tônico-clônicas(QUINTANS-JÚNIOR & MELLO, 2006; SMITH et al, 2007). O PTZ atua inibindo canais de cloreto associados aos receptores GABA (LÖSCHER et al, 1998).O desenvolvimento de benzodiazepínicos e barbitúricos no tratamento das crises convulsivas veio a partir de estudos com o PTZ (LÖSCHER & SCHMIDT, 1988).

Quadro 1. Modelos experimentais para avaliação de drogas

MODELO EXPERIMENTAL (ANO DA DESCRIÇÃO)	TIPO DE EPILEPSIA	SITUAÇÃO
Estricnina (1900)	Crises com foco cortical	Agudo. Extensões tônicas. Antagonismo competitivo da glicina. Excitabilidade reflexa da medula aumentada.
Pentilenotetrazol (PTZ) (1960)	Pequeno mal e crises generalizadas	Agudo. Crises generalizadas de ausência ou mioclônicas e crises tônico-clônicas. Inibição de canais de cloreto associados ao GABAA.
Picrotoxina (1960)	Epilepsias do lobo temporal (*)	Agudo e crônico (*). Epilepsia focal recorrente. Crises parciais ou de ausência. Antagonismo dos receptores GABAérgicos.
Bicuculina (1970)	Epilepsia de longa duração (*)	Agudo e crônico (*). Epilepsia de longa duração. Antagonismo de GABAA.
Substâncias colinomiméticas (1949)	Epilepsias focais e do lobo temporal	Agudo e crônico. A administração sistêmica de pilocarpina pode desenvolver <i>status epilepticus</i> . Mimetiza a epilepsia do lobo temporal nos achados histopatológicos, eletrográficos, manifestações comportamentais e padrão de resposta à terapêutica.

Legenda: (*) quando aplicada na amígdala.

Fontes: Adaptados de Queiroz *et al.*, 2002; Quintans-Júnior *et al.*, 2007.

1. Relevância e justificativa

O imipenem / cilastatina, é um carbapenêmico muitas vezes visto por aumentar o risco de atividade convulsiva em relação ao meropenem em pacientes com cuidados neurocríticos. Portanto, é necessário determinar se a evidência suporta esta percepção e limita as opções para o tratamento de infecções nesta população. Logo, o estudo comparativo dos componentes da classe dos carbapenêmicos no que se refere aos estudos de segurança e eficácia apresenta-se como componente base para a escolha do uso adequado desses medicamentos.

Pacientes com cuidados neurocríticos têm um risco aumentado de desenvolver a atividade convulsiva devido à seus distúrbios subjacentes; portanto, a necessidade de identificação e prevenção no uso de medicamentos que podem aumentar o risco de convulsões são essenciais, dessa forma utilizando uma abordagem baseada em evidências para seleção de um agente antimicrobiano de amplo espectro e eficaz, tal como um carbapenêmico, para o tratamento de infecções graves pode ajudar a otimizar o atendimento do paciente e evitar indesejáveis efeitos adversos das drogas.

Os carbapenêmicos elevam o risco de episódios convulsivos, não apenas em pacientes neurocríticos, mas, em crianças, idosos, portadores de HIV, em pessoas com doenças ou traumas no sistema nervoso central e pessoas com disfunção renal.

Devido à importância farmacoterapêutica destes fármacos enquanto antimicrobianos é importante ser investigado a prevalência desse efeito entre os agentes da classe. Tendo como parâmetro a relação risco- benefício, onde o efeito terapêutico supere qualquer efeito danoso, é que, com o presente estudo, almeja-se contribuir para o uso racional dos antimicrobianos, através da busca do conhecimento que possibilite conhecer a reação adversa citada, bem como o mecanismo do efeito entre os carbapenêmicos, visando à prevenção deste grave efeito adverso.

Nesse contexto, o presente trabalho investigou, através de modelos experimentais em animais, os mecanismos desse importante efeito adverso dos carbapenêmicos, as convulsões, a fim de contribuir com informações que auxiliem no conhecimento para o processo de decisão da escolha terapêutica mais segura e adequada desses medicamentos para os pacientes, fazendo-se, então, uma avaliação de risco - benefício. Também, acreditamos que nossos achados, principalmente sobre os mecanismos envolvidos nessas convulsões, poderão fornecer subsídios para estudos envolvendo estratégias de inovação terapêutica e tecnologia

farmacêutica, como por exemplo, a possibilidade de desenvolvimento desses antimicrobianos associados, na sua formulação, com outras substâncias/moléculas, e que desta forma possam ser capazes de minimizar ou inibir os efeitos adversos, propiciando melhor utilização de suas ações farmacológicas e terapêuticas.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.
(Charles Chaplin)*

OBJETIVO

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudar as convulsões causadas pelos compostos carbapenêmicos, investigando os mecanismos e sistemas de neurotransmissão envolvidos através de modelos experimentais em animais.

3.2 Específicos

- Realizar estudo comportamental dos animais tratados agudamente com os antimicrobianos carbapenêmicos imipenem/cilastatina ou meropenem em diferentes modelos de convulsão, observando parâmetros como latência de primeira convulsão e latência para a morte.
- Investigar os prováveis mecanismos envolvidos nas convulsões causadas pelos carbapenêmicos e seus sistemas de neurotransmissão relacionados, utilizando diferentes modelos animais de convulsões e avaliação dos níveis de aminoácidos;
- Investigar atividade da acetilcolinesterase em cortex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de animais pré-tratados ou não com imipenem ou meropenem e/ou pilocarpina.

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará pela vida sem ver nada.”
(Albert Einstein)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos swiss (29-34g), adultos, do sexo masculino, pesando entre 29-34g, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, acondicionados em caixas de propileno $26 \pm 2^\circ\text{C}$, com ciclos claro/escuro de 12 em 12 horas, recebendo ração padrão (Purina Chow) e água “*ad libitum*”. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo número 14/09.

4.1.1 Via de administração dos carbapenêmicos em camundongos

A administração via intravenosa é feita diretamente na corrente sanguínea, por meio de vasos superficiais. As soluções a serem aplicadas não devem ser irritantes e o veículo deve ser do tipo aquoso. A veia da cauda é o vaso sanguíneo de escolha em camundongos não anestesiados; entretanto, sua perfuração requer habilidade e prática. O movimento do animal também pode ser contido dentro de um pequeno recipiente para facilitar a administração. Estes devem ser selecionados cuidadosamente para ter um tamanho adequado para o animal a ser injetado. Muito pequeno dispositivo pode resultar em ferimentos ao animal, e pode interferir com os movimentos respiratórios. Muito grande é limitador também, pois pode resultar em ferimentos, causados por movimentos durante a contenção. A visualização da veia é facilitada por procedimentos como a imersão da cauda em água quente a $40\text{-}50^\circ\text{C}$ por alguns segundos ou proximidade de uma lâmpada quente. Após o uso, os dispositivos de retenção devem ser cuidadosamente limpos, para evitar estresse ou infecção cruzada. A via intravenosa é utilizada para a administração de soluções, diretamente em circulação sanguínea e os níveis de concentração plasmática podem ser precisamente controlados, levando em consideração parâmetros como peso, idade e sexo. O volume máximo (ml) para administração de drogas em camundongos adultos na veia caudal- 0,2 ml .

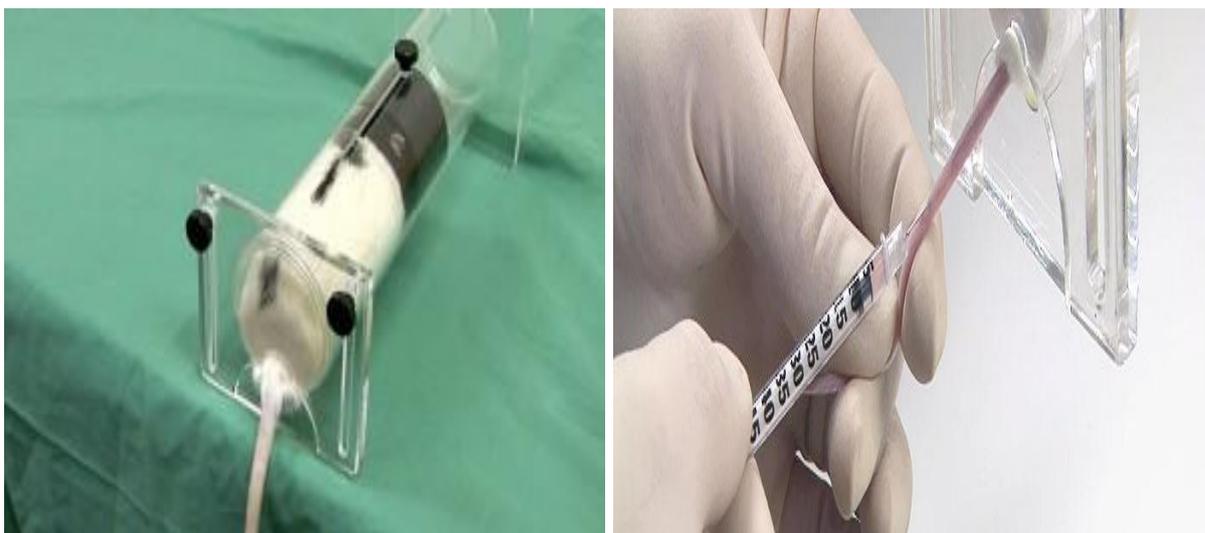


Figura 6. Dispositivo de retenção para administração via intravenosa na veia caudal de camundongos.

Fonte: <http://www.procedureswithcare.org.uk/>

4.2 Drogas e reagentes utilizados

4.2.1 Imipenem/cilastatina (Tienan®) e Meropenem (Meronem®) dissolvidos em solução salina a 0,9% com concentração de 20mg/ml

4.2.2 Pilocarpina / Cloridrato de pilocarpina (Sigma Chemical Co,USA) dissolvida em solução salina a 0.9%, obtendo-se uma concentração final de 40mg/mL.

4.2.3 Pentilenotetrazol (Sigma Chemical Co.,USA) dissolvida em solução salina a 0.9% , obtendo-se uma concentração final de 5.5 mg/mL.

4.2.4 Estricnina (Sigma Chemical Co.,USA) dissolvida em água destilada , obtendo-se uma concentração final de 0.2 mg/mL.

4.2.5 Picrotoxina (Sigma Chemical Co.,USA) , obtendo-se uma concentração final de 1 mg/mL.

4.2.6 Valproato de sódio (200 mg/Kg)

4.3 Equipamentos utilizados

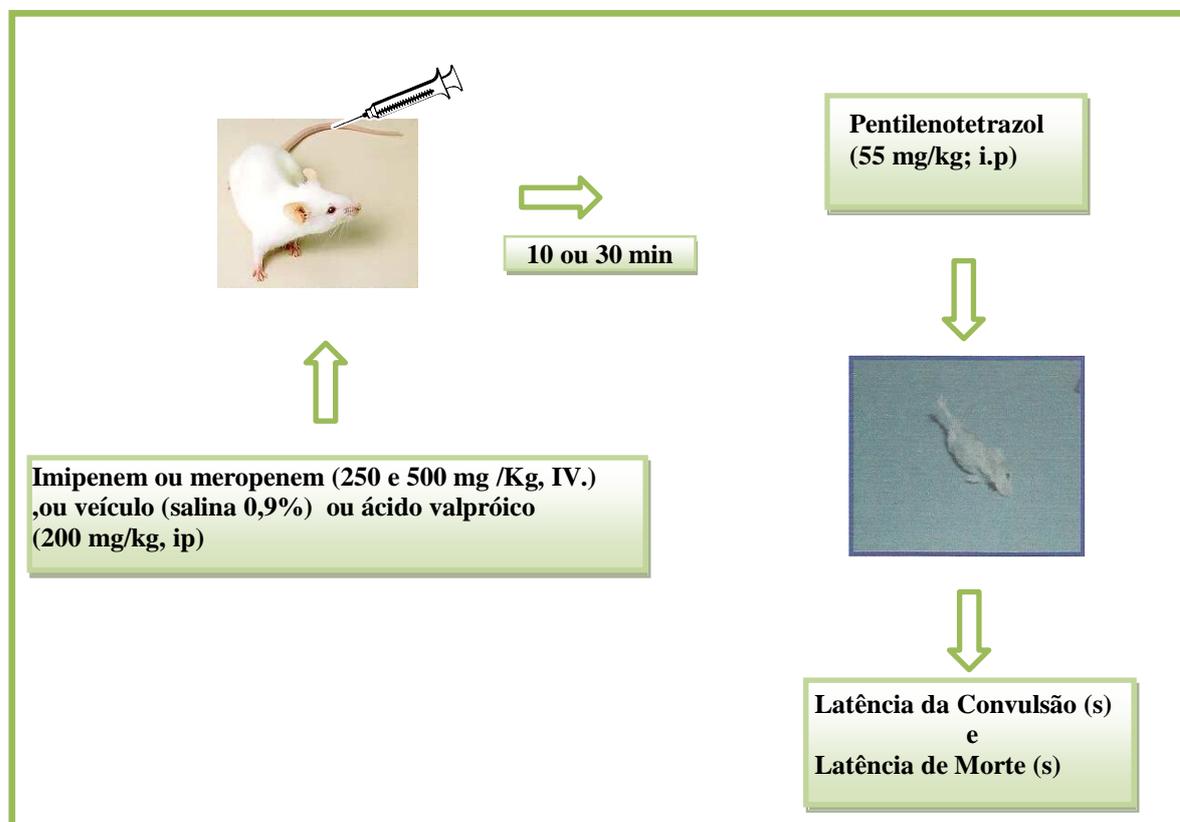
Equipamentos	Origem
Balança Analítica	Modelo H5, Mettler, Suíça
Balança para animais	Filizola, Brasil
Cronômetro	Incoterm, Brasil
Deionizador	USF, Elga, USA
Freezer a -70°C	Modelo ULT 2586-3D14, Revco Scientific, Inc. Asheville, N.C., USA
Medidor de pH, modelo B374	(Micronal, SP, Brasil);
Cubetas para leitura em espectrofômetro	(Sarstedt, Alemanha Oriental);
Pipetas Automáticas	H.E., Dinamarca
Homogeneizadores manuais	Bellico, USA
Sonicador	Modelo PT 10-35. Brinkmann Instruments Inc., USA
Vidrarias	Pirex, Brasil
Bomba para HPLC	LC – 10AD Shimadzu Corp., Japan
Agitador de tubos	Modelo 251, FANEN, SP, Brasil
Centrífuga refrigerada	Modelo Marathon 26 KMR, Fisher Scientific
Degaseificador	DGU-2 ^a
Detector eletroquímico	L-ECD-6 ^a , Shimadzu Corp., Japan
Equipamento de Millipore para filtração a vácuo	Millipore Apparatus, Bedford, MA, USA
Espectrofotômetro (Modelo Beckman DU, Fullerton, CA, USA) com medidor de absorvância digital e outros acessórios (acoplado ao sistema de modernização Gilford, Oberlin, Ohio, USA);	
Equipamento de HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Performance – Detector eletroquímico (Shimadzu, Japão), e Eletrodo de Carbono (Shimadzu); Integrador (C-R6A Chromatopac, Shimadzu, Japão); Injetor (Shimadzu Corp., Japão);	

4.4 Modelos experimentais de convulsões em animais

4.4.1 Teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol

Os animais receberam injeções intravenosas de imipenem (IMIP) ou meropenem (MERO), nas doses 250 ou 500mg/kg ou, ainda, do veículo de dissolução dessas drogas (solução salina – NaCl 0,9%). Após 10 minutos da última injeção das drogas ou veículo foi administrado pentilenotetrazol 55mg/Kg (PTZ55) por via intraperitoneal (OJEWOLE, J. 2008). O ácido valpróico (200 mg/Kg , i.p.) foi usado como padrão positivo. Logo após a administração de PTZ55, os animais foram colocados em gaiolas individuais e observados por um período de 30 minutos. Os parâmetros analisados foram: latência da convulsão (tempo entre a administração do PTZ55 até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração do PTZ55 e morte dos animais). Tempo em segundos. (Quadro3)

QUADRO 2 - Esquema do teste convulsão induzida por pentilenotetrazol



Quadro 2.1. Droga utilizada e via de administração

Droga	Dose	Via de Administração	Abreviatura
Imipenem/cilastatina	250mg/Kg 500mg/Kg	Via endovenosa Via endovenosa	IMIP 250+PTZ55 IMIP 500+PTZ55
Meropenem	250mg/Kg 500mg/Kg	Via endovenosa Via endovenosa	MERO 250 +PTZ55 MERO 500 +PTZ55
Pentilenotetrazol	55mg/Kg	Via intraperitoneal	PTZ
Ácido Valpróico	200mg/Kg	Via intraperitoneal	VPA+PTZ55

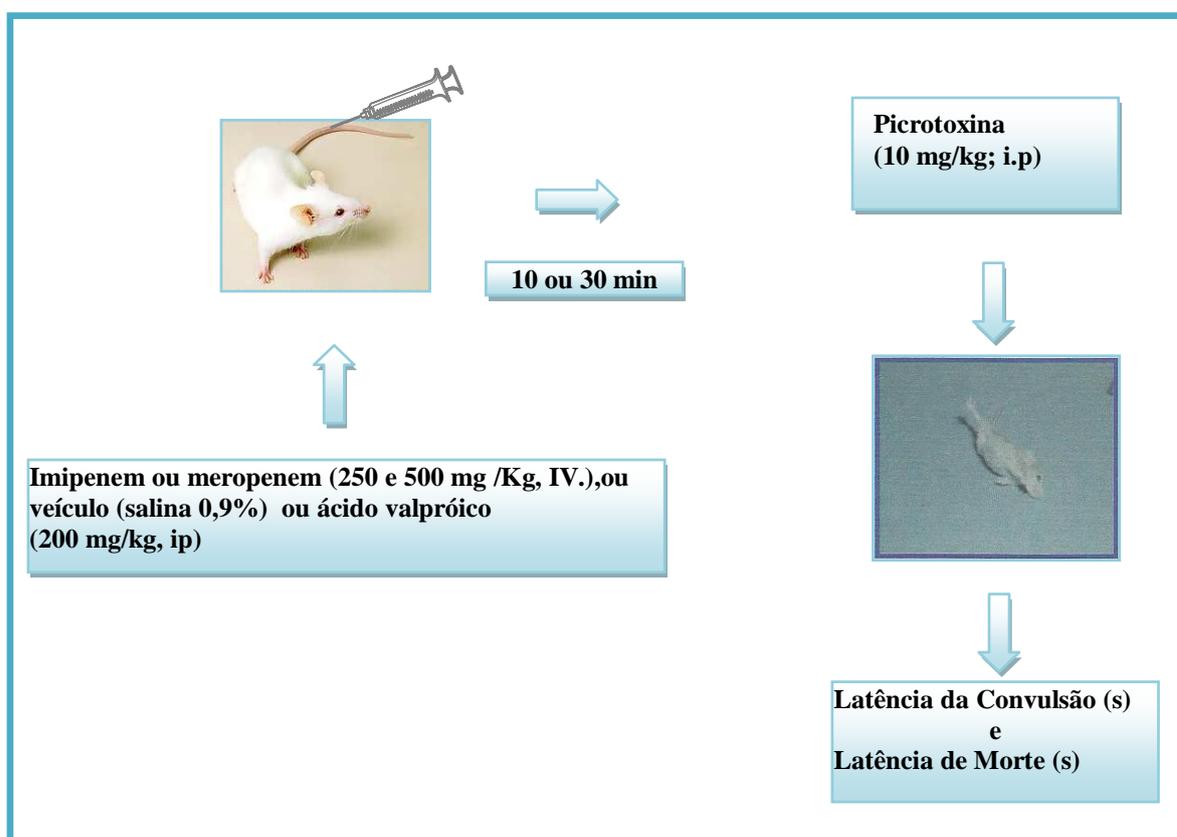
Quadro 2.2. Grupos experimentais

Grupos experimentais	Drogas utilizadas
Grupo veículo	Nacl 0,9%
Controle PTZ55	Nacl 0,9% + Pentilenotetrazol 55mg/Kg
IMIP 250 + PTZ55 IMIP500+PTZ55	Imipenem/cilastatina 250 ou 500 mg/Kg + Pentilenotetrazol 55mg/Kg
MERO 250 + PTZ55 MERO500+PTZ55	Meropenem250 ou 500mg/Kg + Pentilenotetrazol 55mg/Kg
Controle positivo	Ácido Valpróico 200mg/Kg

4.4.2 Teste da Convulsão induzida por picrotoxina

Os animais receberam injeções intravenosas de Imipenem (IMIP) ou meropenem (MERO), nas doses 250 ou 500mg/kg ou, ainda, do veículo de dissolução dessas drogas (solução salina – NaCl 0,9%). Após 10 minutos da última injeção das drogas ou veículo foi administrado picrotoxina 10 mg/Kg (PICRO10) por via intraperitoneal (APRISON et al, 1987). O Ácido Valpróico (200 mg/Kg , i.p.) foi usado como padrão positivo. Logo após a administração de ESTRIC2, os animais foram colocados em gaiolas individuais e observados por um período de 30 minutos. Os parâmetros analisados foram: latência da convulsão (tempo entre a administração do PICRO10 até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração do PICRO10 e morte dos animais). Tempo em segundos.

QUADRO 3 - Esquema do teste convulsão induzida por picrotoxina.



Quadro 3.1. Droga utilizada e via de administração

Droga	Dose	Via de administração	Abreviatura
Imipenem/cilastatina	250mg/Kg	Via endovenosa	IMIP 250+PICRO10
	500mg/Kg	Via endovenosa	IMIP 500+PICRO10
Meropenem	250mg/Kg	Via endovenosa	MERO 250 +PICRO10
	500mg/Kg	Via endovenosa	MERO 500 +PICRO10
Picrotoxina	10mg/Kg	Via intraperitoneal	PICRO10
Diazepam	2mg/kg	Via intraperitoneal	DZP+ PICRO10

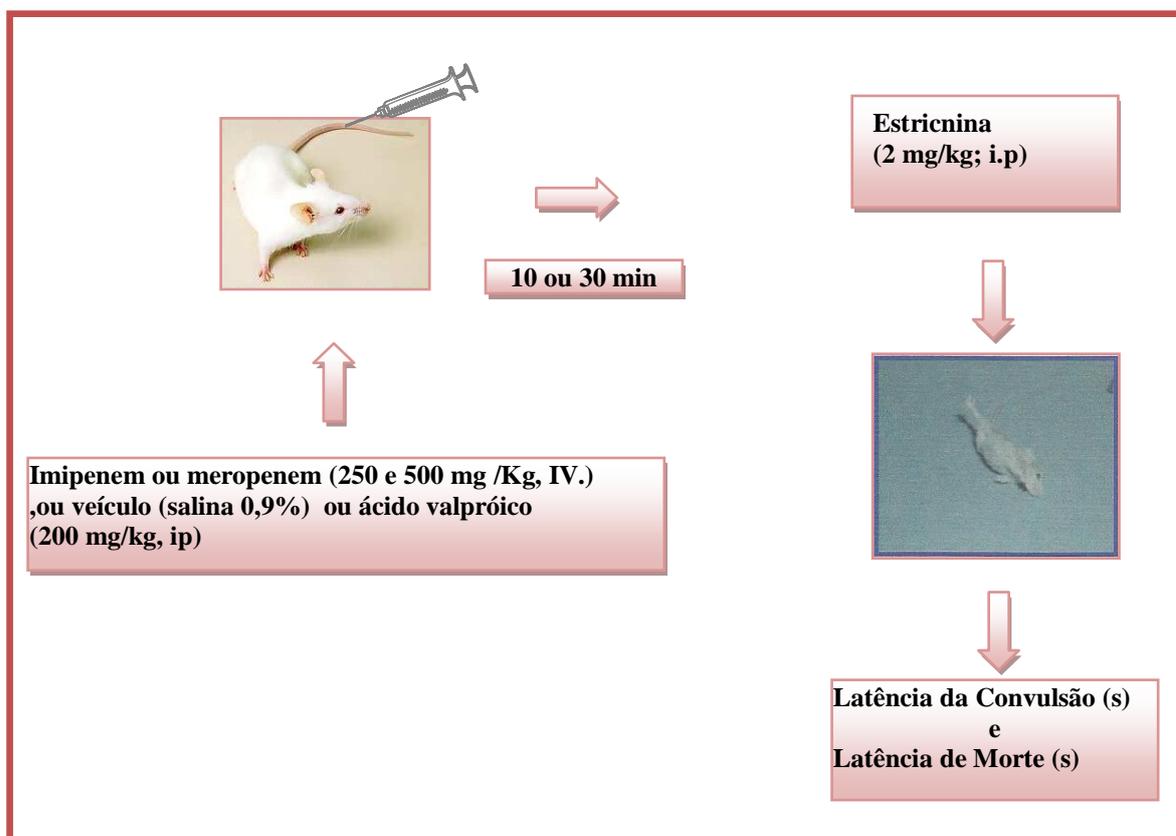
Quadro 3.2. Grupos experimentais

Grupos xperimentais	Drogas utilizadas
Veículo	Nacl 0,9%
Controle PICRO10	Nacl 0,9%+Picrotoxina 10mg /Kg
IMIP 250+PICRO10 IMIP500+PIICRO10	Imipenem/cilastatina 250 ou 500mg/Kg +Picrotoxina 10mg /Kg
IMIP 250+PICRO10 IMIP 500+PICRO10	Meropenem 250 ou 500mg/Kg +Picrotoxina 10mg/Kg
Controle positivo	Ácido Valpróico 200mg/Kg

4.4.3 Teste da convulsão induzida por estriçnina

Os animais receberam injeções intravenosas de imipenem (IMIP) ou meropenem (MERO), nas doses 250 ou 500mg/kg ou, ainda, do veículo de dissolução dessas drogas (solução salina – NaCl 0,9%). Após 10 minutos da última injeção das drogas ou veículo foi administrado estriçnina 2mg/Kg (ESTRIC2) por via intraperitoneal (APRISON et al, 1987).O ácido valpróico (200 mg/Kg , i.p.) foi usado como padrão positivo. Logo após a administração de ESTRIC2, os animais foram colocados em gaiolas individuais e observados por um período de 30 minutos. Os parâmetros analisados foram: latência da convulsão (tempo entre a administração do ESTRIC2 até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração do ESTRIC2 e morte dos animais). Tempo em segundos.

QUADRO 4 - Esquema do teste convulsão induzida por estriçnina



Quadro 4.1. Droga utilizada e via de administração

Droga	Dose	Via de Administração	Abreviatura
Imipenem/cilastatina	250mg/Kg 500mg/Kg	Via endovenosa Via endovenosa	IMIP 250+ESTRIC2 IMIP 500+ESTRIC2
Meropenem	250mg/Kg 500mg/Kg	Via endovenosa Via endovenosa	MERO 250 +ESTRIC2 MERO 500 +ESTRIC2
Estricnina	2mg/Kg	Via intraperitoneal	ESTRIC2
Ácido Valpróico	200mg/kg	Via intraperitoneal	VPA200+ ESTRIC2

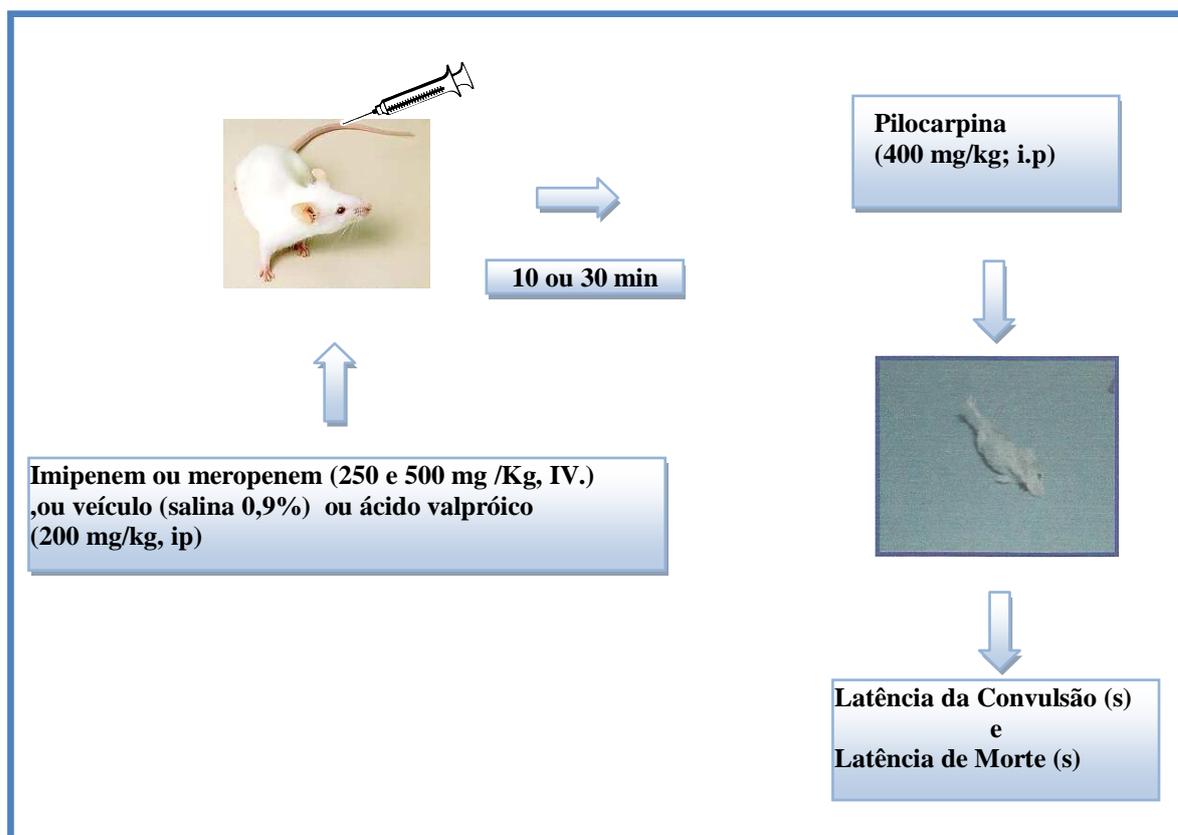
Quadro 4.2. Grupos experimentais

Grupos experimentais	Drogas utilizadas
Veículo	(Nacl 0,9%)
Controle ESTRIC2	Nacl 0,9%+Estricnina 2 mg/Kg
IMIP 250+ESTRIC2 IMIP500+ESTRIC2	Imipenem/cilastatina 250 ou 500mg/Kg + Estricnina 2mg/Kg
IMIP 250+ESTRIC IMIP 500+ESTRIC	Meropenem 250 ou 500mg/Kg+Estricnina 2mg/Kg
Controle positivo	Ácido Valpróico 200mg/Kg

4.4.4 Teste da convulsão induzida por pilocarpina (modelo colinérgico)

Os animais receberam injeções intravenosas de imipenem (IMIP) ou meropenem (MERO), nas doses 250 ou 500mg/kg ou, ainda, do veículo de dissolução dessas drogas (solução salina – NaCl 0,9%) . Após 10 minutos da última injeção das drogas ou veículo foi administrado Pilocarpina 400mg/Kg(P400) por via intraperitoneal (TURSKI et al., 1983).O ácido valpróico (200 mg/Kg , i.p.) foi usado como padrão positivo. Logo após a administração de P400, os animais foram colocados em gaiolas individuais e observados por um período de 60 minutos. Os parâmetros analisados foram: latência da convulsão (tempo entre a administração do P400 até a primeira convulsão clônica ou tônico-clônica) e a latência de morte dos animais (tempo decorrido da administração do P400 e morte dos animais). Tempo em segundos.

QUADRO 5 – Esquema do teste convulsão induzida por pilocarpina



Quadro 5.1. Droga utilizada e via de administração

Droga	Dose	Via de Administração	Abreviatura
Imipenem/cilastatina	250mg/Kg 500mg/Kg	Via endovenosa Via endovenosa	IMIP 250+P400 IMIP 500+P400
Meropenem	250mg/Kg 500mg/Kg	Via endovenosa Via endovenosa	MERO 250 + P400 MERO 500 + P400
Pilocarpina	400mg/Kg	Via intraperitoneal	P400
Ácido valpróico	200mg/kg	Via intraperitoneal	VPA200+P400

Quadro 5.2. Grupos experimentais

Grupos experimentais	Drogas utilizadas
Veículo	(Nacl 0,9%)
Controle P400	(Nacl 0,9%) +Pilocarpina 400mg/Kg
IMIP 250 + P400 IMIP500+P400	Imipenem/cilastatina 250 ou 500mg/Kg + Pilocarpina 400mg/Kg
MERO250+ P400 MERO500+P400	Meropenem 250 ou 500mg/Kg + Pilocarpina 400mg/Kg
Controle positivo	Ácido Valpróico 200mg/Kg

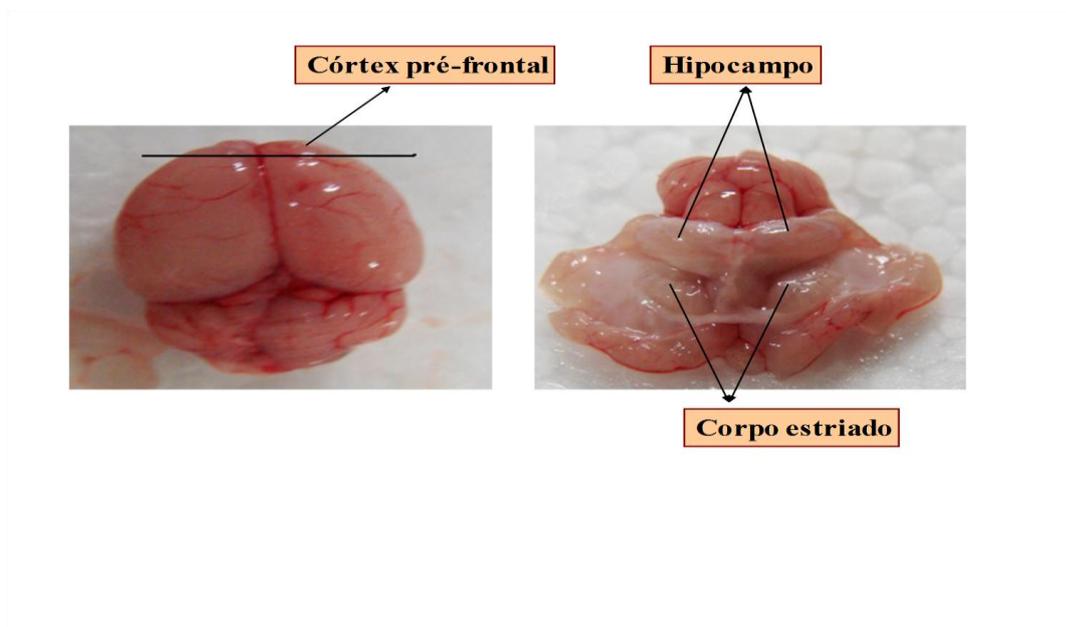
4.5 Dissecação das áreas cerebrais

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 microdissecação (MACHADO, 1985).

Como as áreas corticais dos ratos/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 (UYLINGS et al., 2003) 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.

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 microdissecação, 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 microdissecação, 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. Quando necessária a estocagem por um determinado período de tempo (no máximo 6 meses a -70 °C) os tecidos foram considerados como tendo a mesma viabilidade para experimentação que os ensaiados imediatamente ou 24 h após a dissecação (BURKE GREENBAUN, 1987).

QUADRO 6 – Áreas cerebrais dissecadas

FONTE: Venâncio, 2009.

DOSAGEM DE AMINOÁCIDOS COM HPLC

4.6.1 Procedimento experimental

Para determinação dos níveis de aminoácidos, foram retiradas as áreas cerebrais correspondentes ao córtex pré-frontal, hipocampo, corpo estriado para a posterior preparação dos homogenatos. Para a preparação do homogenato, foi utilizado um volume de 10% da área em ácido perclórico 0,1M.

4.6.2 Método

As determinações de aminoácidos foram determinadas através do uso de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), que consiste em uma pré-coluna de derivatização na presença de orto-ftalaldeído (OPA). O aparelho foi programado com um detector fluorimétrico (330-450)nm acoplado a um integrador.

A coluna cromatográfica utilizada foi a C18, 250 × 4.6mm, 5μ que percorria a coluna a uma velocidade de 1.0 ml/min. A fase móvel A consistiu em 50mM NaH₂PO₄ em 20% de metanol ajustada para PH de 5,5. A fase móvel B consistiu em 100% de metanol. As fases foram preparadas com água ultramente purificada (Mili-Q system) e filtrada com o uso de filtros milipore de 0.22μm.

4.6.3 Preparo dos padrões dos aminoácidos

Todos os aminoácidos foram preparados nas concentrações de 2,5 mmol/L ou 2,5 mM. Glutamato, aspartado, glicina, taurina e GABA foram solubilizados em ácido perclórico 0,1 M.

O ácido perclórico foi preparado adicionando 1,8 mL do ácido e completado o volume para 300 mL com água mili-Q.

4.6.4 Preparo das amostras:

Para o preparo das amostras, foi utilizado homogenatos cerebrais a 10% em ácido perclórico 0.1M. Após o preparo, estes foram centrifugados à 14000rpm durante 30 minutos e o sobrenadante filtrado em filtros milipore 0.22 μ m.

4.6.5 Solução de derivatização:

13.5mg de OPA foi dissolvido em 250 μ l de etanol, juntamente com 10 μ l de 2-mercaptoetanol, o volume da solução foi então completado para 2.25ml com tampão borato, pH 9,3. A solução foi filtrada com o milipore 0.22 μ m. A solução foi acondicionada em vidro âmbar no refrigerador, por no máximo uma semana. Para as derivatizações, 20 μ l da amostra foi diluída em 20 μ l de OPA e injetada no HPLC após um minuto de agitação.



Figura 7 - Aparelho de HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Laboratório de Neurofarmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.7 Determinação da atividade acetilcolinesterásica (AChE).

4.7.1 Método

Os A atividade da acetilcolinesterase cerebral (AChE) foi determinada segundo Ellman *et al* (1961), tendo como princípio a medida da velocidade de produção de tiocolina, à proporção que a acetiltiocolina (ATC), utilizada como substrato, é hidrolisada. O acompanhamento é realizado pela reação contínua do tiol com o íon 5:5-ditiobis-2-nitrobenzoato (I) para produzir o ânion amarelo do ácido 5-tio-2-nitro-benzóico (II), cuja coloração é medida em 412 nm, através de um espectrofotômetro Beckman DU, o que permitiu leituras automáticas em sistema digital e forneceu maior sensibilidade.

A atividade enzimática é medida através da leitura da variação da absorbância por minuto, durante 3 minutos, sendo a reação linear durante pelo menos 10 minutos. A atividade específica foi expressa em nanomoles de ATC hidrolisados por miligrama de proteína por minuto (nmoles/mg de proteína/min).

4.7.2 Soluções Reagentes

- ✓ Tampão fosfato de sódio - $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ (Reagen, Rio de Janeiro, Brasil) 0,1 M em água bidestilada, pH 7,0.
- ✓ Solução de iodeto de acetiltiocolina ATC (Sigma, St. Louis, MO, EUA) 75 mM em água bidestilada.
- ✓ Solução de ácido 5:5-ditiobis-2-nitrobenzoato - DTNB (Sigma, St. Louis, MO, EUA) 10 mM em tampão fosfato de sódio.

4.8 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows , GraphPad Software , San Diego, Califórnia EUA. Copyright (c) 1992- 2007 por GraphPad Software.

Os resultados que obedeciam a uma distribuição paramétrica foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Student Newman Keuls (post hoc). Os dados não-paramétricos foram analisados pelo mesmo programa utilizando o teste Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunns (post hoc) ou pelo Student *t* test.

Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) com número de animais entre parênteses e foi considerado o nível crítico para a rejeição da hipótese de nulidade menor que 0,05 ($p < 0,05$). Os asteriscos e símbolos (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$) e (# $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$) caracterizam o grau de significância.

*Não se acostume com o que não o faz feliz, revolte-se quando julgar necessário.
Alague seu coração de esperanças, mas não deixe que ele se afogue nelas.
Se achar que precisa voltar, volte!
Se perceber que precisa seguir, siga!
Se estiver tudo errado, comece novamente.
Se estiver tudo certo, continue.
Se sentir saudades, mate-a.
Se perder um amor, não se perca!
Se o achar, segure-o! (Fernando Pessoa)*

5 RESULTADOS

5.1 Estudo comportamental

Os estudos comportamentais foram realizados como descrito anteriormente. Os resultados são apresentados como o número de animais que apresentaram alterações dos parâmetros comportamentais em relação ao número total de animais observados durante os experimentos.

5.2 Efeitos do imipenem/cilastatina ou meropenem sobre as convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ55).

5.2.1 Latência de primeira convulsão

Alguns segundos após a administração de pentilenotetrazol, 55mg/Kg, i.p. (PTZ55) os animais apresentaram convulsão clônicas. Durante o período de observação (30 minutos após administração de pentilenotetrazol, 55mg/Kg, i.p.), podemos verificar que o tempo em segundos decorrido para o aparecimento da primeira convulsão foi significativamente diminuindo nos grupo IMIP 250+PTZ55, quando comparado ao grupo controle (PTZ55), $p < 0,05^*$. (Controle PTZ55 = $265,2 \pm 42,85$; grupo IMIP250+PTZ55 = $177,2 \pm 23,16$ segundos); e também no grupo IMIP500+PTZ55, quando comparado ao grupo controle (PTZ55), $p < 0,01^{**}$. (Figura 8; Tabela 1). Dois animais do grupo que receberam apenas imipenem/cilastatina na dose 500 mg/kg apresentaram atividade convulsiva.

Nos grupos tratados com meropenem houve igual diminuição significativa da latência de convulsão, quando comparado ao controle (PTZ55), $p < 0,05^*$. (Controle PTZ55 = $313,9 \pm 53,41$; grupo MERO250+PTZ55 = $174,5 \pm 15,21$ segundos; MERO500+PTZ55 = $190,7 \pm 34,06$ segundos). (Figura 8; Tabela 2)

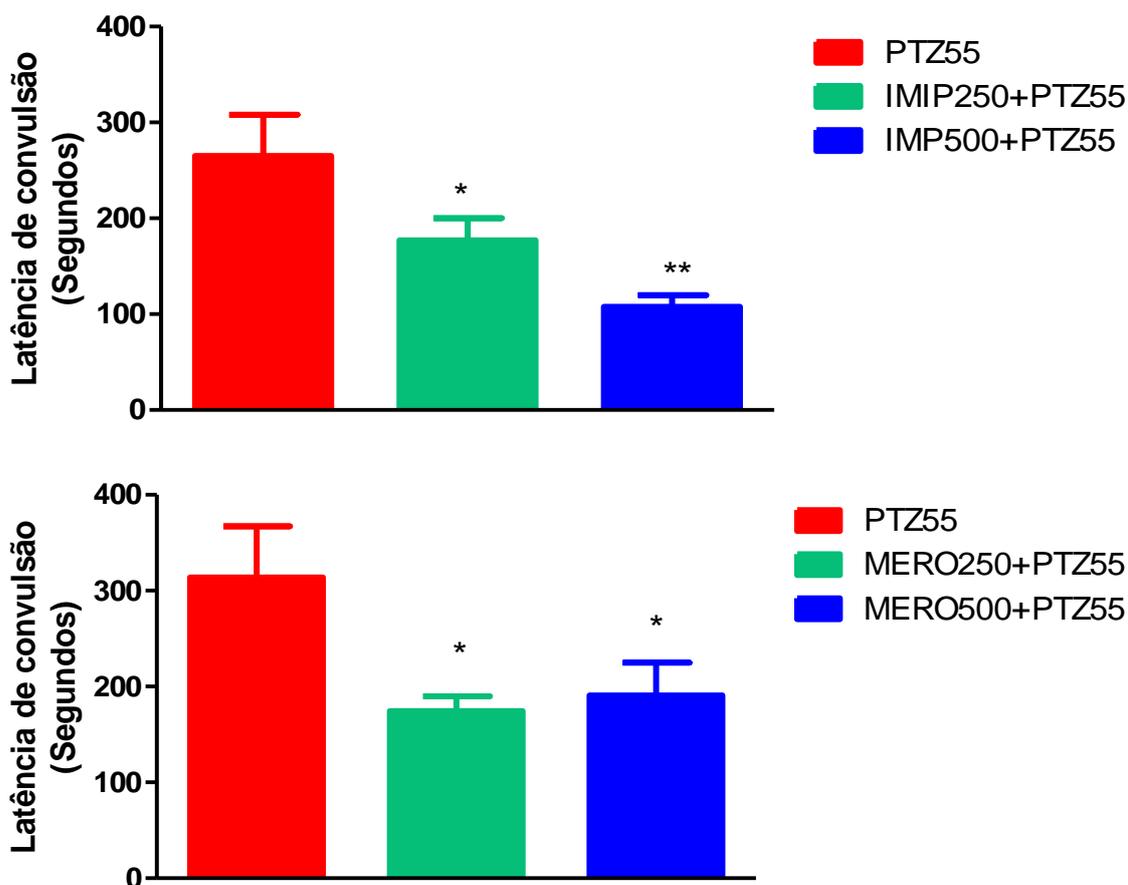


Figura 8. Latência de 1ª Convulsão após administração de pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos swiss machos pré-tratados com Imipenem/cilastatina (IMIP 250+PTZ55 e IMP500+PTZ55) ou Meropenem (MERO250+PTZ55 e MERO500+PTZ55).

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) ou meropenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol (55mg/Kg, i.p.). O grupo controle foi pré-tratado com salina 0,9% IV, e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol (55mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. . * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

5.2.2 *Latência de morte*

Na observação dos animais, verificamos que a latência de morte foi significativamente diminuindo nos grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+PTZ55 e IMIP500+PTZ55), quando comparado ao grupo controle (PTZ55). (Controle PTZ55 = $2695 \pm 355,1$ segundos; grupo IMIP250+PTZ55 = $882,3 \pm 292,8$ segundos; IMIP500+PTZ55 = $1126 \pm 287,3$). (Figura 9; Tabela 1).

Nos animais tratados com meropenem verificamos que a latência de morte diminuiu nos dois grupos, sendo significativa no grupo pré-tratado com a dose (MERO 500+PTZ55), quando comparado ao grupo controle (PTZ55), * $p < 0,05$. (Controle PTZ55 = $3600 \pm 0,0$ segundos; grupo MERO250+PTZ55 = $3324 \pm 275,6$ segundos; MERO500+PTZ55 = $2520 \pm 461,2$). (Figura 9; Tabela 2).

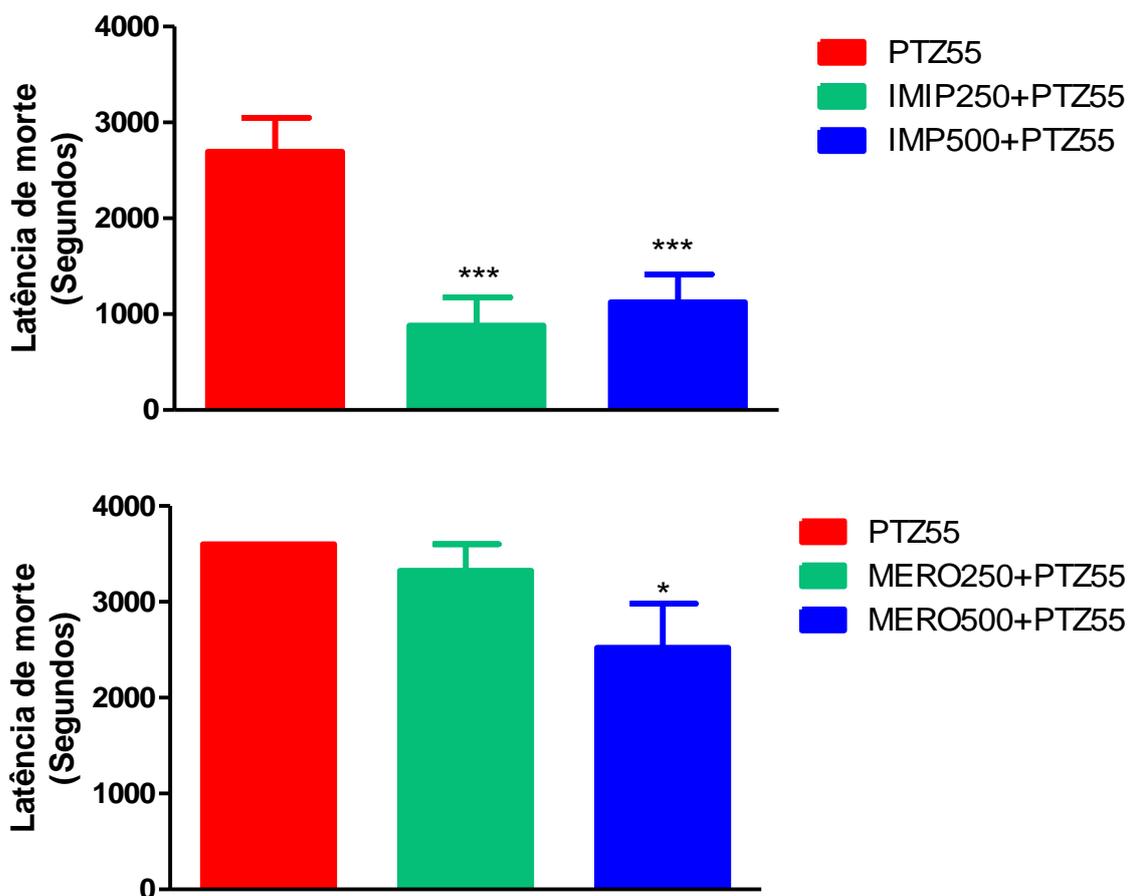


Figura 9. Latência de Morte após administração de pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+PTZ55 e IMP500+PTZ55) ou meropenem (MERO 250+PTZ55 e MERO500+PTZ).

Camundongos Swiss machos (29-34g) grupo PTZ55 (animais pré-tratados com salina 0,9%, IV, após 10 minutos tratados com PTZ 55mg/Kg, i.p.) e grupos pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) ou Meropenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol (55mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. . * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle. *** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*)

Tabela 1. Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos machos pré-tratados com (IMIP250+PTZ55 e IMIP500+PTZ55) e Ácido Valpróico (Ác. Valpróico 200+PTZ55).

Alterações Comportamentais	PTZ55	IMIP250+PTZ55	IMIP500+PTZ55	Ácido Valpróico 200mg+PTZ55
Número de animais	21	21	21	6
Convulsão %	100	100	100	16,7(1)
Latência de convulsão (min.)	265,2±42,85	177,2 ±23,16*	107,8±11,93**	538,7 ±27,47
Morte %	28,5(6)	61,90(13)	71,42(15)	–
Latência de morte	2695±355,1	882,3±292,8***	1126±287,3***	–

Camundongos Swiss machos (29-34g) receberam salina a 0,9% (IV) ou diferentes doses de imipenem/cilastatina (IMIP250 ou IMIP500), IV, 10 minutos antes de PTZ55, e o e grupo ác. valpróico 200+PTZ55 (animais pré-tratados com ácido valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com PTZ 55mg/Kg, i.p.). Os animais foram observados durante 30 minutos após a injeção de PTZ55. As barras representam média ± E.P.M. (PTZ55, n=21; IMIP250+PTZ55, n=21; IMIP500+PTZ55, n=21). * p < 0,05 comparado ao grupo controle; ** p < 0,001 comparado ao controle; *** p < 0,001 comparado ao controle (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 2. Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pentilenotetrazol (PTZ55) em camundongos machos pré-tratados com (MERO250+PTZ55 ou MERO500+PTZ55) e Ácido Valpróico (Ác. Valpróico 200 + PTZ55).

Alterações Comportamentais	PTZ55	MERO250+PTZ55	MERO500+PTZ55	Ácido valpróico 200mg+PTZ55
Número de animais	13	13	13	6
Convulsão %	100	100	100	16,7(1)
Latência de convulsão (min.)	313,9±53,41	174,5±15,21*	190,7± 34,06*	538,7±27,47
Morte %	7,6(1)	15,38(2)	30,7(4)	–
Latência de morte	3600±1,2	3324±275,6	2520±461,2*	–

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com meropenem (250 e 500mg/Kg,IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol (55mg/Kg, i.p.). O grupo controle foi pré-tratado com salina 0,9% (IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol (55mg/Kg, i.p.) e o e grupo ác. valpróico 200+PTZ55 (animais pré-tratados com ácido valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com PTZ 55mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. (PTZ55, n=13; MERO250+PTZ55, n=13; MERO500+PTZ55, n=13) * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

5.3 Efeitos do imipenem/cilastatina ou meropenem sobre as convulsões induzidas por picrotoxina.

5.3.1 Latência de convulsão

Nos animais observados verificamos que a latência de convulsão nos grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+PICRO10 e IMIP500+PICRO10) foi significativamente diminuída, quando comparado ao grupo controle (PICRO10) *** $p < 0,001$. (Controle PICRO10 = $465,9 \pm 20,58$ segundos; grupo IMIP250+ PICRO10 = $355,7 \pm 15,50$ segundos; IMIP500+PICRO10 = $367,7 \pm 18,81$ segundos). Não houve diferença significativa entre as doses (Figura 10; Tabela 3)

Verificamos que a latência de convulsão não foi alterada nos grupos pré-tratados com meropenem (MERO 250+PICRO10 e MERO500+PICRO10), quando comparado ao grupo controle (PICRO10). (Controle PICRO = $465,9 \pm 19,70$ segundos; grupo MERO250+ PICRO = $468,6 \pm 25,03$ segundos; MERO500+PICRO = $474,9 \pm 31,11$). (Figura 10; Tabela 4)

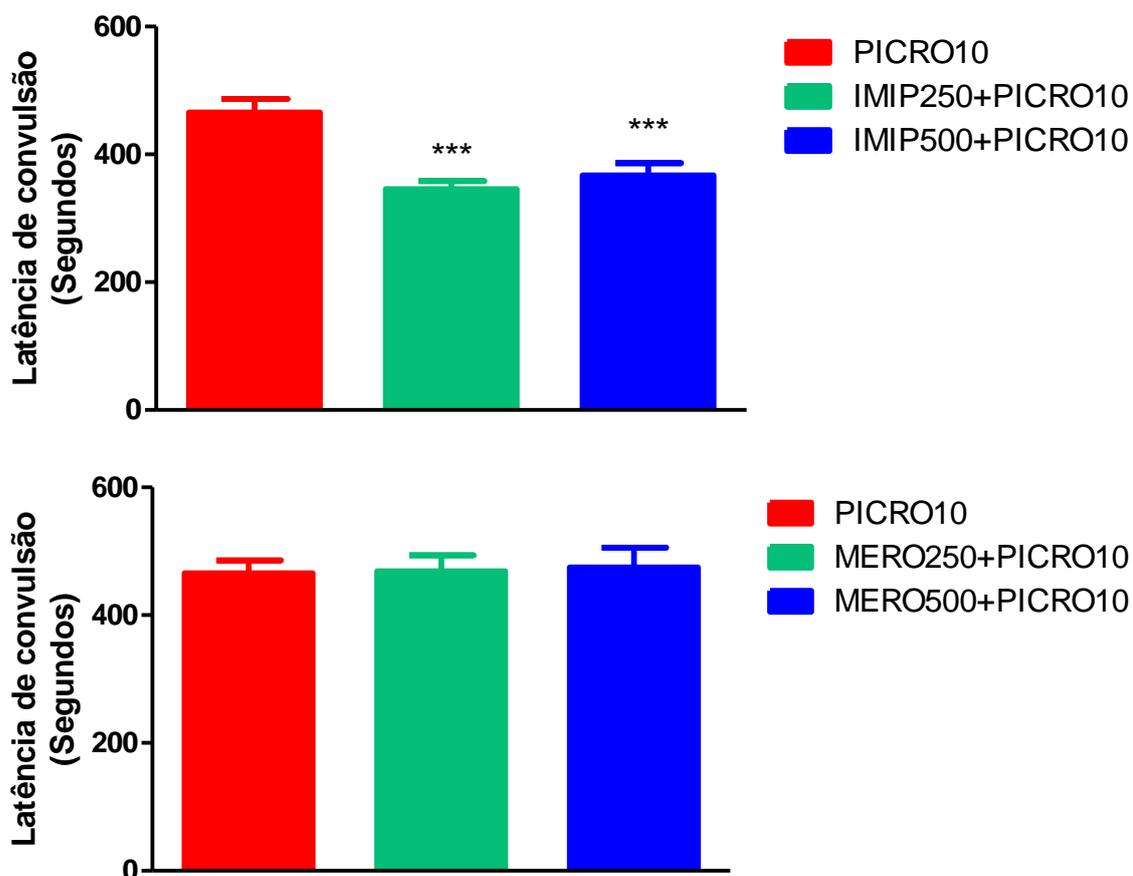


Figura 10. Latência de 1ª convulsão após administração de picrotoxina (PICRO10) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+PICRO10 e IMIP500+PICRO10) ou meropenem (MERO250+PICRO10 e MERO500+PICRO10).

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, v.e.) ou meropenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina (10mg/Kg, i.p.). O grupo controle foi pré-tratado com salina 0,9% IV, e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina (10mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. . *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

5.3.2 Latência de morte

O pré-tratamento com o imipenem/cilastatina reduziu significativamente a latência de morte nos grupos (IMIP250+ PICRO10 e IMIP500+PICRO10), quando comparado ao grupo controle (PICRO10), $p < 0,001$. (Controle PICRO = $1160 \pm 68,29$ segundos; grupo IMIP250+ PICRO10 = $661,4 \pm 59,61$ segundos; IMIP500+ PICRO = $662,1 \pm 30,6561$ segundos). (Figura e Tabela 1). Não houve diferença significativa entre as doses de Imipenem/cilastatina (Figura 11; Tabela 3).

A administração de meropenem não alterou a latência de morte nos grupos pré-tratados (MERO 250+ PICRO10 e MERO 500+ PICRO10), quando comparado ao grupo controle (PICRO). (Controle PICRO = $948,5 \pm 86,74$ segundos; grupo MERO250+ PICRO = $1100 \pm 191,5$ segundos; MERO500+ PICRO = $971,4 \pm 118,6$). (Figura 11; Tabela 4)

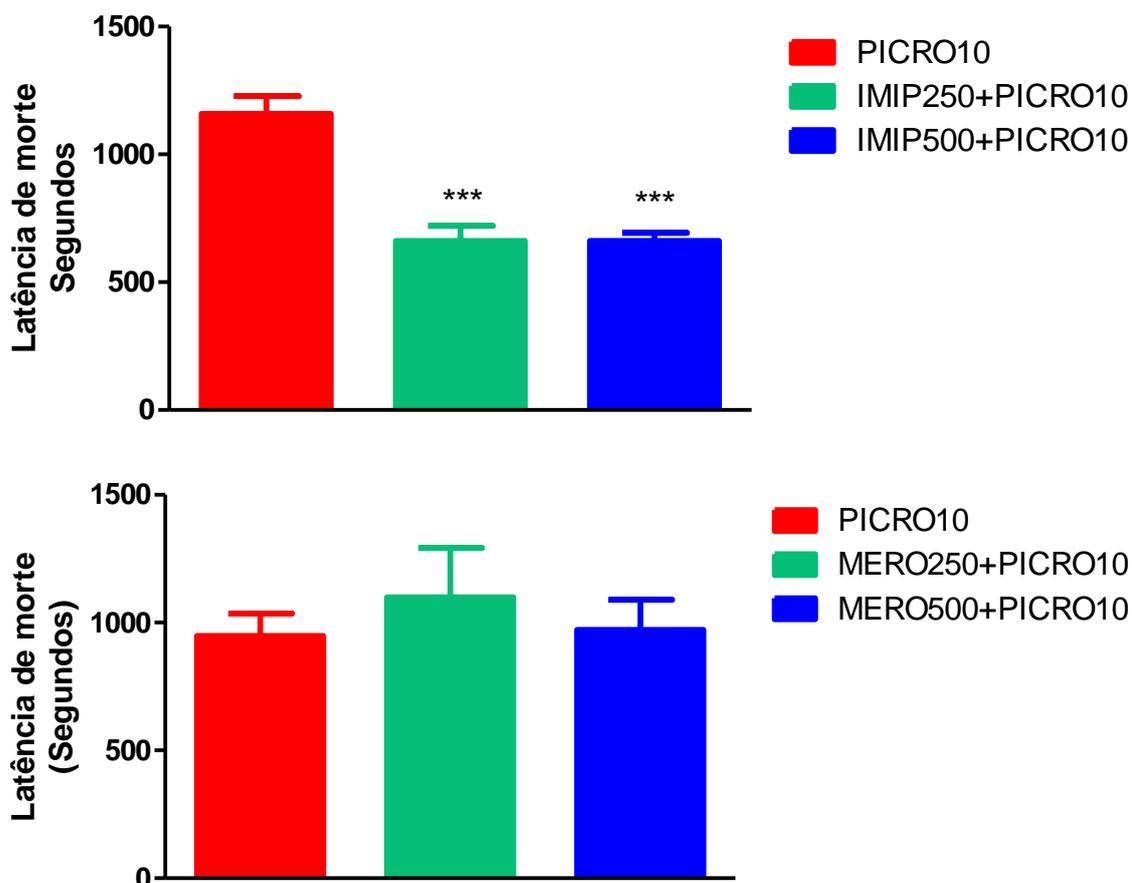


Figura 11. Latência de morte de camundongos adultos após administração de picrotoxina (PICRO10) em animais pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou meropenem (Mero250 ou 500).

Camundongos Swiss machos (29-34g) grupo Picro10 (animais pré-tratados com salina 0,9%, IV após 10 minutos tratados com PICRO 10mg/Kg, i.p.) e grupos pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, v.e.) ou meropenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina (10mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 3. Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/Kg (PICRO10) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + PICRO10).

Alterações Comportamentais	PICRO10	IMIP250+PICRO10	IMIP500+PICRO10	ác valpróico 200+PICRO10
Número de animais	15	15	15	6
Convulsão %	100	100	100	33.3(2)
Latência de convulsão (min.)	465,9±19,70	355,7±15,50***	367,5±18,81***	637,9 ±30,14
Morte %	100	100	100	16.6(1)
Latência de morte	1160±68,29***	661,4±59,61***	662,1±30,65***	1663±450,5

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem/cilastatina (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina (10 mg/Kg, i.p.). O grupo controle PICRO10 foi pré-tratado com salina (0,9%, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina (10 mg/Kg, i.p.) e o grupo ác. valpróico 200+PICRO10 (animais pré-tratados com Ácido Valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com Picrotoxina 10 mg/Kg, i.p.; n=6). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média ± E.P.M. (PICRO10, n=15; IMIP250+PICRO10, n=15; IMIP500+ PICRO10, n=15) .) *** p<0,001 quando comparado ao grupo controle (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 4. Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/Kg (PICRO10) em camundongos e ácido valpróico (Ác. Valpróico 200 + PICRO10).

Alterações Comportamentais	PICRO10	MERO250+PICRO10	MERO500+PICRO10	ác valpróico 200+PICRO10
Número de animais	15	15	15	6
Convulsão %	100	100	100	33.3(2)
Latência de convulsão (min.)	465,9±19,70	468,6±25,03	474,9±31,11	637,9 ±30,14
Morte %	100	100	100	16.6(1)
Latência de morte	948,5±86,74	1100±191,5	971,4±118,6	1663±450,5

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com meropenem (250 e 500mg/Kg, v.e.) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina (10 mg/Kg, i.p.). O grupo controle foi pré-tratado com salina (0,9% , IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina (10 mg/Kg, i.p.) e o grupo ác. valpróico 200+PICRO10 (animais pré-tratados com Ácido Valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com picrotoxina 10 mg/Kg, i.p.; n=6) Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média ± E.P.M. (PICRO10, n=15; MERO250+ PICRO10, n=15; MERO500+ PICRO10, n=15). (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

5.4 Efeitos do imipenem/cilastatina ou meropenem sobre as convulsões induzidas por estricnina.

5.4.1 Latência de convulsão

Apenas a dose de 250mg/kg foi significativa quando comparado ao grupo controle (P400), * $p < 0,05$. (Controle P400 = $227,2 \pm 19,29$ segundos; grupo IMIP250+ESTRIC2 = $168,2 \pm 15,55$ segundos; IMIP500+ESTRIC2 = $196,3 \pm 10,86$). Não houve diferença significativa entre as doses (Figura 12;Tabela 5)

A latência de convulsão não foi significativa nos grupos pré-tratados com Meropenem (MERO 250+ESTRIC2 e IMIP500+ESTRIC2), quando comparado ao grupo controle (ESTRIC2). Embora haja tido uma leve tendência à diminuição da latência de convulsão (Controle ESTRIC2 = $227,2 \pm 19,29$ segundos; grupo IMIP250+ ESTRIC2 = $212,8 \pm 8,32$ segundos; IMIP500+ESTRIC2 = $226,0 \pm 11,07$). (Figura 12;Tabela 6)

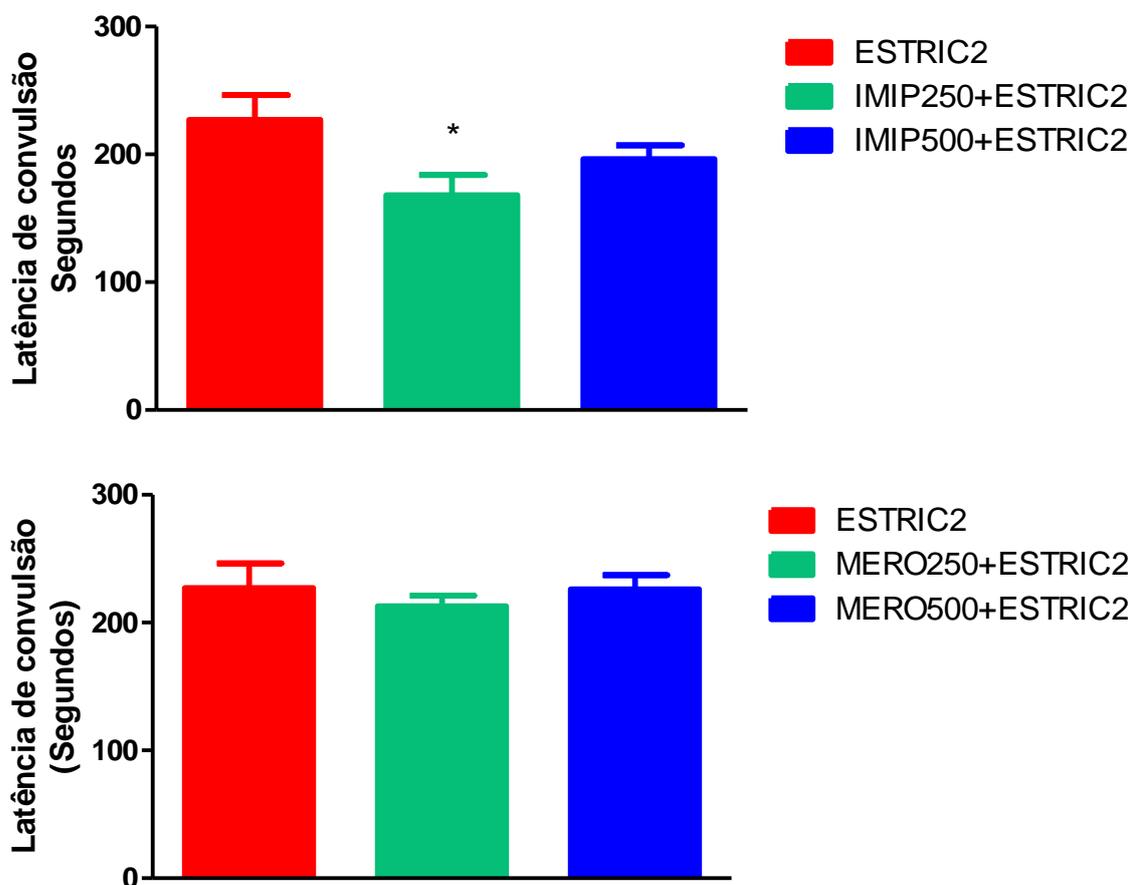


Figura 12. Latência de 1ª convulsão após administração de estriçnina 2m/Kg (ESTRIC2) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP250+ESTRIC2 e IMIP500+ESTRIC2) ou meropenem (MERO250+ESTRIC2 e MERO500+ESTRIC2).

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) ou meropenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estriçnina (2mg/Kg, i.p.). O grupo controle foi pré-tratado com salina 0,9% , IV, e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estriçnina (2mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. * $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

5.4.2 Latência de morte

Na observação dos animais, verificamos que a latência de morte diminuiu de forma não significativa nos grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+ESTRIC e IMIP500+ESTRIC), quando comparado ao grupo controle (ESTRIC). (Controle ESTRIC = $317,8 \pm 33,52$ segundos; grupo IMIP250+ESTRIC2 = $231,8 \pm 25,08$ segundos; IMIP500+ESTRIC2 = $260,3 \pm 24,39$). (Figura 13; Tabela 5).

A latência de morte diminuiu insignificativamente nos grupos pré-tratados com meropenem (Mero 250+ESTRIC2 e Mero 500+ESTRIC2), quando comparado ao grupo controle (ESTRIC2). (Controle ESTRIC = $317,8 \pm 33,52$ segundos; grupo MERO250+ESTRIC2 = $276,2 \pm 17,20$ segundos; MERO500+ESTRIC2 = $310,8 \pm 30,02$). (Figura 13; Tabela 6).

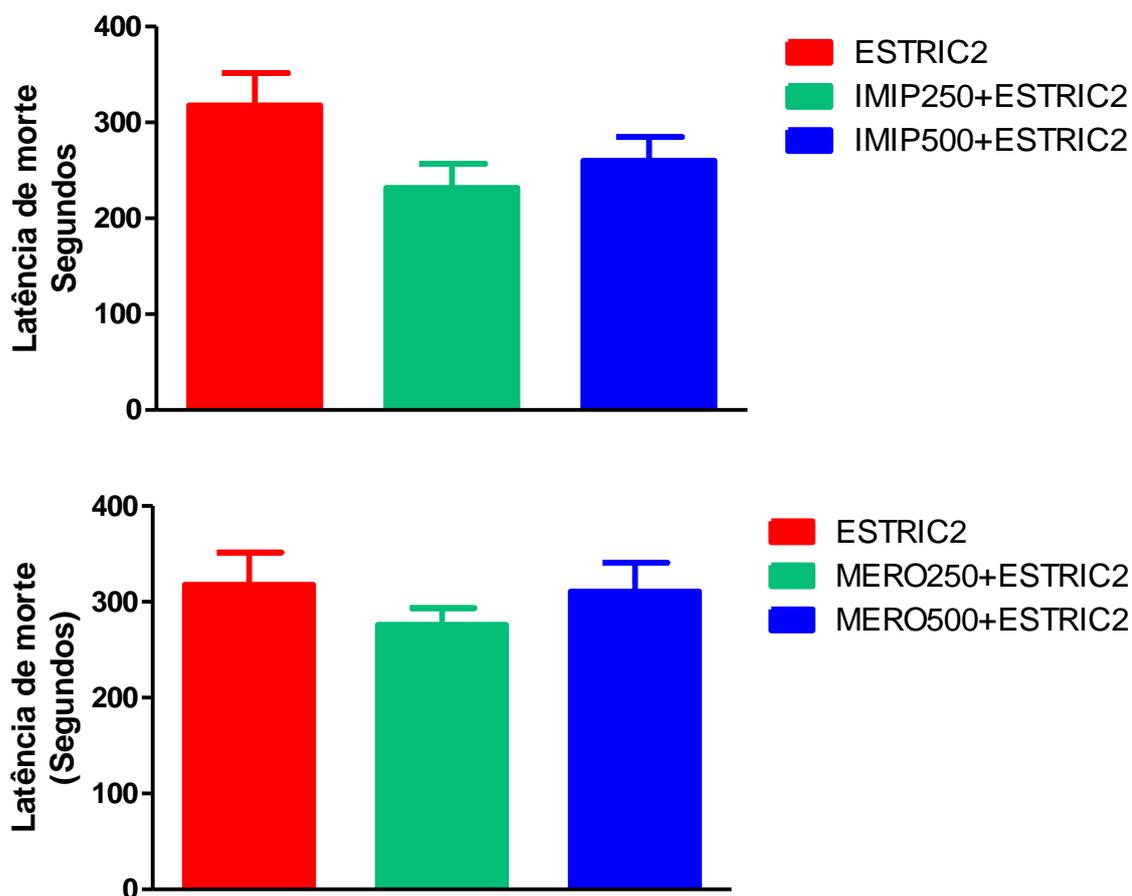


Figura 13. Latência de Morte após administração de estriçnina 2mg/Kg (ESTRIC2) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+ESTRIC2 e IMIP500+ESTRIC2) ou meropenem (MERO 250+ESTRIC2 e MERO500+ESTRIC2).

Camundongos Swiss machos (29-34g) grupo ESTRIC2 (animais pré-tratados com salina 0,9%,IV, após 10 minutos tratados com ESTRIC 2mg/Kg, i.p.) e grupos pré-tratados com imipenem(250 e 500mg/Kg, IV) ou meropenem(250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estriçnina (2mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 5. Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por Estricnina 2mg/Kg (ESTRIC2) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + ESTRIC2).

Alterações Comportamentais	ESTRIC2	IMIP250+ESTRIC	IMIP500+ESTRIC2	Ác.Valpróico 200+ESTRIC2
Número de animais	13	13	13	6
Convulsão %	100	100	100	66.6 (4)
Latência de convulsão (min.)	227,2±19,29	168,2±15,55*	196,3±10,86	472,9±21,70
Morte %	100	100	100	50(3)
Latência de morte	317,8±33,52	231,8±25,08	260,3±24,39	1389±158

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem/cilastatina (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estricnina (2 mg/Kg, i.p.). O grupo controle foi pré-tratado com salina (0,9%, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com Estricnina (2 mg/Kg, i.p.) e o grupo ác. valpróico 200+ESTRIC2 (animais pré-tratados com ácido valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com estricnina 2 mg/Kg, i.p.; n=6). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. (ESTRIC, n=13; IMIP250+ESTRIC, n=13; IMIP500+ESTRIC, n=13) . * $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 6. Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por estricnina 2mg/Kg (ESTRIC2) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + ESTRIC2).

Alterações Comportamentais	ESTRIC2	MERO250+ESTRIC2	MERO500+ESTRIC2	ác.valpróico 200+ESTRIC2
Número de animais	13	13	13	6
Convulsão %	100	100	100	66.6(4)
Latência de convulsão (min.)	227,2±19,29	212,8±8,32	226,0±11,07	472,9±21,70
Morte %	100	100	100	50(3)
Latência de morte	317,8±33,52	276,2±17,20	310,8±30,02	1389±158

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com meropenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estricnina (2 mg/Kg, i.p.). O grupo controle foi pré-tratado com salina (0,9%, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estricnina (2 mg/Kg, i.p.) e o grupo ác. valpróico 200+ESTRIC2 (animais pré-tratados com ácido valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com estricnina 2 mg/Kg, i.p.; n=6). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. As barras representam média \pm E.P.M. (ESTRIC, n=13; MERO250+ESTRIC, n=13; MERO500+ESTRIC, n=13).(Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

5.5 *Efeitos do imipenem/cilastatina ou meropenem sobre as convulsões induzidas por pilocarpina.*

5.5.1 *Comportamento de camundongos swiss adultos observados durante 1 hora após administração de pilocarpina.*

Poucos minutos após a administração de pilocarpina, 400mg/Kg, i.p. (P400) os animais mostraram sinais colinérgicos periféricos (miose, piloereção, cromodacriorréia, salivação, diarreia, diurese, tremores), e movimentos estereotipados (aumento da atividade de roer, coçar, mastigar e *wet-dog shakes* – ato de sacudir semelhante a um cachorro molhado), seguidos por convulsões motoras límbicas. Essas mudanças foram mais pronunciadas nos grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina e meropenem.

5.5.2 *Latência de convulsão*

Na observação dos animais, verificamos que a latência de convulsão foi significativamente diminuindo nos grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+P400 e IMIP500+P400), quando comparado ao grupo controle (P400). (Controle P400 = $771,6 \pm 36,84$ segundos; grupo IMIP250+P400 = $520,3 \pm 25,52^{***}$ segundos; IMIP500+P400 = $603,3 \pm 44,73^{**}$). O efeito proconvulsivante demonstrado pelo Imipenem/cilastatina não ocorreu de forma dose-dependente. (Figura 14;Tabela 7)

Nos grupos pré-tratados com meropenem (MERO 250+P400 e MERO500+P400) houve um diminuição expressiva da latência de convulsão nas duas doses, quando comparado ao grupo controle (PILO), *** $p < 0,001$. (Controle P400 = $771,6 \pm 36,84$ segundos; grupo IMIP250+P400 = $520,3 \pm 25,52$ segundos; IMIP500+P400 = $603,3 \pm 44,73$). (Figura 14 ; Tabela 8)

Sinais colinérgicos periféricos e movimentos estereotipados foram alterados em todos os grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina e meropenem. Nenhum animal, dos grupos que receberam apenas salina 0,9% ou apenas Imipenem/cilastatina ou Meropenem apresentou atividade convulsiva.

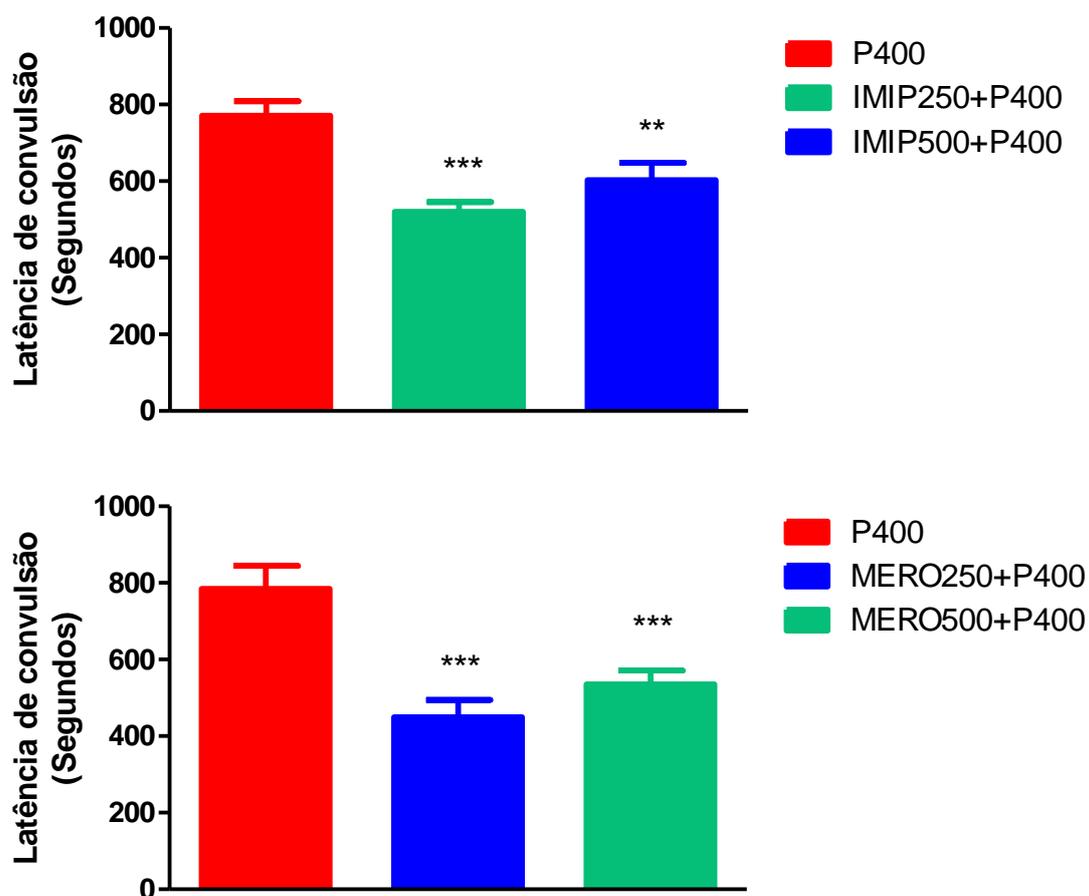


Figura 14. Potencialização da atividade convulsivante da pilocarpina (P400) em camundongos machos Swiss pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500mg/Kg) e meropenem (MERO 250 ou 500mg/Kg)

Camundongos Swiss machos (29-34g) grupo P400 (animais pré-tratados com salina 0,9%, IV após 10 minutos tratados com P400 mg/Kg, i.p.) e grupos pré-tratados com imipenem(250 e 500mg/Kg, IV) ou meropenem(250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina (400mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 1 hora de observação. As barras representam média \pm E.P.M. . ** $p < 0,01$ comparado ao grupo controle. *** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

5.6 Latência de morte

Na observação dos animais, verificamos que a latência de morte diminuída foi igualmente significativa em ambos os grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+P400 e IMIP500+P400), quando comparado ao grupo controle (P400), ** $p < 0,01$. (Controle P400 = $1792 \pm 302,5$ segundos; grupo IMIP250+P400 = $855,1 \pm 85,56$ segundos ; IMIP500+P400 = $856,4 \pm 187,1$). (Figura 15; Tabela 7).

A latência de morte diminui significativamente nos grupos pré-tratados com meropenem (MERO250+P400 e MERO500+P400), quando comparado ao grupo controle (P400), * $p < 0,05$. (Controle P400 = $1792 \pm 302,5$ segundos; grupo MERO250+P400 = $855,1 \pm 85,56$ segundos; MERO500+P400 = $856,4 \pm 187,1$). Não houve diferença entre os grupos pré-tratados com as doses de imipenem/cilastatina. (Figura 15; Tabela 8).

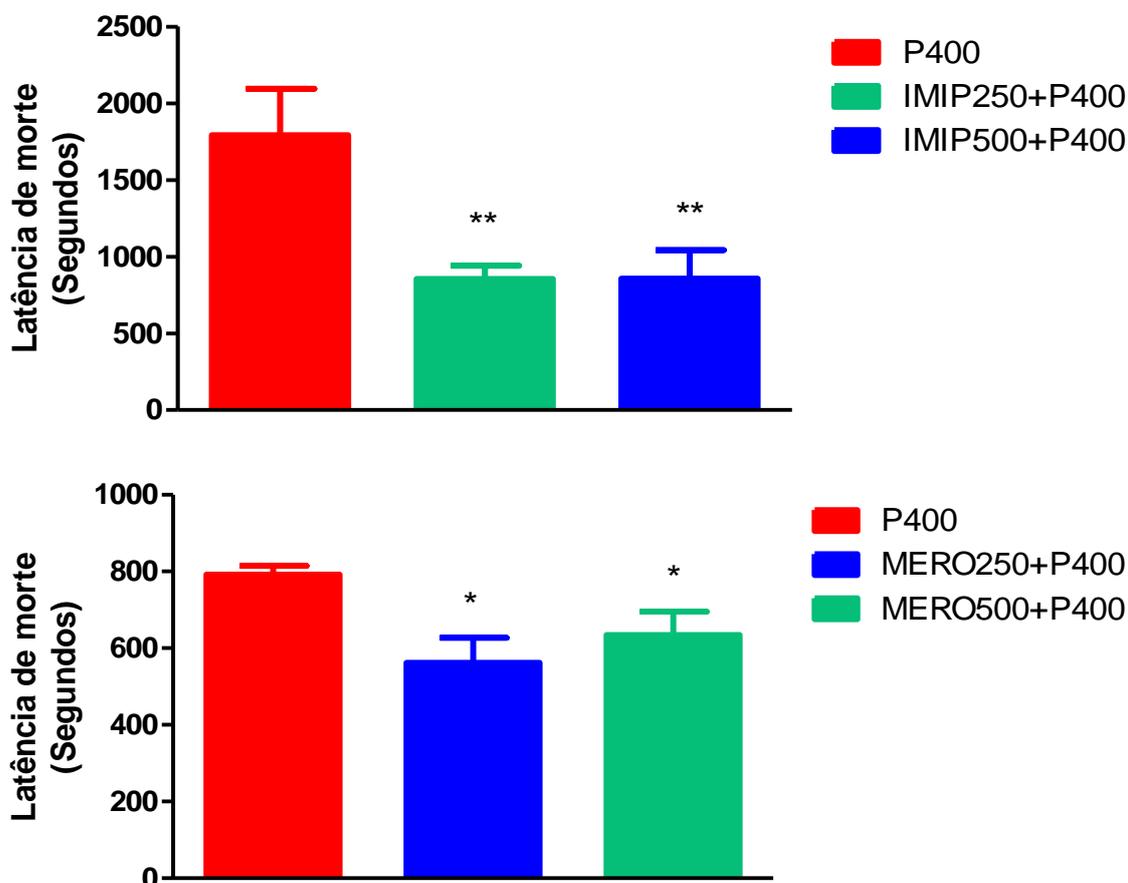


Figura 15. Latência de Morte após administração de pilocarpina(P400) em camundongos swiss machos pré-tratados com imipenem/cilastatina (IMIP 250+P400 e IMIP500+P400) ou meropenem(MERO 250+P400 e MERO500+P400).

Camundongos Swiss machos (29-34g) grupo P400 (animais pré-tratados com salina 0,9%, IV, após 10 minutos tratados com PTZ 55mg/Kg, i.p.) e grupos pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) ou meropenem(250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina (400mg/Kg, i.p.). Os animais foram submetidos a um período de 1 hora de observação. As barras representam média \pm E.P.M. . * $p < 0,05$ comparado ao grupo controle. ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 7. Efeitos do imipenem/cilastatina nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pilocarpina (P400) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + P400).

Alterações Comportamentais	P400	IMIP250+P400	IMIP500+P400	ácido valpróico +P400
Número de animais	18	18	18	6
ME**	100	100	100	100
SCP*	100	100	100	100
Convulsão %	100	100	100	33.3(3)
Latência de convulsão (min.)	771,6±36,84	520,3±25,52**	603,3±44,73**	961,4±119
Morte %	100	100	100	16,7(1)
Latência de morte	1792±302,5	855,1±85,56**	856,4±187,1**	2100±181,5

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem/cilastatina (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina (400mg/Kg, i.p.). O grupo P400 foi pré-tratado com salina (0,9%, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina (400mg/Kg, i.p.) e o grupo ác. valpróico 200+P400 (animais pré-tratados com ácido valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com pilocarpina 400mg/Kg, i.p.; n=6). Os animais foram submetidos a um período de 1 hora de observação. *SCP: Sinais colinérgicos periféricos: miose, piloereção, cromodacriorréia, salivação, diarreia, diurese, tremores. **ME: Movimentos estereotipados: aumento da atividade de roer, coçar, mastigar e o ato de sacudir. As barras representam média ± E.P.M. (P400, n=18; IMIP250+P400, n=18; IMIP500+P400, n=18). ** p<0,01 quando comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 8. Efeitos do meropenem nas alterações comportamentais e convulsões induzidas por pilocarpina (P400) em camundongos e ácido valpróico (ác. valpróico 200 + P400).

Alterações Comportamentais	P400	MERO250+P400	MERO500+P400	ác.valpróico 200+P400
Número de animais	15	15	15	6
ME**	100	100	100	100
SCP*	100	100	100	100
Convulsão %	100	100	100	33.3 (3)
Latência de convulsão (min.)	784,7 ±60,10	449,7 ±44,91***	535,5 ±35,76***	961,4±119
Morte %	100	100	100	16,7 (1)
Latência de morte	791,7±23,04	561,7±65,36*	634,3±61,21*	2100±181,5

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com meropenem (250 e 500mg/Kg,IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina (400mg/Kg, i.p.). O grupo P400 foi pré-tratado com salina (0,9%, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina (400mg/Kg, i.p.) e o grupo ác. valpróico 200+P400 (animais pré-tratados com ácido valpróico 200mg/Kg i.p. após 30 minutos tratados com pilocarpina 400mg/Kg, i.p.; n=6). Os animais foram submetidos a um período de 1 hora de observação. *SCP: Sinais colinérgicos periféricos: miose, piloereção, cromodacriorréia, salivação, diarreia, diurese, tremores. **ME: Movimentos estereotipados: aumento da atividade de roer, coçar, mastigar e o ato de sacudir. As barras representam média ± E.P.M. (P400, n=15; MERO250+P400, n=15; MERO500+P400, n=15). *** p<0,001 quando comparado ao grupo controle. * p<0,01 quando comparado ao grupo controle. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

6. Aspectos neuroquímicos – Aminoácidos. (HPLC)

6.1 Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da Pentilenotetrazol 55mg/kg (PTZ55).

6.1.1 Determinação dos níveis de aspartato

A figura 12 mostra os resultados da determinação dos níveis de aspartato no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado dos animais nos diversos grupos estudados. Houve diferenças significativas nos níveis de aspartato em duas áreas cerebrais dentre os diversos grupos estudados.

A administração do imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500), IV, 10 minutos antes do PTZ55, aumentou significativamente os níveis de aspartato no corpo estriado no grupo IMIP 250 +PTZ55 e IMIP500+PTZ55 comparado ao grupo controle *($p < 0,05$), e comparado ao grupo veículo ## ($p < 0,01$). Corpo estriado: [Veículo ($0,0904 \pm 0,0179$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,1177 \pm 0,0176$ /g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,1910 \pm 0,0215$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,2202 \pm 0,0238$ nmol/g de tecido)]. (Figura 16; Tabela 9)

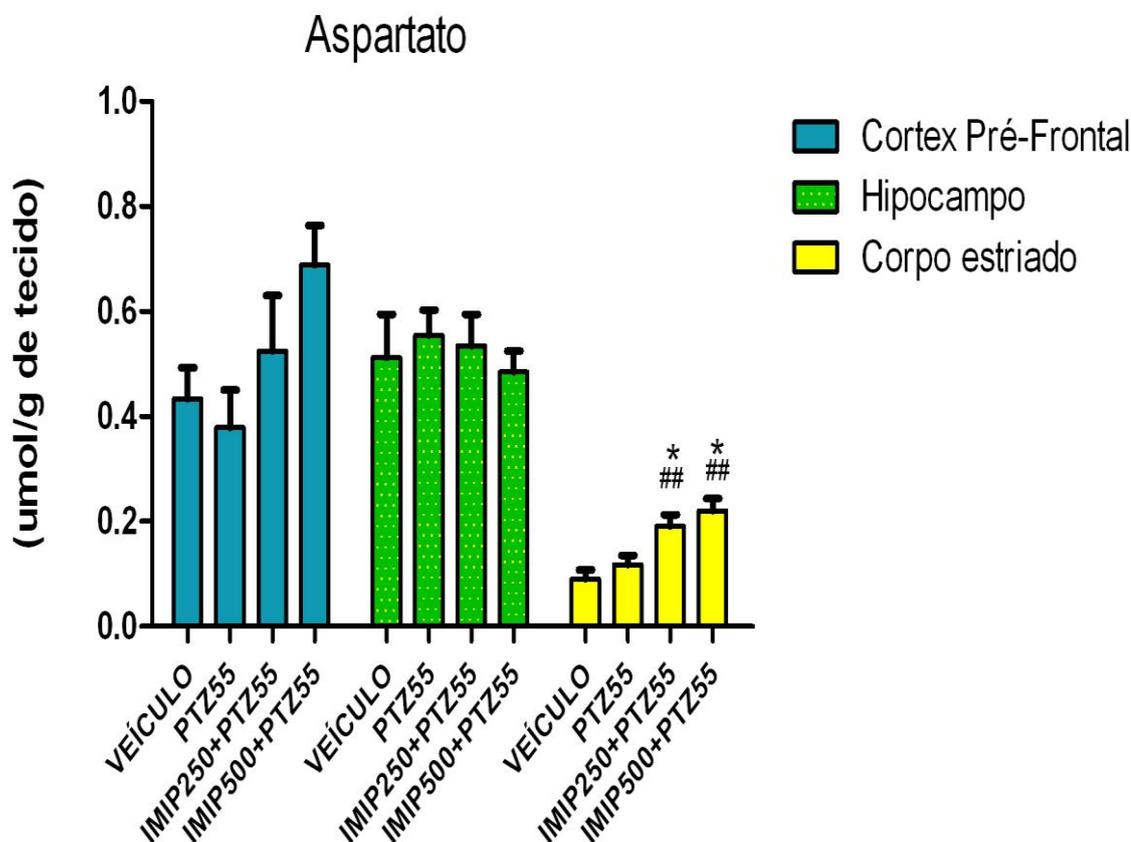


Figura 16. Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol 55 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pentilenotetrazol (PTZ55) ou solução salina 0,9% (Veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PTZ55); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de aspartato foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ## p<0,01; ###p<0,001

Tabela 9. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do aspartato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por PTZ 55 mg/kg (PTZ55).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex Pré- frontal</i>	
Veículo	0,4336±0,05944
Controle PTZ55	0,3787±0,07207
IMIP250+PTZ55	0,5248±0,1060
IMIP500+PTZ55	0,6886±0,07514
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,5124±0,08197
Controle PTZ55	0,5548±0,04838
IMIP250+PTZ55	0,5347±0,05966
IMIP500+PTZ55	0,4850±0,03982
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,09043±0,01790
Controle PTZ55	0,1177±0,01761
IMIP250+PTZ55	0,1910±0,02157* ##
IMIP500+PTZ55	0,2202±0,02380* ##

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pentilenotetrazol (55mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ## p<0,01.

6.1.2 *Determinação dos níveis de glutamato*

A figura 12 mostra os resultados da determinação dos níveis de glutamato no córtex pré-frontal (CPF), hipocampo (HC) e corpo estriado (CE) dos animais nos diversos grupos estudados.

A administração do imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500), IV, 10 minutos antes do PTZ55, aumentou significativamente os níveis de glutamato no córtex pré-frontal do grupo IMIP 250 +PTZ55 e IMIP500+PTZ55 comparado ao grupo controle PTZ55 * ($p < 0,05$), e comparado ao grupo veículo ### ($p < 0,001$) e no grupo controle (PTZ55), comparado ao grupo veículo # ($p < 0,05$). Pré-frontal: [Veículo ($0,2197 \pm 0,0751$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($1,469 \pm 0,1844$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($1,311 \pm 0,2024$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,9155 \pm 0,1749$ nmol/g de tecido)]. (Figura 17; Tabela 10).

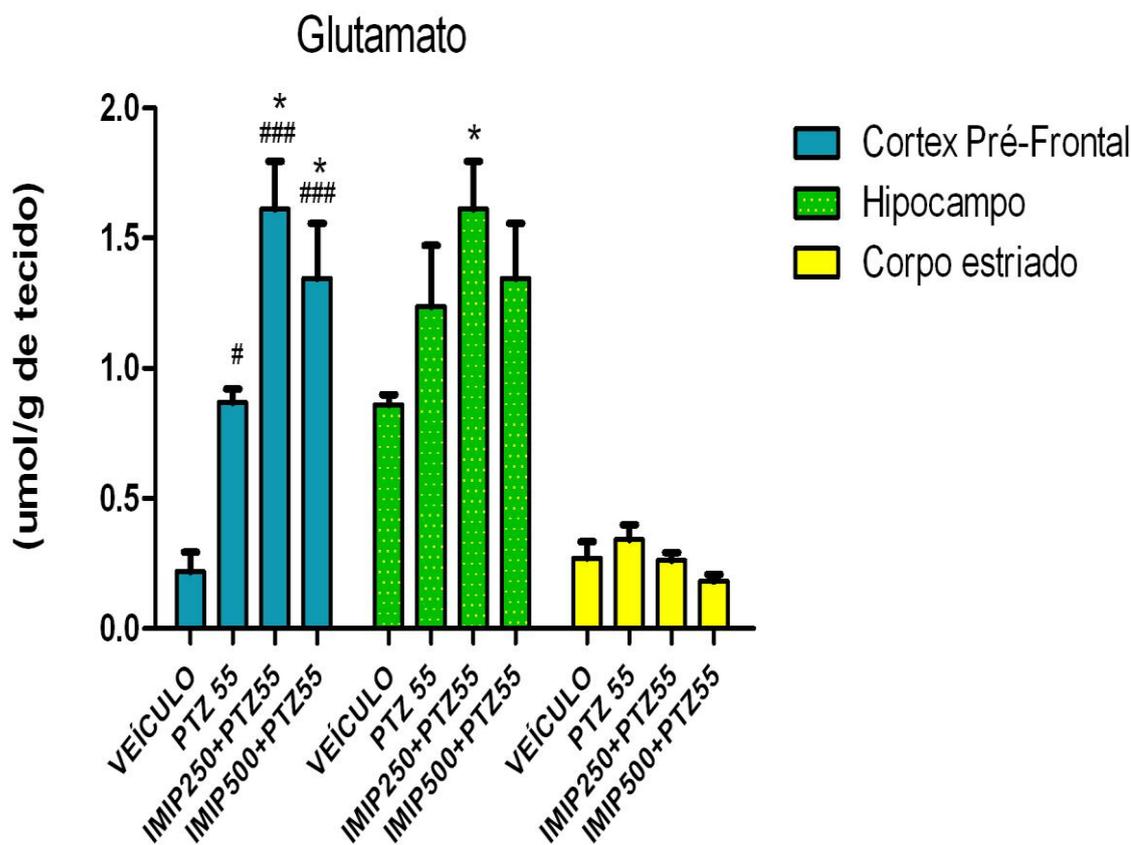


Figura 17. Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol 55 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pentilenotetrazol (PTZ55) ou solução salina 0,9% (Veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PTZ55); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glutamato foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; # p<0,05; ###p<0,01.

Tabela 10. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do glutamato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2197± 0,07518
Controle PTZ55	0,8687±0,05249#
IMIP250+PTZ55	1,612±0,183 *###
IMIP500+PTZ55	1,346±0,2114 *###
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,8605±0,03786
Controle PTZ55	1,238±0,2342
IMIP250+PTZ55	1,612±0,1831 *
IMIP500+PTZ55	1,346±0,2114
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,2715±0,06251
Controle PTZ55	0,3432±0,05524
IMIP250+PTZ55	0,2624± 0,02941
IMIP500+PTZ55	0,1829±0,02684

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), e após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pentilenotetrazol (55mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; # p<0,05; ###p<0, 001

6.1.3 *Determinação dos níveis de glicina*

A figura 18 mostra que não houve alteração significativa nos níveis de glicina nas três áreas cerebrais. Pré-frontal: [(Veículo ($0,0150 \pm 0,0054$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,0345 \pm 0,0132$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($1,377 \pm 0,1023$ nmol/g de tecido) e PTZ500+PTZ55 ($0,3320 \pm 0,1029$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [(Veículo ($0,04955 \pm 0,007067$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,03459 \pm 0,009328$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,05794 \pm 0,01395$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,7623 \pm 0,07986$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [(Veículo ($0,06703 \pm 0,009347$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,06707 \pm 0,01322$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,1743 \pm 0,01929$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,2789 \pm 0,04186$ nmol/g de tecido)]. (Tabela 11).

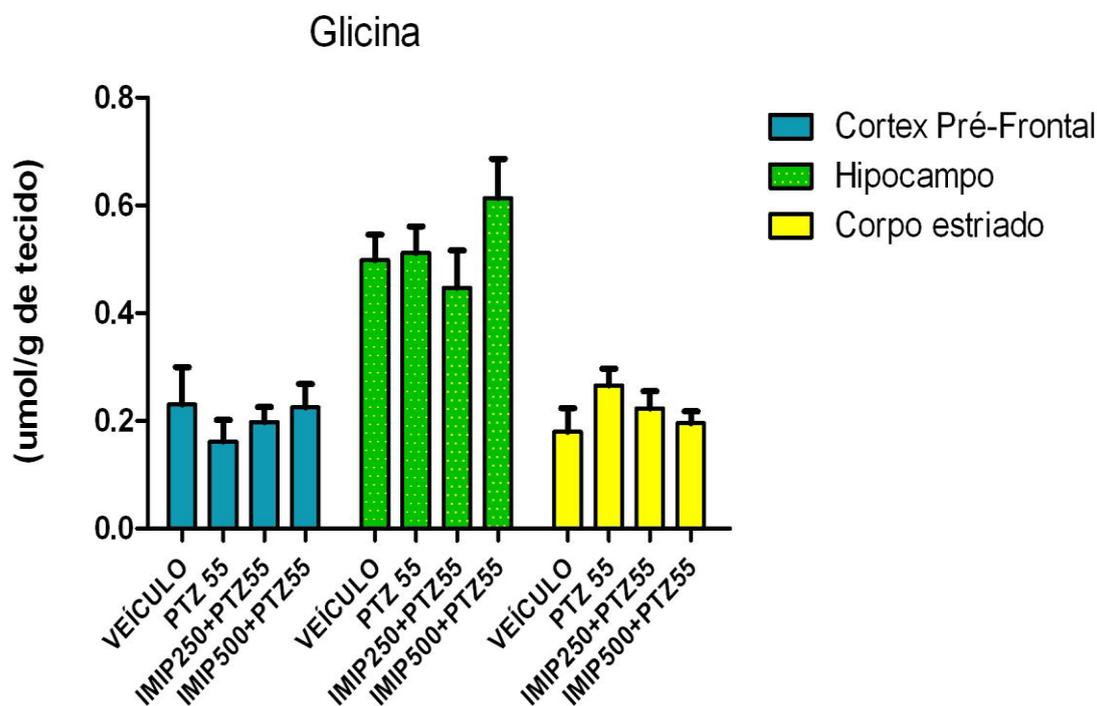


Figura 16. Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol 55 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pentilenotetrazol (PTZ55) ou solução salina 0,9% (veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PTZ55); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glicina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 11. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração da glicina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por PTZ 55 mg/kg (PTZ55).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,01509 ± 0,005424
Controle PTZ55	0,03451 ± 0,01327
IMIP250+PTZ55	1,377 ± 0,1023
IMIP500+PTZ55	0,3320 ± 0,1029
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,04955 ± 0,007067
Controle PTZ55	0,03459 ± 0,009328
IMIP250+PTZ55	0,05794 ± 0,01395
IMIP500+PTZ55	0,7623 ± 0,07986
<i>Núcleos da base</i>	
Veículo	0,06703 ± 0,009347
Controle PTZ55	0,06707 ± 0,01322
IMIP250+PTZ55	0,1743 ± 0,01929
IMIP500+PTZ55	0,2789 ± 0,04186

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pentilenotetrazol (55mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*).

6.1.4 *Determinação dos níveis de taurina*

A figura 19 mostra uma redução significativa ($p < 0,001$) nos níveis de taurina nos grupos pré-tratados com imipenem nas duas doses estudadas (IMIP+PTZ55 e PTZ500+PTZ55) em relação ao grupo controle (PPTZ55) no córtex pré-frontal. No hipocampo houve também uma diminuição significativa com os grupos que receberam imipenem nas duas doses em relação ao grupo veículo. (pré-tratado com salina 0,9%, IV e após 10 minutos tratados com solução salina 0,9%, i.p.). Pré-frontal: [(Veículo ($0,2539 \pm 0,06098$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,4510 \pm 0,02895$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,1222 \pm 0,04962$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,1293 \pm 0,03647$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [(Veículo ($0,3610 \pm 0,05363$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,2725 \pm 0,04704$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,1040 \pm 0,03148$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,09588 \pm 0,01362$ nmol/g de tecido)]. (Tabela 12).

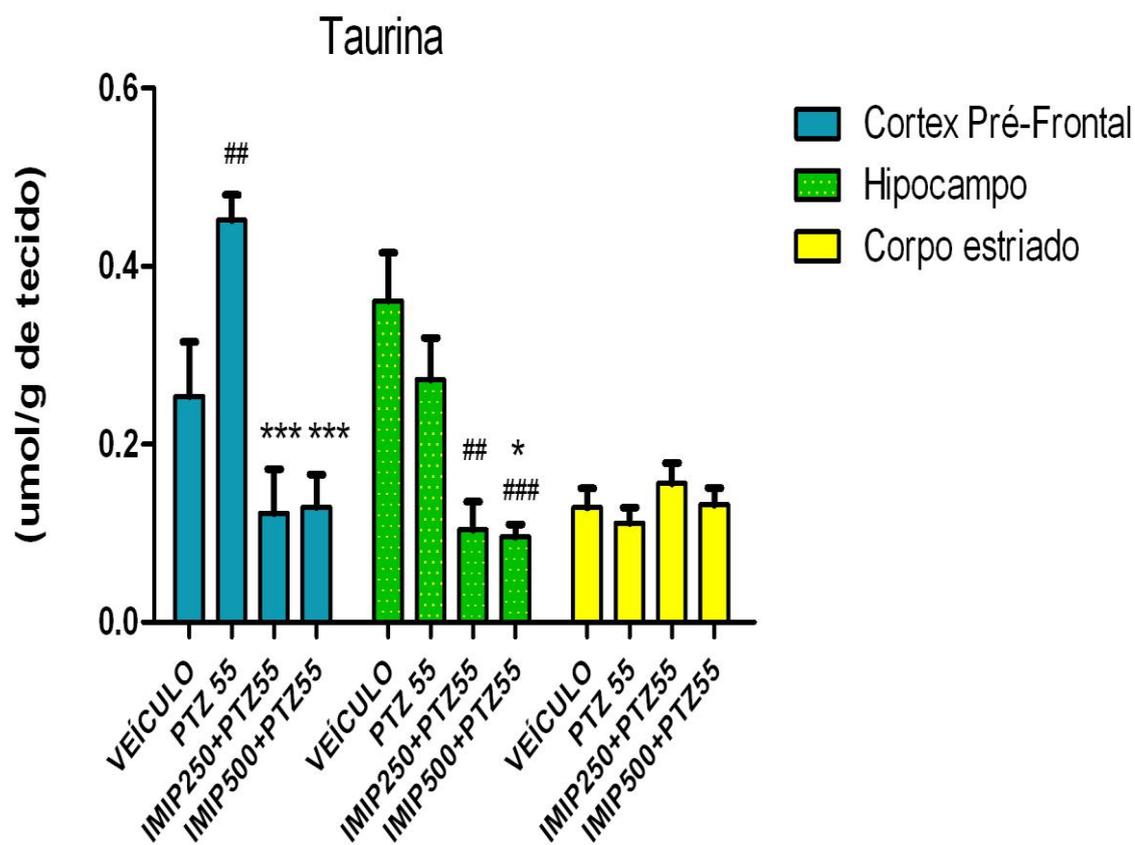


Figura 19. Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol 55 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pentilenotetrazol (PTZ55) ou solução salina 0,9% (Veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PTZ55); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de taurina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ***p<0,001; ## p<0,01; ###p<0,001

Tabela 12. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração da taurina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2539±0,06098
Controle PTZ55	0,4510±0,02895##
IMIP250+PTZ55	0,1222±0,04962***
IMIP500+PTZ55	0,1293±0,03647***
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,3610±0,05363
Controle PTZ55	0,2725±0,04704
IMIP250+PTZ55	0,1040±0,03148##
IMIP500+PTZ55	0,09588±0,01362* ###
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,1290±0,02137
Controle PTZ55	0,1114±0,01716
IMIP250+PTZ55	0,1555± 0,02317
IMIP500+PTZ55	0,1316±0,01911

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pentilenotetrazol (55mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ***p<0,001; ## p<0,01; ###p<0,001

6.1.5 Determinação dos níveis de gaba

Conforme os resultados obtidos e demonstrados através da figura 20 há uma redução significativa nos níveis de gaba no grupo PTZ55 (pentilenotetrazol, 55mg/Kg, i.p.) quando comparado com o grupo veículo, no hipocampo (HC) e corpo estriado (CE). Os níveis de gaba reduziram significativamente ($p < 0,001$) nos grupos pré-tratados com Imipenem nas duas doses estudadas (IMIP+ PTZ55 e PTZ500+PTZ55) quando comparado com os grupo veículo nas três áreas cerebrais. Pré-frontal: [(Veículo ($0,2746 \pm 0,06112$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,1696 \pm 0,04025$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,04290 \pm 0,01301$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,04808 \pm 0,01336$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [(Veículo ($0,3881 \pm 0,05315$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,1678 \pm 0,02487$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,02919 \pm 0,005914$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,05765 \pm 0,01340$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [(Veículo ($0,2236 \pm 0,02727$ nmol/g de tecido); PTZ55 ($0,06500 \pm 0,01209$ nmol/g de tecido); IMIP250+PTZ55 ($0,04113 \pm 0,01204$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PTZ55 ($0,03809 \pm 0,008368$ nmol/g de tecido)].(Tabela 13).

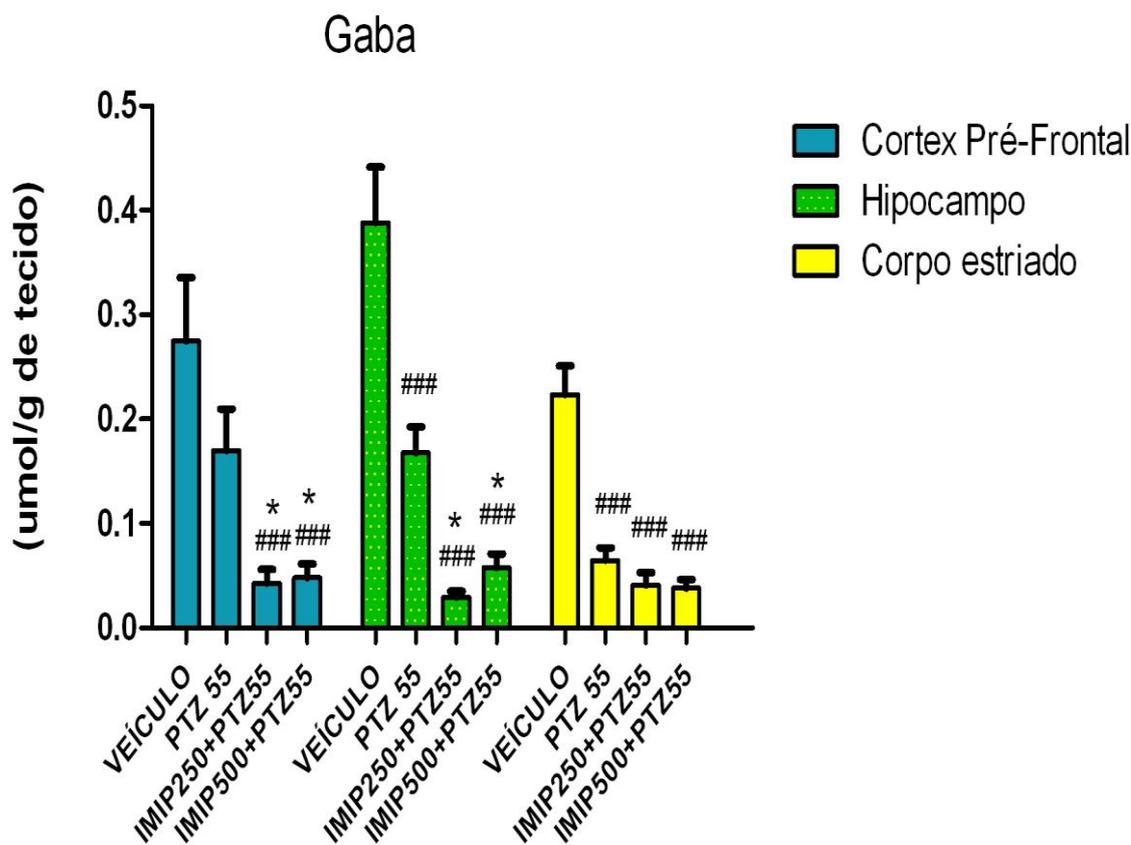


Figura 20. Efeitos sobre as concentrações de gaba (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pentilenotetrazol.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pentilenotetrazol 55 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pentilenotetrazol (PTZ55) ou solução salina 0,9% (veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PTZ55); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de gaba foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ###p<0,001

Tabela 13. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do gaba em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pentilenotetrazol 55 mg/kg (PTZ55).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Normal	0,2746±0,06112
Controle PTZ55	0,1696±0,04025
IMIP250+PTZ55	0,04290±0,01301* ###
IMIP500+PTZ55	0,04808±0,01336* ###
<i>Hipocampo</i>	
<i>Normal</i>	<i>0,3881±0,05315</i>
<i>Controle PTZ55</i>	<i>0,1678±0,02487###</i>
<i>IMIP250+PTZ55</i>	<i>0,02919±0,005914* ###</i>
<i>IMIP500+PTZ55</i>	<i>0,05765±0,01340* ###</i>
<i>Corpo estriado</i>	
Normal	0,2236±0,02727
Controle PTZ55	0,06500±0,01209###
MIP250+PTZ55	0,04113± 0,01204###
IMIP500+PTZ55	0,03809±0,008368###

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pentilenotetrazol (55mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ###p<0, 001.

6.2 Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da Picrotoxina 10mg/kg (PICRO10).

6.2.1 Determinação dos níveis de aspartato

De acordo com a figura 21 observamos no córtex pré-frontal um aumento significativo nos níveis de aspartato no grupo controle PICRO10 (picrotoxina, 10mg/Kg, i.p.) e no grupo IMIP250+PICRO10 quando comparado com o grupo veículo (salina 0,9%). Os níveis de aspartato no grupo IMIP500+PICRO10 permaneceram próximos dos níveis do grupo veículo. No hipocampo houve um aumento significativo dos níveis de aspartato nos grupos que receberam o Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500), quando comparado ao controle ($p < 0,05$). Pré-frontal: [Veículo ($0,5486 \pm 0,08489$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,8091 \pm 0,04229$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,7708 \pm 0,06007$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,6298 \pm 0,02942$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [Veículo ($0,3679 \pm 0,06661$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,1676 \pm 0,03746$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,3752 \pm 0,05495$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,4166 \pm 0,04634$ nmol/g de tecido)]. (Tabela14).

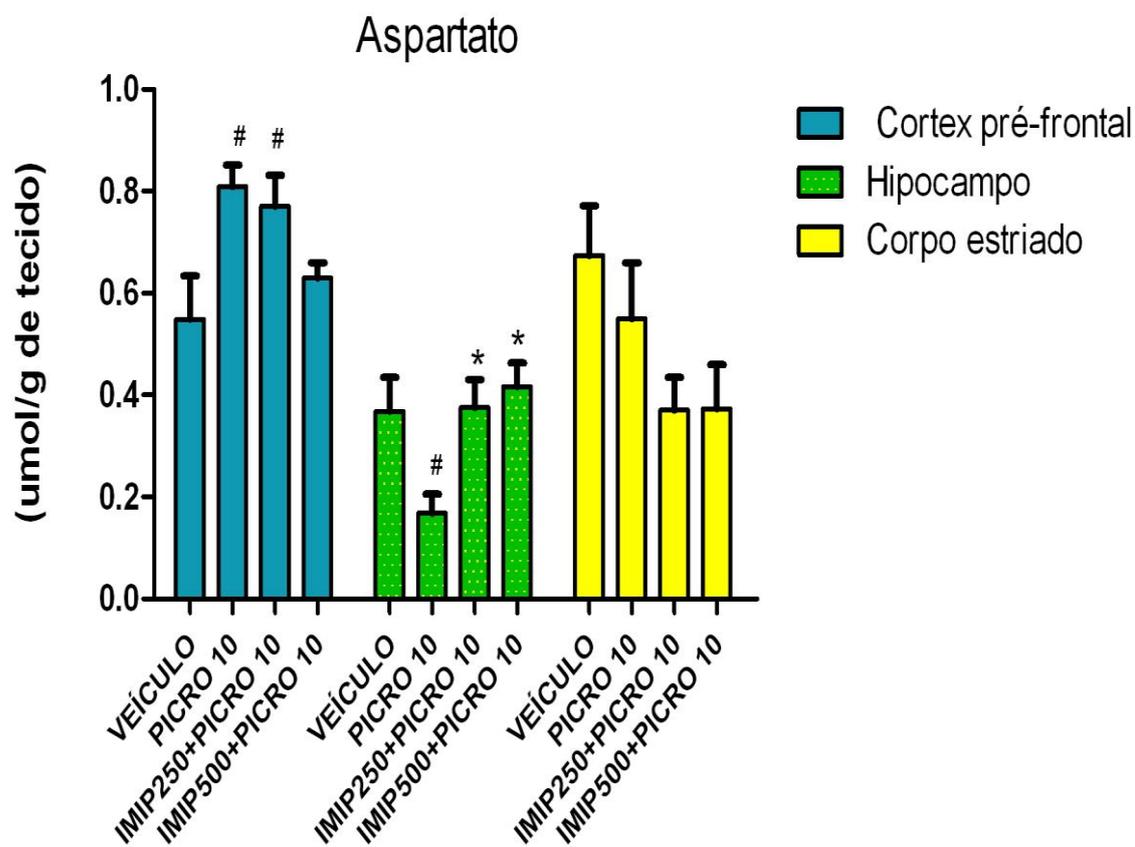


Figura 21. Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina 10 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, picrotoxina (PICRO10) ou solução salina 0,9% (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PICRO10); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de gaba foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; # p<0,05; ###p<0,001

Tabela 14. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do aspartato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,5486±0,08489
Controle PICRO10	0,8091±0,04229#
IMIP250+PICRO10	0,7708±0,06007##
IMIP500+PICRO10	0,6298±0,02942
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,3679±0,06661
Controle PICRO10	0,1676±0,03746#
IMIP250+PICRO10	0,3752±0,05495*
IMIP500+PICRO10	0,4166±0,04634*
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,6738±0,09714
Controle PICRO10	0,5494±0,1102
IMIP250+PICRO10	0,3708± 0,06347
IMIP500+PICRO10	0,3727±0,08702

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de picrotoxina (10mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; # p<0,05; ##p<0,01.

6.2.2 Determinação dos níveis de glutamato

Observamos no hipocampo um aumento significativo nos níveis de glutamato nos grupos pré-tratados Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500), quando comparado com o grupo controle PICRO 10. No corpo estriado o grupo IMIP250+PICRO10 aumentou significativamente os níveis de glutamato, quando comparado ao controle PICRO10 (**p<0,001) e quando comparado veículo(### p<0,001). Pré-frontal: [Veículo (0,1605±0,01160 nmol/g de tecido); PICRO10 (0,2007±0,03340nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 (0,2859±0,02924 nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 (0,2421±0,03459nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [Veículo (0,5090±0,1290 nmol/g de tecido); PICRO10 (0,3299±0,08376 nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 (0,7042±0,08985 nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 (0,7647±0,03383 nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo (0,2715±0,06251 nmol/g de tecido); PICRO10 (0,4982±0,05984 nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 (0,4772±0,05500 nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 (1,783±0,2369 nmol/g de tecido)]. (Figura 22; Tabela 15).

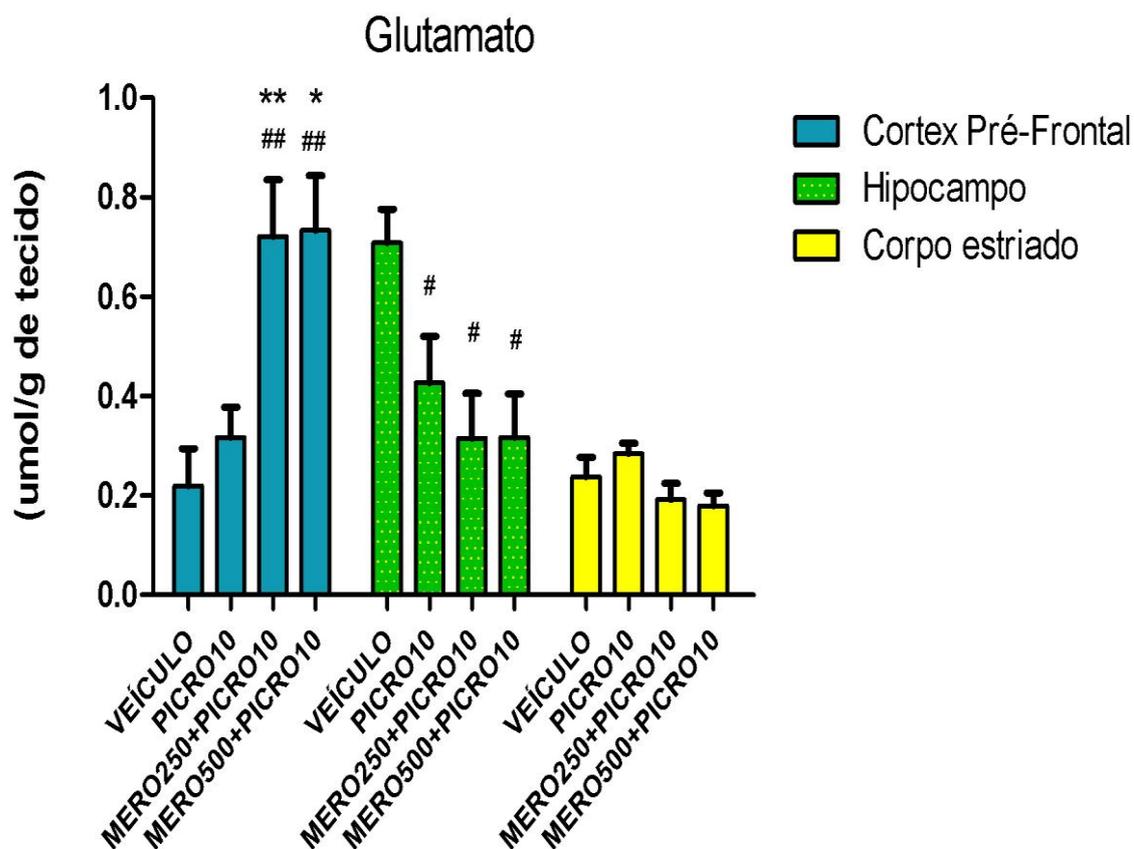


Figura 22. Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina 10 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, picrotoxina (PICRO10) ou solução salina 0,9% (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PICRO10); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glutamato foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; # p<0,05; ## p< 0,01.

Tabela 15. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do glutamato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,1605±0,01160
Controle PICRO10	0,2007±0,03340
IMIP250+PICRO10	0,2859±0,02924#
IMIP500+PICRO10	0,2421±0,03459
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,5090±0,1290
Controle PICRO10	0,3299±0,08376
IMIP250+PICRO10	0,7042±0,08985*
IMIP500+PICRO10	0,7647±0,03383*
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,2715±0,06251
Controle PICRO10	0,4982±0,05984
IMIP250+PICRO10	0,4772± 0,05500
IMIP500+PICRO10	1,783±0,2369*** ###

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de picrotoxina (10mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ***p<0, 001# p<0,05; ###p<0, 001

6.2.3 Determinação dos níveis de glicina

Como podemos observar não houve uma alteração significativa nos níveis de glicina nos grupos pré-tratados com Imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500). Pré-frontal: [Veículo ($0,4986 \pm 0,04720$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,5114 \pm 0,04972$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,4468 \pm 0,06963$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,6134 \pm 0,07298$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [Veículo ($0,2789 \pm 0,04186$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,3451 \pm 0,03620$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,3754 \pm 0,02674$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,4173 \pm 0,02919$ nmol/g de tecido)].

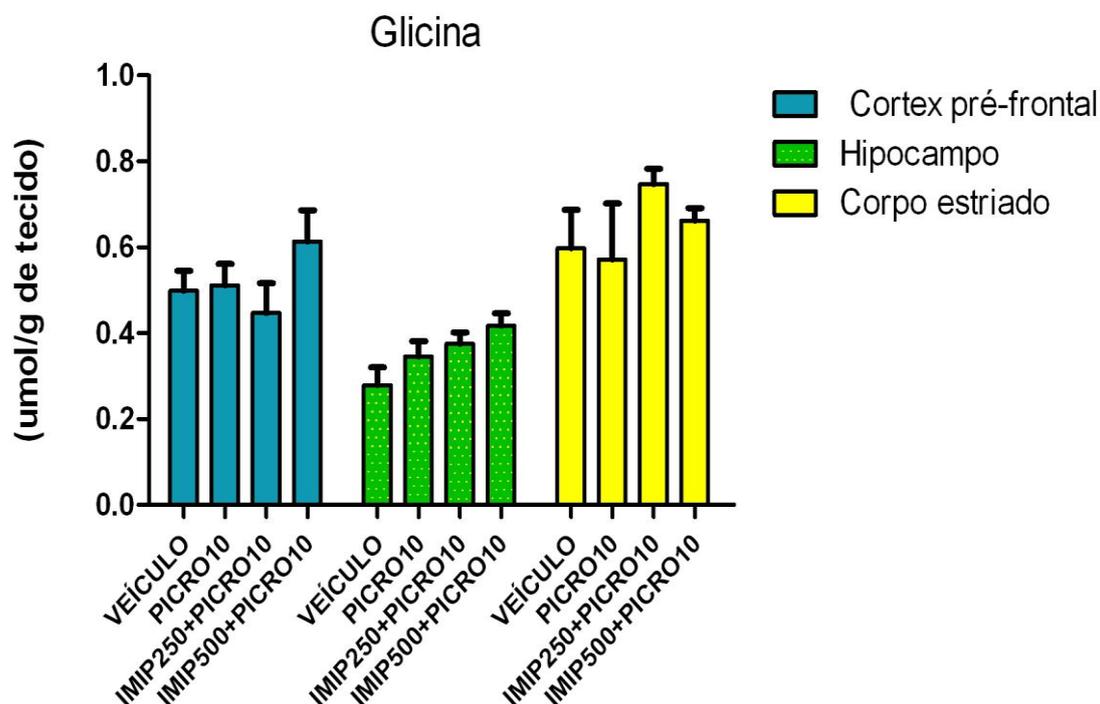


Figura 26. Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina 10 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, picrotoxina (PICRO10) ou solução salina 0,9% (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PICRO10); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glicina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 21. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do glicina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Cortex pré- frontal</i>	
Veículo	0,4986±0,04720
Controle PICRO10	0,5114±0,04972
IMIP250+PICRO10	0,4468±0,06963
IMIP500+PICRO10	0,6134±0,07298
<i>Hipocampo</i>	
Normal	0,2789±0,04186
Controle PICRO10	0,3451±0,03620
IMIP250+PICRO10	0,3754±0,02674
IMIP500+PICRO10	0,4173±0,02919
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,5976±0,08963
Controle PICRO10	0,5716±0,1303
IMIP250+PICRO10	0,7473± 0,03534
IMIP500+PICRO10	0,6622±0,02929

Camundongos swiss machos foram tratados *imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV)*, após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de picrotoxina (10mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*).

Determinação dos níveis de taurina

De acordo com a figura observamos uma redução nos níveis de taurina hipocampal, quando comparado com o grupo Veículo (### $p < 0,001$). Os níveis de taurina no corpo estriado foram aumentados de forma significativa nos grupos IMIP250+PICRO10 e IMIP500+PICRO10, quando comparados ao grupo controle PICRO10 (** $p < 0,01$) e Veículo (### $p < 0,001$) Hipocampo: [Veículo ($1,111 \pm 0,169$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,1238 \pm 0,02992$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,1415 \pm 0,04202$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,2714 \pm 0,1208$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo ($0,1790 \pm 0,04080$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,1381 \pm 0,03850$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,6800 \pm 0,1218$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,4899 \pm 0,05727$ nmol/g de tecido)]. (Figura 24; Tabela 17).

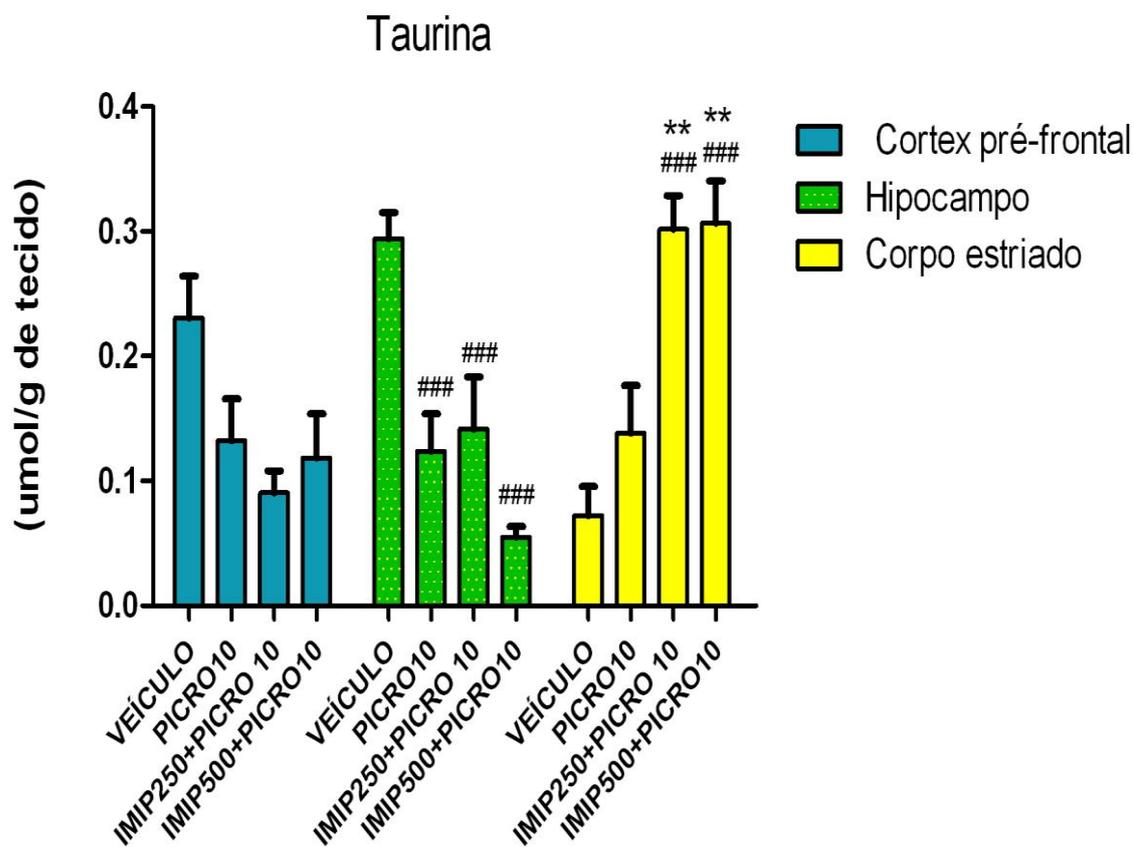


Figura 24. Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina 10 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, picrotoxina (PICRO10) ou solução salina 0,9% (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PICRO10); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de taurina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: **p<0,01; ###p<0,001

Tabela 17. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do taurina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2306±0,06902
Controle PICRO10	0,1321±0,03368
IMIP250+PICRO10	0,09057±0,01769
IMIP500+PICRO10	0,1185±0,03539
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	1,111±0,1692
Controle PICRO10	0,1238±0,02992###
IMIP250+PICRO10	0,1415±0,04202###
IMIP500+PICRO10	0,2714±0,1208###
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,1790±0,04080
Controle PICRO10	0,1381±0,03850
IMIP250+PICRO10	0,6800± 0,1218** ###
IMIP500+PICRO10	0,4899±0,05727** ###

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de picrotoxina (10mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: **p<0,01; ###p<0, 001.

6.2.4 Determinação dos níveis de gaba

De acordo com a figura 25 observamos uma redução expressiva nos níveis de gaba nos grupos que receberam Imipenem (250 e 500mg/Kg) nas três áreas cerebrais, quando comparado com o grupo Veículo (### $p < 0,001$). Corpo estriado: [Veículo ($0,2746 \pm 0,06112$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,1818 \pm 0,04330$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,1207 \pm 0,04035$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,07643 \pm 0,01356$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [Veículo ($1,471 \pm 0,2965$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($1,137 \pm 0,2310$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,1368 \pm 0,04169$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,1330 \pm 0,05903$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo ($0,2236 \pm 0,02727$ nmol/g de tecido); PICRO10 ($0,1938 \pm 0,03047$ nmol/g de tecido); IMIP250+PICRO10 ($0,05372 \pm 0,02532$ nmol/g de tecido) e IMIP500+PICRO10 ($0,07636 \pm 0,01922$ nmol/g de tecido)]. (Tabela 18).

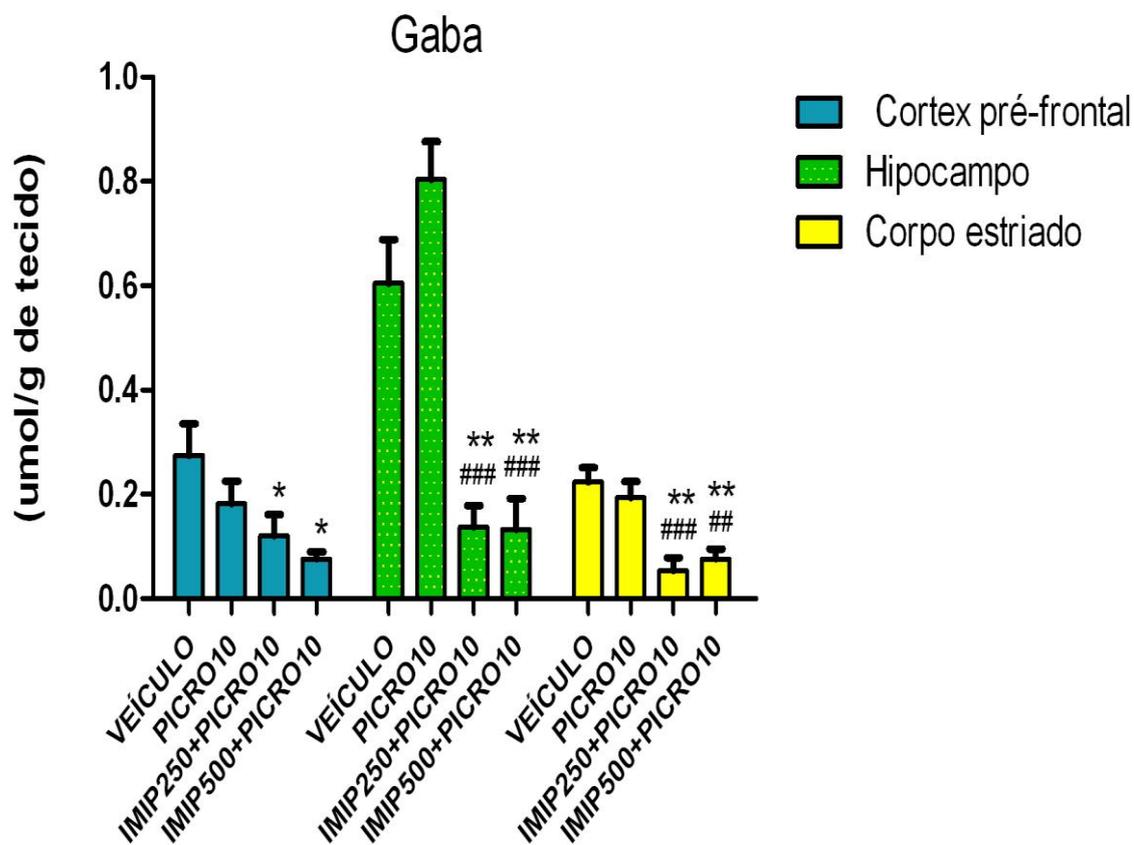


Figura 25. Efeitos sobre as concentrações de gaba (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por picrotoxina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com picrotoxina 10 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, picrotoxina (PICRO10) ou solução salina 0,9% (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (PICRO10); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de gaba foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: **p<0,01; ## p< 0,01; ###p<0,001.

Tabela 18. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do gaba em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por picrotoxina 10 mg/kg (PICRO10).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2746±0,06112
Controle PICRO10	0,1818±0,04330
IMIP250+PICRO10	0,1207±0,04035*
IMIP500+PICRO10	0,07643±0,01356*
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	1,471±0,2965
Controle PICRO10	1,137±0,2310
IMIP250+PICRO10	0,1368±0,0416** ###
IMIP500+PICRO10	0,1330±0,05903** ###
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,2236±0,02727
Controle PICRO10	0,1938±0,03047
IMIP250+PICRO10	0,05372± 0,02532** ###
IMIP500+PICRO10	0,07636±0,01922** ##

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de picrotoxina (10mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; ## p< 0,01; ###p<0,001.

6.3 Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da Estricnina 2mg/Kg (ESTRIC2).

6.3.1 Determinação dos níveis de aspartato

Observamos no corpo estriado um aumento significativo nos níveis de aspartato nos grupo IMIP 250+ ESTRIC2, quando comparado com o grupo salina (veículo). Houve uma elevação significativa nos níveis de aspartato no grupo IMIP500+ESTRIC2, quando comparado ao controle ESTRIC2 (**p<0, 001) e quando comparado veículo (### p<0, 001). No córtex pré-frontal os grupos ESTRIC2, IMIP 250+ ESTRIC2, IMIP500+ESTRIC2 mantiveram seus níveis de aspartato próximos ao do grupo veículo (salina 0,9%). Pré-frontal: [Veículo (0,4986 ± 0,04720 nmol/g de tecido); ESTRIC2 (0,5114 ± 0,04972 nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 (0,4468 ± 0,06963 nmol/g de tecido) e IMIP500+ ESTRIC2 (0,6134 ± 0,07298 nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo (0,0904 ± 0, 01790 nmol/g de tecido); ESTRIC2 (0,2205 ± 0,01784nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 (0,2613 ± 0,03061nmol/g de tecido) e IMIP500+ ESTRIC2 (0,3978 ± 0,02813 nmol/g de tecido)]. (Figura 26; Tabela 19).

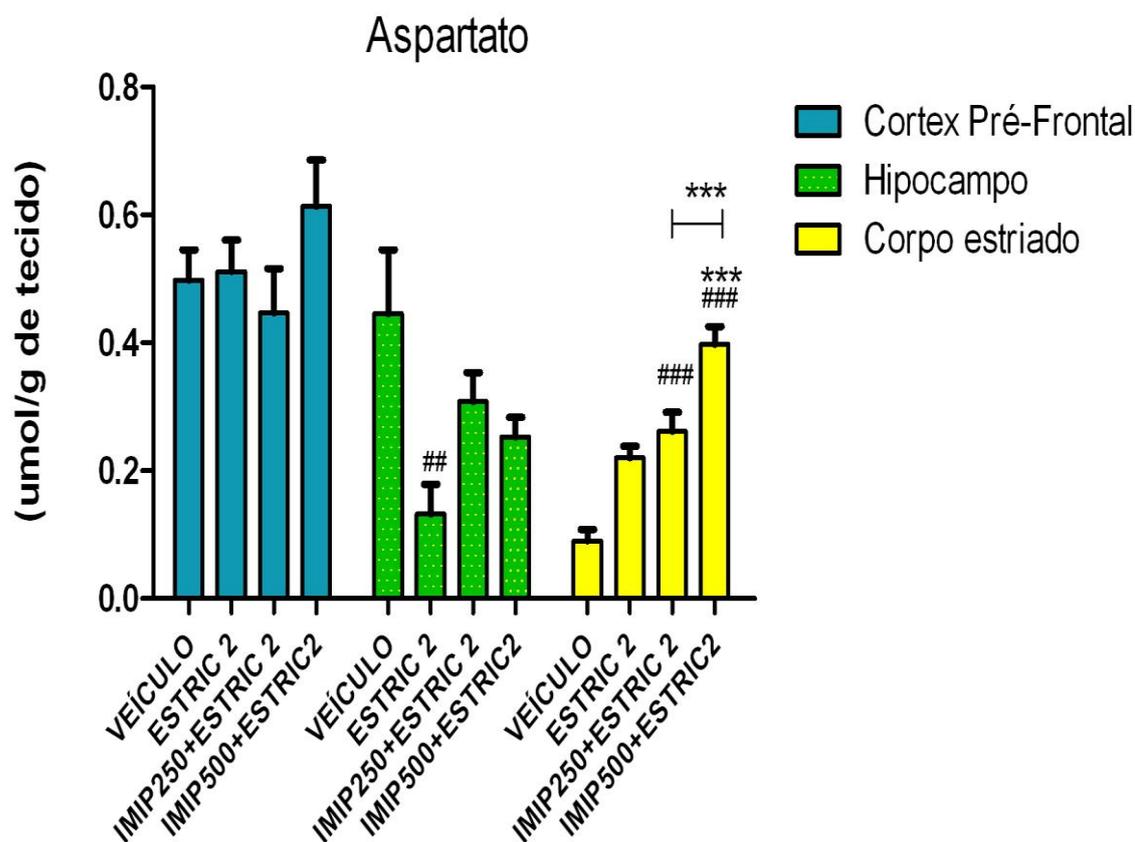


Figura 26. Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por Estricnina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estricnina 2 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, Estricnina (ESTRIC2) ou solução salina 0,9% (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (ESTRIC2); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de aspartato foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: ***p<0,001; ## p<0,01; ###p<0,001.

Tabela 19. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do aspartato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por Estricnina 2 mg/kg (ESTRIC2).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Cortex pré- frontal</i>	
Veículo	0,4986 ± 0,04720
Controle ESTRIC2	0,5114 ± 0,04972
IMIP250+ESTRIC2	0,4468 ± 0,06963
IMIP500+ESTRIC2	0,6134 ± 0,07298
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,4457 ± 0,09969
Controle ESTRIC2	0,1322 ± 0,04686 ##
IMIP250+ESTRIC2	0,3084 ± 0,04522
IMIP500+ESTRIC2	0,2527 ± 0,03108
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,09043 ± 0,01790
Controle ESTRIC2	0,2205 ± 0,01784
IMIP250+ESTRIC2	0,2613 ± 0,03061###
IMIP500+ESTRIC2	0,3978 ± 0,02813*** ###

Camundongos swiss machos foram *tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina* (0,9%, IV), e após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de estricnina (2mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *** p< 0, 001; ## p< 0,01; ###p<0, 001.

Determinação dos níveis de glutamato

Os níveis estriatais de glutamato aumentaram significativamente nos grupos controle ESTRIC2, IMIP 250+ ESTRIC2 e IMIP500 +ESTRIC2, quando comparado com o grupo salina 0,9% (veículo). Os níveis de aspartato no córtex pré-frontal dos grupos pré-tratados com Imipenem (250 ou 500mg/kg) permaneceram próximos ao grupo veículo (salina 0,9%). Pré-frontal: [Veículo ($0,1797 \pm 0,04371$ nmol/g de tecido); ESTRIC2 ($0,2655 \pm 0,03156$ nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 ($0,2229 \pm 0,03212$ nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 ($0,1960 \pm 0,02181$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo ($0,1324 \pm 0,004865$ nmol/g de tecido); ESTRIC2 ($0,2485 \pm 0,01406$ nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 ($0,2663 \pm 0,03699$ nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 ($0,2357 \pm 0,03432$ nmol/g de tecido)]. (Figura 27; Tabela 20).

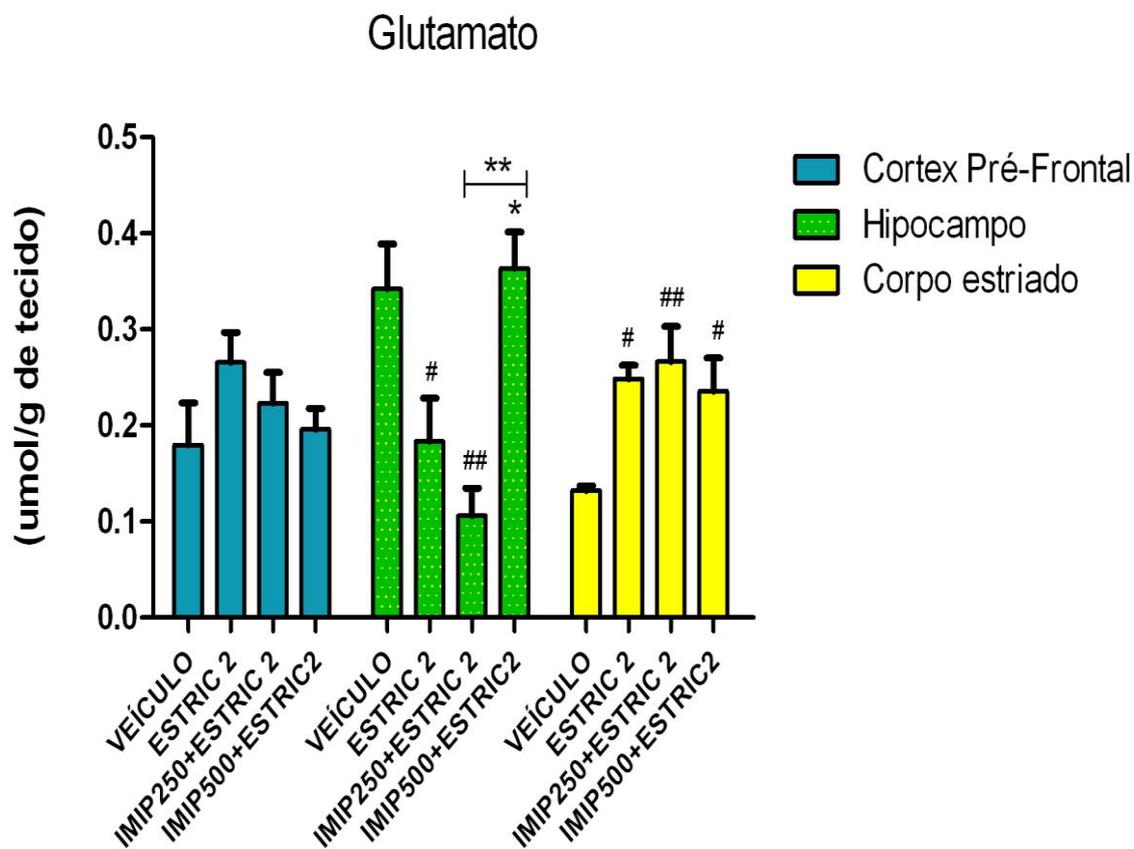


Figura 27. Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por stricnina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estriçnina 2 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, estriçnina (ESTRIC2) ou solução salina 0,9% (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (ESTRIC2); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glutamato foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; # p<0,05; ## p< 0,01.

Tabela 20. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do glutamato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriçnina 2 mg/kg (ESTRIC2).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,1797 ± 0,04371
Controle ESTRIC2	0,2655 ± 0,03156
IMIP250+ESTRIC2	0,2229 ± 0,03212
IMIP500+ESTRIC2	0,1960 ± 0,02181
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,3423 ± 0,04658
Controle ESTRIC2	0,1835 ± 0,04493#
IMIP250+ESTRIC2	0,1061 ± 0,02878##
IMIP500+ESTRIC2	0,3635 ± 0,03783*
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,1324 ± 0,004865
Controle ESTRIC2	0,2485 ± 0,01406#
IMIP250+ESTRIC2	0,2663 ± 0,03699##
IMIP500+ESTRIC2	0,2357 ± 0,03432*

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de estriçnina (2mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; # p<0,05; ## p< 0,01.

Determinação dos níveis de glicina

Conforme os resultados obtidos e demonstrados através da figura 28 há uma redução significativa nos níveis hipocampais de glicina nos grupos IMIP 250+ ESTRIC2 e IMIP500 +ESTRIC2, quando comparado com o grupo controle (ESTRIC2), $p < 0,01$. Hipocampo: [Veículo ($0,4530 \pm 0,03578$ nmol/g de tecido); ESTRIC2 ($0,3819 \pm 0,02625$ nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 ($0,2290 \pm 0,03306$ nmol/g de tecido) e IMIP500+ ESTRIC2 ($0,3114 \pm 0,01823$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo ($0,2789 \pm 0,04186$ nmol/g de tecido); ESTRIC2 ($0,3451 \pm 0,03620$ nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 ($0,3754 \pm 0,02674$ nmol/g de tecido) e IMIP500+ ESTRIC2 ($0,4173 \pm 0,02919$ nmol/g de tecido)].

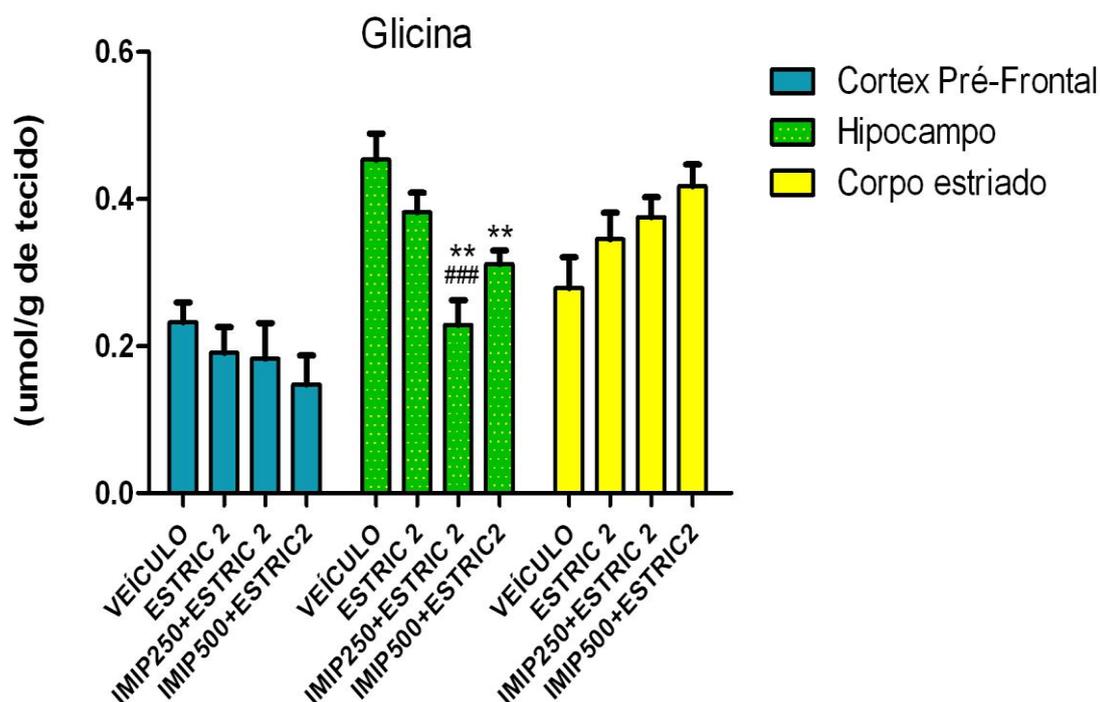


Figura 31. Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por Estricnina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estricnina 2 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, estricnina (ESTRIC2) ou solução salina 0,9% (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (ESTRIC2); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glicina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: **p<0,01; ###p<0,001.

Tabela 26. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da glicina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriquina 2 mg/kg (ESTRIC2).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2320± 0,02720
Controle ESTRIC2	0,1909± 0,03497
IMIP250+ESTRIC2	0,1829±0,04844
IMIP500+ESTRIC2	0,1475 ± 0,03977
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,4530± 0,03578
Controle ESTRIC2	0,3819± 0,02625
IMIP250+ESTRIC2	0,2290± 0,03306 ### **
IMIP500+ESTRIC2	0,3114± 0,01823**
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,2789± 0,04186
Controle ESTRIC2	0,3451± 0,03620
IMIP250+ESTRIC2	0,3754± 0,02674
IMIP500+ESTRIC2	0,4173± 0,02919

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de estriquina (2mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: **p<0,01; ###p<0,001.

6.3.2 Determinação dos níveis de taurina

Como podemos observar de acordo com a figura 29 há uma redução (### $p < 0,05$) nos níveis estriatais e hipocampais de taurina nos grupos controle ESTRIC2, IMIP 250+ESTRIC2 e IMIP500 +ESTRIC2, quando comparado com o grupo salina 0,9% (veículo). Os níveis de taurina no córtex pré-frontal permaneceram próximos ao grupo salina (veículo) nos grupos que receberam Imipenem/cilastatina nas duas doses estudadas (250 ou 500 mg/kg). Pré-frontal: [Veículo ($0,2306 \pm 0,06902$ nmol/g de tecido); ESTRIC2 ($0,1980 \pm 0,02765$ nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 ($0,1618 \pm 0,03990$ nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 ($0,2247 \pm 0,04374$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [Veículo ($0,6193 \pm 0,08549$ nmol/g de tecido); ESTRIC2 ($0,2621 \pm 0,1008$ nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 ($0,2106 \pm 0,06793$ nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 ($0,2755 \pm 0,07409$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo ($0,1457 \pm 0,02500$ nmol/g de tecido); ESTRIC2 ($0,05295 \pm 0,01644$ nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 ($0,05500 \pm 0,01206$ nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 ($0,05333 \pm 0,01260$ nmol/g de tecido)]. (Tabela 22).

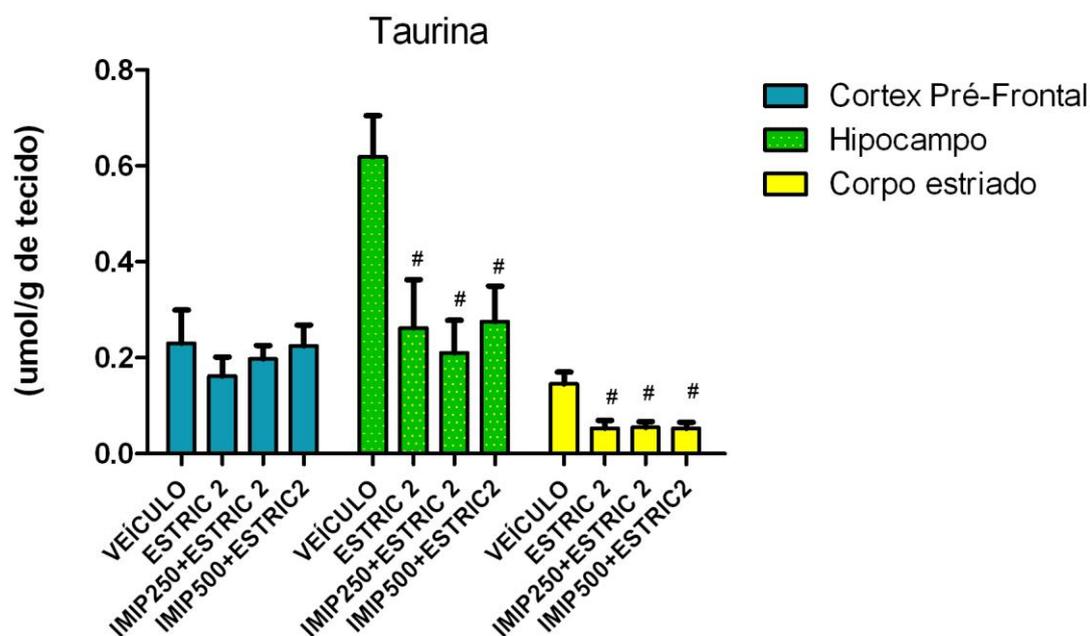


Figura 29. Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por Estricnina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com Estricnina 2 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, estricnina (ESTRIC2) ou solução salina 0,9% (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (ESTRIC2); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de taurina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; ## p< 0,01.

Tabela 22. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do taurina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriçnina 2 mg/kg (ESTRIC2).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2306 ± 0,06902
Controle ESTRIC2	00,1980 ± 0,02765
IMIP250+ESTRIC2	0,1618 ± 0,03990
IMIP500+ESTRIC2	0,2247 ± 0,04374
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,6193±0,08549
Controle ESTRIC2	0,2621±0,1008#
IMIP250+ESTRIC2	0,2106±0,06793#
IMIP500+ESTRIC2	0,2755±0,07409#
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,1457±0,02500
Controle ESTRIC2	0,05295±0,01644#
IMIP250+ESTRIC2	0,05500± 0,01206#
IMIP500+ESTRIC2	0,05333±0,01260#

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500 ou salina (0,9%,IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de estriçnina(2mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: # p<0,05.

Determinação dos níveis de gaba

A figura 30 mostra no pré-frontal uma redução significativa nos níveis de gaba nos grupos pré-tratados com imipenem (250+ESTRIC2 e IMIP500+ESTRIC2), quando comparado com o grupo controle (ESTRIC2). Os níveis de hipocampais e estriatais de gaba foram reduzidos significativamente nos grupos ESTRIC2, 250+ESTRIC2 e IMIP500+ESTRIC2 em relação ao grupo veículo (salina 0,9%). Pré-frontal: [Veículo (0,2746±0,06112 nmol/g de tecido); ESTRIC2 (0,3682±0,04614 nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 (0,2016±0,03894nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 (0,1150±0,02671 nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [Veículo (0,6648±0,1230 nmol/g de tecido); ESTRIC2 (0,3183±0,07696 nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 (0,2170±0,04534nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 (0,1786±0,01349 nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo (0,2236±0,02727 nmol/g de tecido); ESTRIC2 (0,1060±0,01447 nmol/g de tecido); IMIP250+ESTRIC2 (0,06889±0,01682 nmol/g de tecido) e IMIP500+ESTRIC2 (0,1086±0,03414 nmol/g de tecido)]. (Tabela 23).

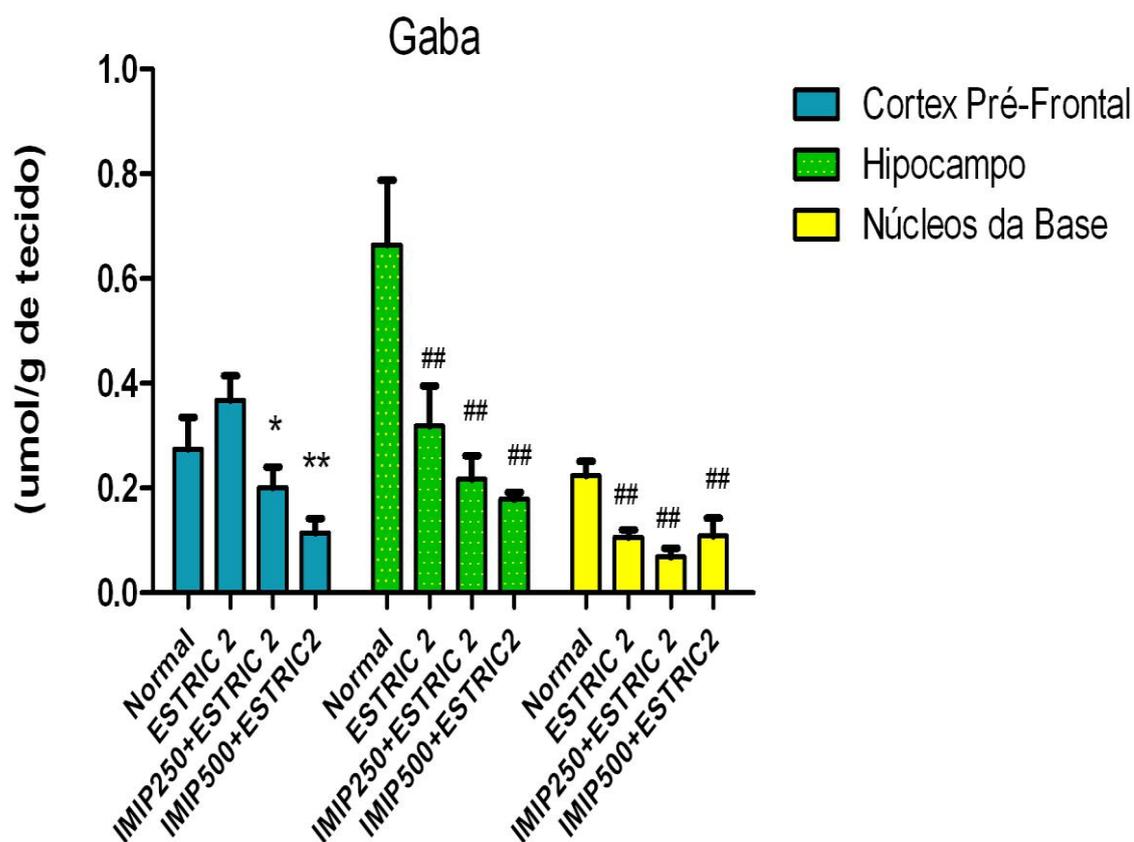


Figura 30. Efeitos sobre as concentrações de gaba (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por Estricnina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com estriçnina 2 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, após 10 minutos, estriçnina (ESTRIC2) ou solução salina 0,9% (Veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (ESTRIC2); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de gaba foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; ## p< 0,01.

Tabela 23. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do gaba em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por estriquina 2 mg/kg (ESTRIC2).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2746±0,06112
Controle ESTRIC2	0,3682±0,04614
IMIP250+ESTRIC2	0,2016±0,03894*
IMIP500+ESTRIC2	0,1150±0,02671**
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,6648±0,1230
Controle ESTRIC2	0,3183±0,07696##
IMIP250+ESTRIC2	0,2170±0,04534##
IMIP500+ESTRIC2	0,1786±0,01349##
<i>Corpo estriado</i>	
<i>Veículo</i>	0,2236±0,02727
Controle ESTRIC2	0,1060±0,01447##
IMIP250+ESTRIC2	0,06889±0,01682##
IMIP500+ESTRIC2	0,1086±0,03414##

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500 ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de estriquina (2mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; ## p< 0,01.

6.4 Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre a concentração de aminoácidos em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos após a administração da pilocarpina 400mg/kg (P400).

6.4.1 Determinação dos níveis de aspartato

Um aumento significativo nos níveis de aspartato foi evidenciado no hipocampo e corpo estriado nos grupos pré-tratados com Imipenem nas duas doses estudadas (IMIP250+P400 e IMIP500+P400) em relação ao grupo controle (P400) *** $p < 0,001$. No Pré-frontal houve também um aumento significativo com o Imipenem 250mg/Kg em relação ao grupo controle (P400) *** $p < 0,001$. Pré-frontal: [(Veículo ($0,1602 \pm 0,02320$ nmol/g de tecido); P400 ($0,2457 \pm 0,05803$ nmol/g de tecido); IMIP250+P400 ($0,5588 \pm 0,06850$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,2847 \pm 0,03587$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [(Veículo ($0,09043 \pm 0,01790$ nmol/g de tecido); P400 ($0,1440 \pm 0,02273$ /g de tecido); IMIP250+P400 ($0,4208 \pm 0,07491$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,7633 \pm 0,05461$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [(Veículo ($0,2321 \pm 0,04215$ nmol/g de tecido); P400 ($0,08301 \pm 0,01245$ /g de tecido); IMIP250+P400 ($0,3265 \pm 0,06204$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,4084 \pm 0,0492$ nmol/g de tecido)].(Figura 31; Tabela 24).

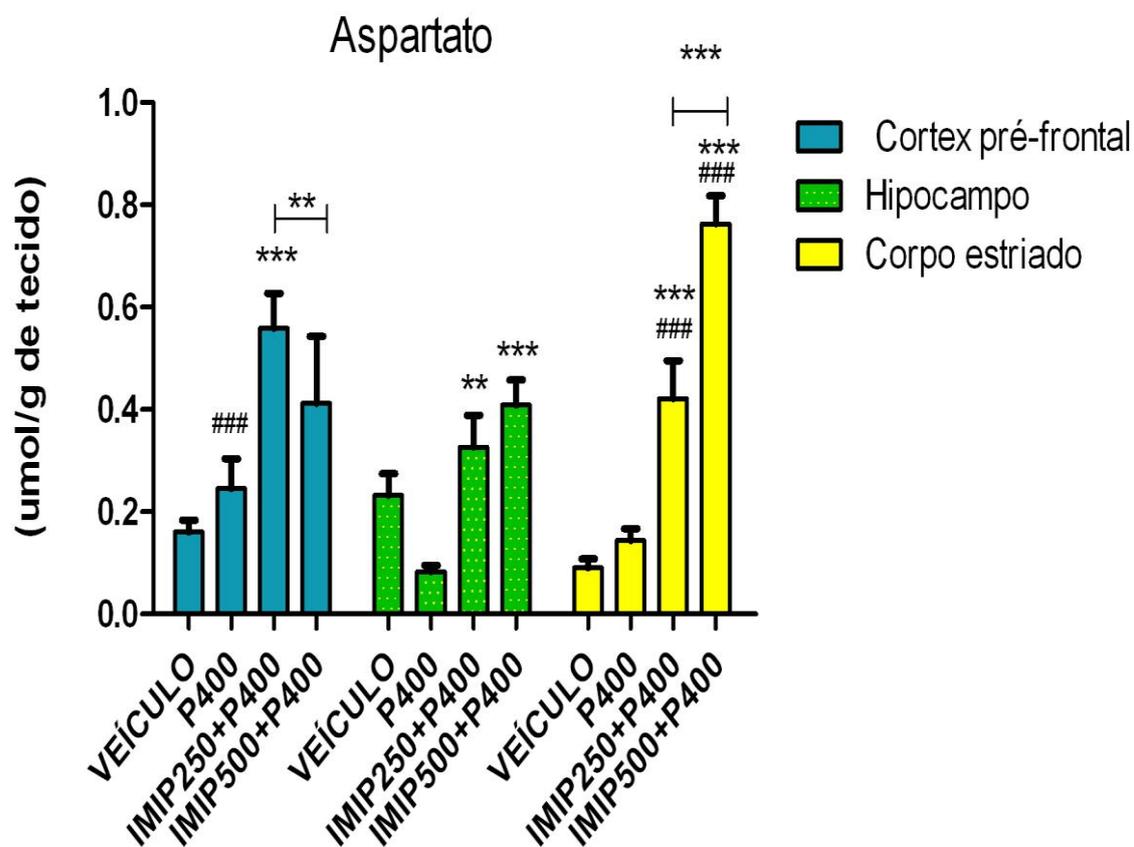


Figura 31. Efeitos sobre as concentrações de aspartato (nmol/g de tecido) em córtex Pré-frontal, Hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina 400 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pilocarpina (P400) ou solução salina 0,9% (veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de gaba foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: ***p<0, 001; ###p<0, 001

Tabela 24. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou sobre as concentração do aspartato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,1602± 0,02320
Controle P400	0,2457± 0,05803###
IMIP250+P400	0,5588± 0,06850***
IMIP500+P400	0,2847± 0,03587
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,2321± 0,04215
Controle P400	0,08301± 0,01245
IMIP250+ P400	0,3265± 0,06204**
IMIP500+ P400	0,4084± 0,04929***
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,09043± 0,01790
Controle P400	0,1440± 0,02273
IMIP250+ P400	0,4208± 0,07491*** ###
IMIP500+ P400	0,7633± 0,05461 ***###

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pilocarpina (400mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: ** p< 0,01; ***p<0, 001; ###p<0, 001

Determinação dos níveis de glutamato

O pré-tratamento com imipenem nas duas doses estudadas (IMIP250+P400 e IMIP500+P400) foi capaz de aumentar os níveis de glutamato tanto em hipocampo como em corpo estriado em relação ao grupo controle (P400). Houve uma diminuição significativa do glutamato no controle P400 em relação ao grupo veículo no hipocampo e corpo estriado, exceto no pré-frontal onde houve aumento do glutamato comparado ao grupo veículo. Pré-frontal: [(0,1776± 0,02830 nmol/g de tecido); P400 (0,2832± 0,04950 nmol/g de tecido); IMIP250+P400 (0,4486± 0,03410 nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 (0,2473± 0,0524 nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [(Veículo (0,3382± 0,0457 nmol/g de tecido); P400 (0,0539± 0,01021 nmol/g de tecido); IMIP250+P400 (0,1637± 0,0482 nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 (0,2375± 0,0385 nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [(Veículo (0,2218± 0,0421 nmol/g de tecido); P400 (0,0542± 0,0187/g de tecido); IMIP250+P400 (0,2310± 0,03727nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 (0,3195± 0,0330 nmol/g de tecido)]. (Figura 32; Tabela 25).

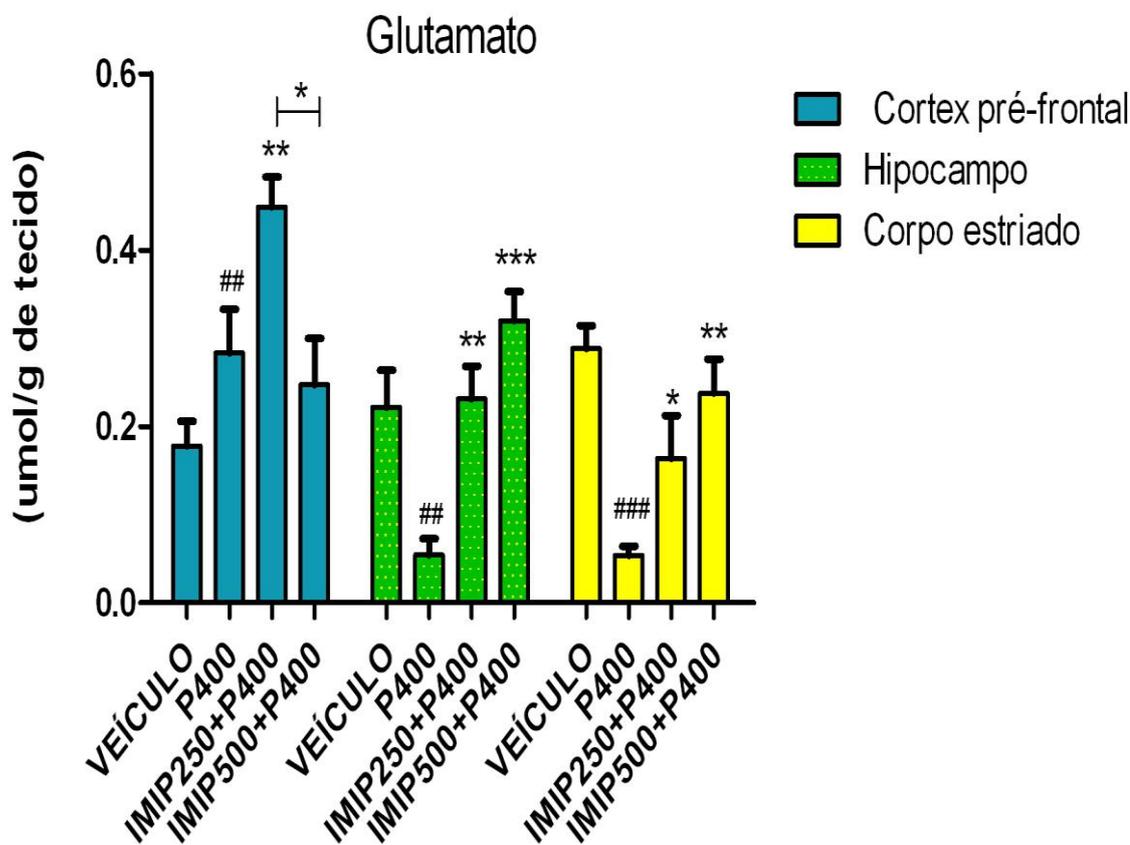


Figura 32. Efeitos sobre as concentrações de glutamato (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina 400 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pilocarpina (P400) ou solução salina 0,9% (veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glutamato foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ## p<0,01; ###p<0,001

Tabela 25. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do glutamato em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,1776±0,02830
Controle P400	0,2832±0,04950##
IMIP250+P400	0,4486±0,03410**
IMIP500+P400	0,2473±0,0524
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,2218±0,0421
Controle P400	0,0542±0,0187
IMIP250+ P400	0,2310±0,03727##
IMIP500+ P400	0,3195±0,0330***
<i>Corpo estriado</i>	
Veiculo	0,3382±0,0457
Controle P400	0,0539±0,01021###
IMIP250+P400	0,1637±0,0482*
IMIP500+P400	0,2375±0,0385**

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pilocarpina (400mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ** p< 0,01; ***p<0,001; ## p<0,01; ###p<0,001.

6.4.2 Determinação dos níveis de glicina

Conforme demonstrado através da figura 35 não houve alteração significativa nos níveis de glicina nas três áreas cerebaris. Os níveis de glicina dos grupos P400, IMIP250+P400 e IMIP500+P400 se mantiveram próximos aos do grupo controle (P400) e veículo (salina 0,9%). Pré-frontal: [(0, 2785±0, 07608 nmol/g de tecido); P400 (0, 2973±0,03761 nmol/g de tecido); IMIP250+P400 (0,2600±0,03590 nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 (0,1663±0,02578 nmol/g de tecido)].Hipocampo: [(Veículo (0,5540±0,08649 nmol/g de tecido); P400 (0,5876±0,04357 nmol /g de tecido); IMIP250+P400 (0,5294±0,07278 nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 (0,4878±0,04865 nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [(Veículo (0, 8402±0, 2125 nmol/g de tecido); P400 (0, 6198±0, 1483 nmol/g de tecido); IMIP250+P400 (0, 8510±0, 06202 nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 (0,6846±0,02311 nmol/g de tecido)]. (Figura 13).

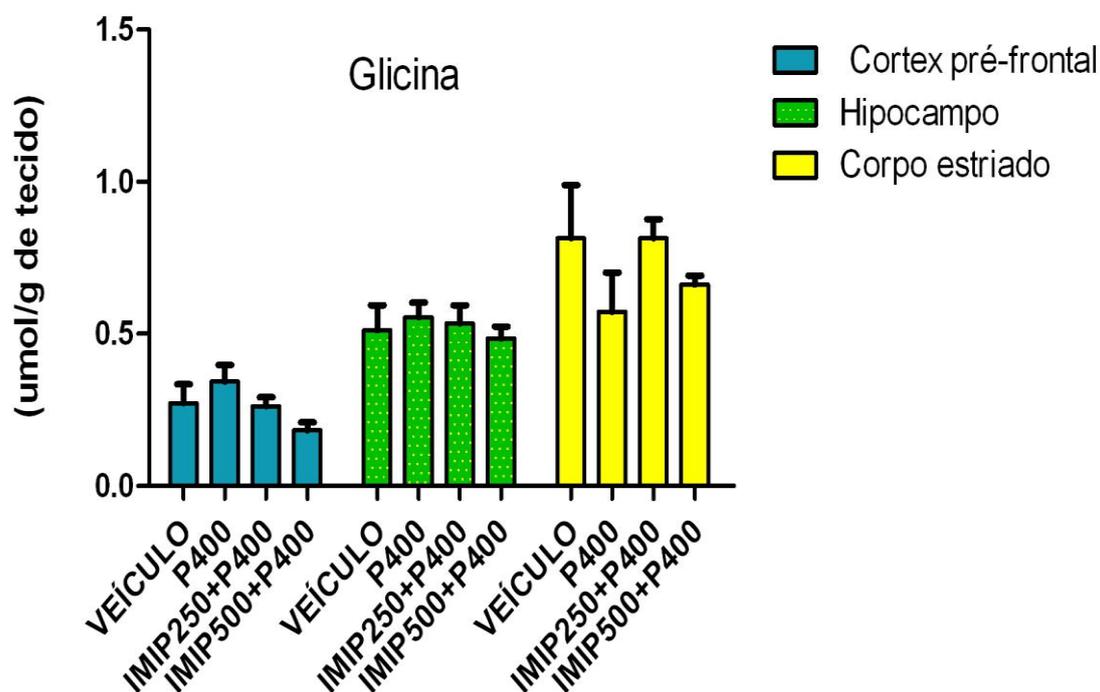


Figura 21. Efeitos sobre as concentrações de glicina (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina 400 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pilocarpina (P400) ou solução salina 0,9% (veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de glicina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 16. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração da glicina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,2785±0,07608
Controle P400	0,2973±0,03761
IMIP250+P400	0,2600±0,03590
IMIP500+P400	0,1663±0,02578
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,5540±0,08649
Controle P400	0,5876±0,04357
IMIP250+P400	0,5294±0,07278
IMIP500+P400	0,4878±0,04865
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,8402±0,2125
Controle P400	0,6198±0,1483
IMIP250+P400	0,8510±0,06202
IMIP500+P400	0,6846±0,02311

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de Pilocarpina (400mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*).

Determinação dos níveis de taurina

A figura 34 mostra uma redução significativa nos níveis de taurina do pré-frontal e hipocampo nas duas doses estudadas (IMIP250+P400 e IMIP500+P400) quando comparadas com o controle P400 e grupo Veículo, respectivamente. Os níveis de taurina estriatal foram reduzidos significativamente apenas com Imipenem 250mg/Kg em relação ao controle P400, $p < 0,05$. Pré-frontal: [Veículo ($0,3306 \pm 0,0297$ nmol/g de tecido); P400 ($0,1034 \pm 0,0177$ nmol/g de tecido); IMIP250+P400 ($0,1921 \pm 0,0212$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,1500 \pm 0,0234$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [(Veículo ($0,4957 \pm 0,0371$ nmol/g de tecido); P400 ($0,5426 \pm 0,0384$ /g de tecido); IMIP250+P400 ($0,3293 \pm 0,0771$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,3745 \pm 0,0497$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [(Veículo ($0,5943 \pm 0,1136$ nmol/g de tecido); P400 ($0,1705 \pm 0,0335$ /g de tecido); IMIP250+P400 ($0,3082 \pm 0,0415$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,2522 \pm 0,0325$ nmol/g de tecido)]. (Tabela 27).

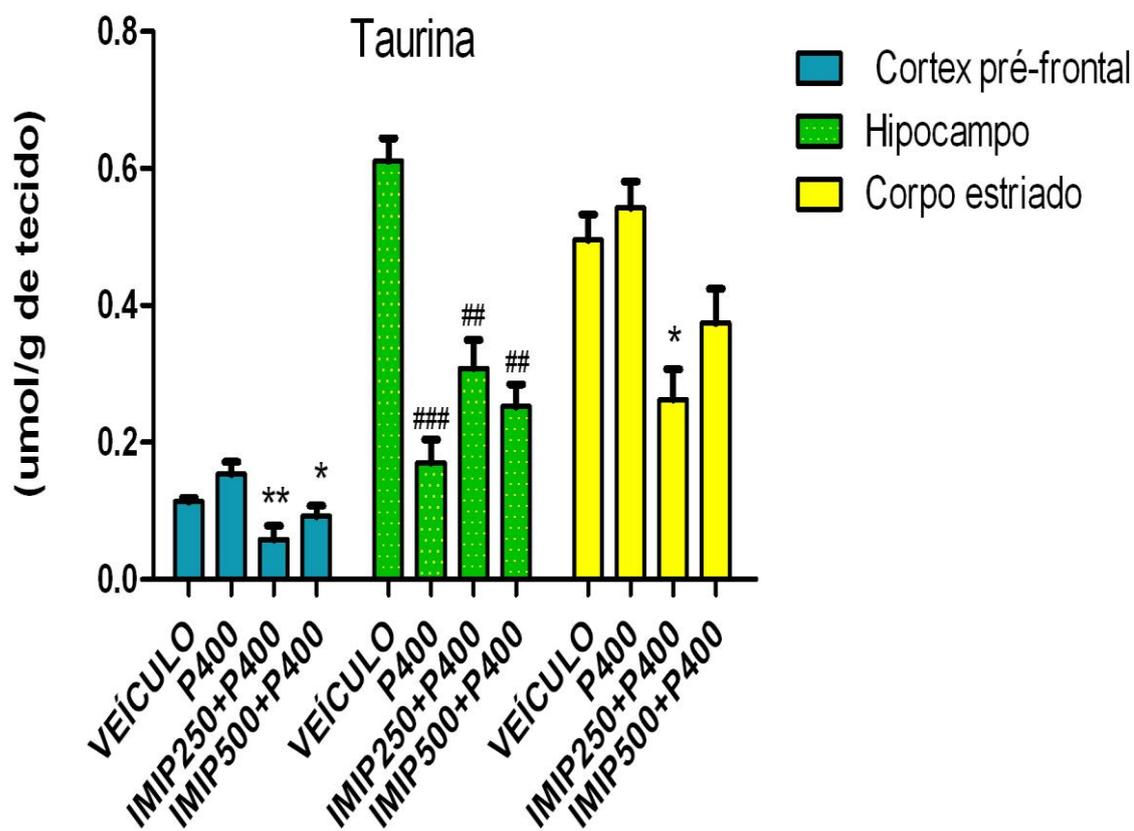


Figura 34. Efeitos sobre as concentrações de taurina (nmol/g de tecido) em córtex Pré-frontal, Hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina 400 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pilocarpina (P400) ou solução salina 0,9% (veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de taurina foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: *p<0,05; **p<0,01; ## p<0,01; ###p<0,001.

Tabela 27. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina(IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do Taurina em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por pilocarpina 400 mg/kg (P400).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	0,3306±0,0297
Controle P400	0,1034±0,0177
IMIP250+P400	0,1921±0,0212**
IMIP500+P400	0,1500±0,0234*
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	0,5943±0,1136
Controle P400	0,1705±0,0335####
IMIP250+P400	0,3082±0,0415##
IMIP500+P400	0,2522±0,0325#
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	0,4957±0,0371
Controle P400	0,5426±0,0384
IMIP250+P400	0,3293±0,0771*
IMIP500+P400	0,3745±0,0497

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de pilocarpina (400mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ** p< 0,01; # p<0,05; ## p<0,01; ####p<0, 001.

Determinação dos níveis de gaba

A figura 35 mostra uma significativa diminuição dos níveis de gaba nas três áreas, quando comparado com o grupo veículo (salina 0,9%). Podemos observar uma diminuição do gaba no pré-frontal nos grupos pré-tratados com Imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) quando comparado com o grupo P400 (***) $p < 0,001$). Pré-frontal: [Veículo ($1132 \pm 0,1115$ nmol/g de tecido); P400 ($9702 \pm 0,0883$ nmol/g de tecido); IMIP250+P400 ($0,3758 \pm 0,0682$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,2728 \pm 0,0807$ nmol/g de tecido)]. Hipocampo: [Veículo ($2,37 \pm 0,2245$ nmol/g de tecido); P400 ($2,030 \pm 0,3989$ /g de tecido); IMIP250+P400 ($0,6107 \pm 0,2166$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($1,167 \pm 0,3491$ nmol/g de tecido)]. Corpo estriado: [Veículo ($1671 \pm 0,2646$ nmol/g de tecido); P400 ($1,034 \pm 0,1787$ /g de tecido); IMIP250+P400 ($0,7011 \pm 0,1228$ nmol/g de tecido) e IMIP500+P400 ($0,5038 \pm 0,1566$ nmol/g de tecido)]. (Tabela 28).

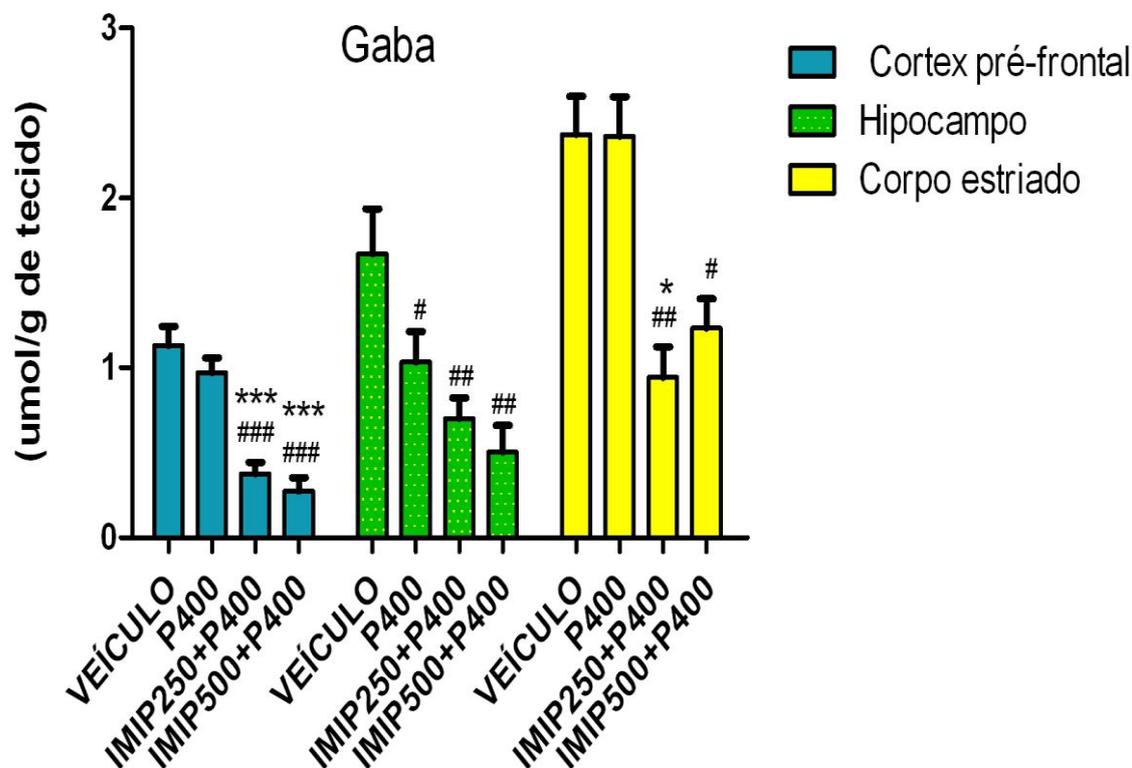


Figura 35. Efeitos sobre as concentrações de gaba (nmol/g de tecido) em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos no modelo de convulsão induzido por pilocarpina.

Camundongos swiss machos (29-34g) foram pré-tratados com imipenem (250 e 500mg/Kg, IV) e após 10 minutos foi induzida a convulsão com pilocarpina 400 mg/kg, i.p. Os controles receberam salina 0,9%, IV, e após 10 minutos, pilocarpina (P400) ou solução salina 0,9% (veículo). O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os animais foram submetidos a um período de 30 minutos de observação. Os valores representam a média \pm EPM (n=6). A concentração de gaba foi determinada em 20 μ L de homogenato. (Análise estatística por ANOVA seguido por Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*). Valores significativos: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$

Tabela 28. Efeitos do pré-tratamento com imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) sobre as concentração do gaba em três área cerebrais de camundongos submetidos a convulsões induzidas por Pilocarpina 400 mg/kg (P400).

<i>Grupos</i>	<i>Imipenem/cilastatina (umol/g de tecido)</i>
<i>Córtex pré- frontal</i>	
Veículo	1,132± 0,1115
Controle P400	0,9702± 0,0883
IMIP250+P400	0,3758± 0,0682***###
IMIP500+P400	0,2728± 0,0807***###
<i>Hipocampo</i>	
Veículo	1,671± 0,2646
Controle P400	1,034± 0,1787#
IMIP250+ P400	0,7011± 0,1228##
IMIP500+ P400	0,5038± 0,1566##
<i>Corpo estriado</i>	
Veículo	2,37± 0,2245
Controle P400	2, 030±0,3989
IMIP250+P400	0, 6107±0,2166* ##
IMIP500+P400	1,167±0,3491#

Camundongos swiss machos foram tratados imipenem/cilastatina (IMIP 250 ou 500) ou salina (0,9%, IV), após 10 minutos, estes animais receberam a dose única de Pilocarpina (400mg/kg, i.p.). Imediatamente após a morte, os cérebros desses animais foram dissecados e retirados o córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado sob o gelo para em seguida realização da determinação dos aminoácidos. (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ***p<0,001; # p<0,05; ## p<0,01; ###p<0,001.

6.5 Efeitos de imipenem ou meropenem sobre a atividade da acetilcolinesterase em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos tratados ou não com P400.

A investigação da atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) foi realizada em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos adultos, pertencentes aos seguintes grupos de tratamento: Veículo (salina 0,9%); imipenem 250 ou 500mg/Kg, IV (IMIP250+P400; IMIP500+P400); meropenem 250 ou 500mg/Kg, IV (MERO250+P400; MERO500+P400); Pilocarpina, 400mg/Kg, i.p (P400). Os resultados foram expressos em nmoles/mg de proteína/minuto.

A administração de P400 foi capaz de reduzir significativamente ($p < 0,05$) a atividade da AChE no pré-frontal, hipocampo e corpo estriado em relação ao veículo (salina 0,9%). O pré-tratamento com IMIP250+P400 reduziu significativamente o nível de atividade da enzima AChE quando comparados ao grupo P400 e veículo. O grupo que recebeu IMIP500+P400 só reduziu a atividade da enzima no corpo estriado (## $p < 0,01$), quando comparado ao grupo veículo. Pré-frontal: (Veículo = 203,9 + 34,95; P400 = 121,7 + 18,53; IMIP250+P400 = 25,99 + 7,929 ; IMIP500+P400 = 347,3 + 35,89). (Figura 7); Hipocampo: (Veículo = 179,2+32,63; P400 = 114,9+16,70; IMIP250+P400 = 33,63+2,988; IMIP500+P400 = 155,0+30,06). Corpo estriado: (Veículo = 1772+ 199,6; P400 = 1138+ 219,7; IMIP250+P400 = 186,8+ 30,82; IMIP500+P400 = 854,2+ 196,1).

A atividade da enzima acetilcolinesterase foi reduzida nas três áreas cerebrais tanto no grupo P400 quanto nos grupos pré-tratados com meropenem (250 ou 500mg/kg). Houve um aumento da atividade da enzima apenas no hipocampo com o grupo MERO500+P400. Não houve diferença significativa entre os grupos que receberam o Meropenem e o grupo P400. Pré-frontal: (Veículo = 119,2+ 17,35; P400 = 72,93+ 10,49; MERO250+P400 = 52,27+ 7,150; MERO500+P400 = 65,72+ 12,02). (Figura 7); Hipocampo: (Veículo = 225,6+ 29,19; P400 = 65,94+ 7, 670; MERO250+P400 = 68,48+ 10,21; IMIP500+P400 = 403,6+ 56,35). Corpo estriado: (Veículo = 535,1+ 109,5; P400 = 190,6+ 37,77; MERO250+P400 = 294,1+ 17,94; MERO500+P400 = 126,8+ 11,15).

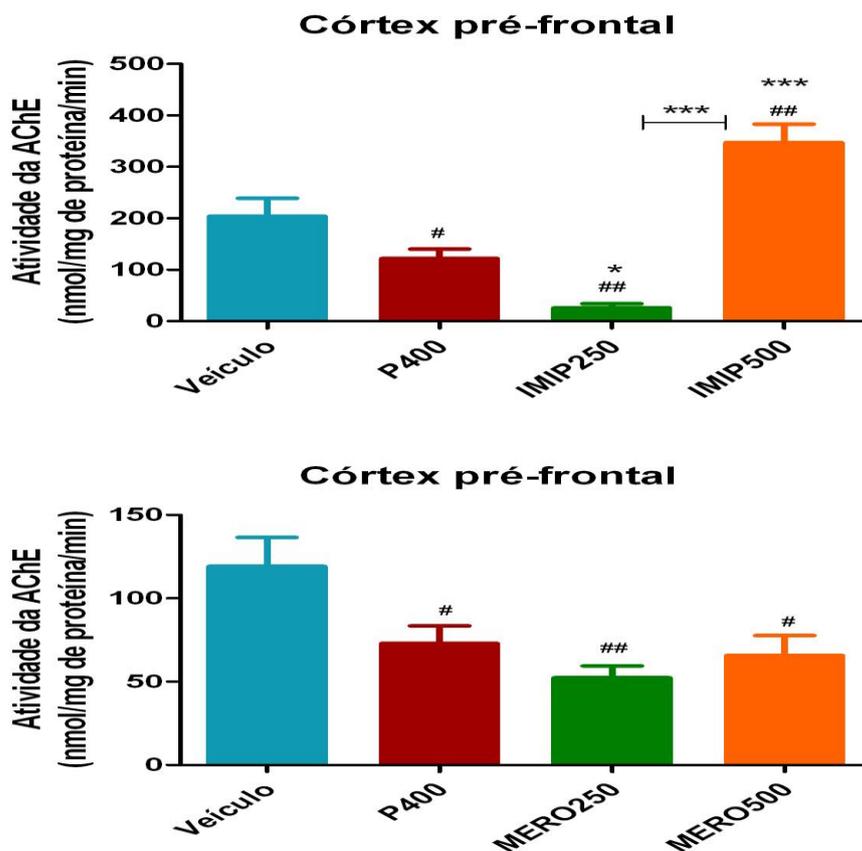


Figura 36. Efeitos do imipenem/cilastatina ou meropenem sobre a atividade da acetilcolinesterase (AChE) em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM n=8). (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

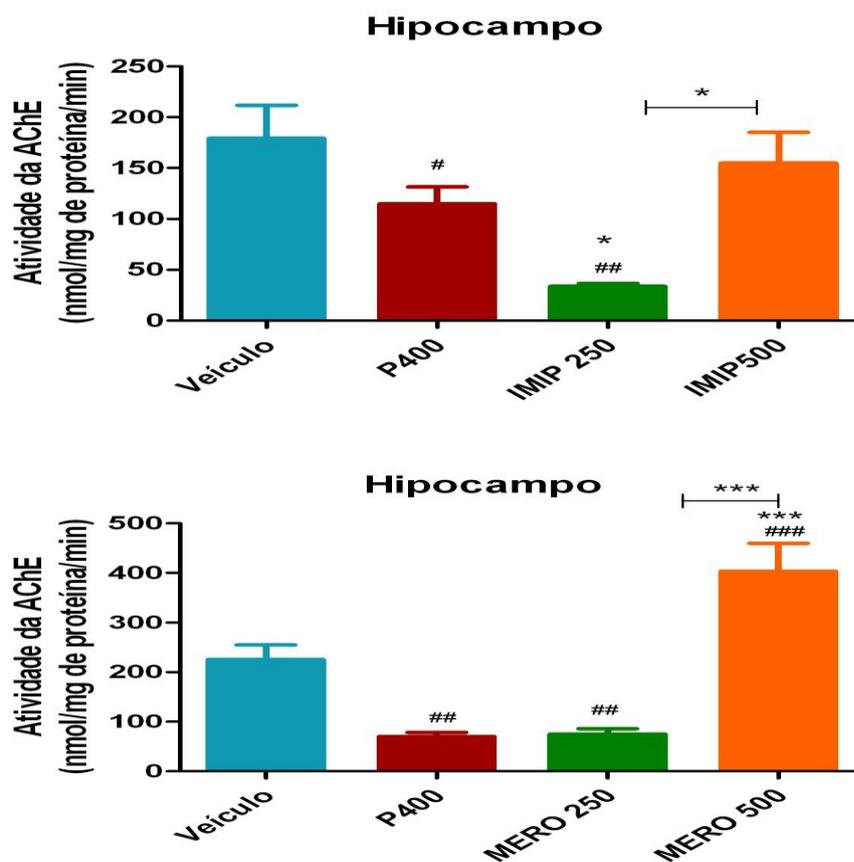


Figura 37. Efeitos do imipenem/cilastatina ou meropenem sobre a atividade da acetilcolinesterase (AChE) em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=8). (ANOVA e Student-Newman-Keuls como este *post-hoc*). Valores significativos: *p<0,05; ***p<0,001; ## p<0,01; ###p<0,001.

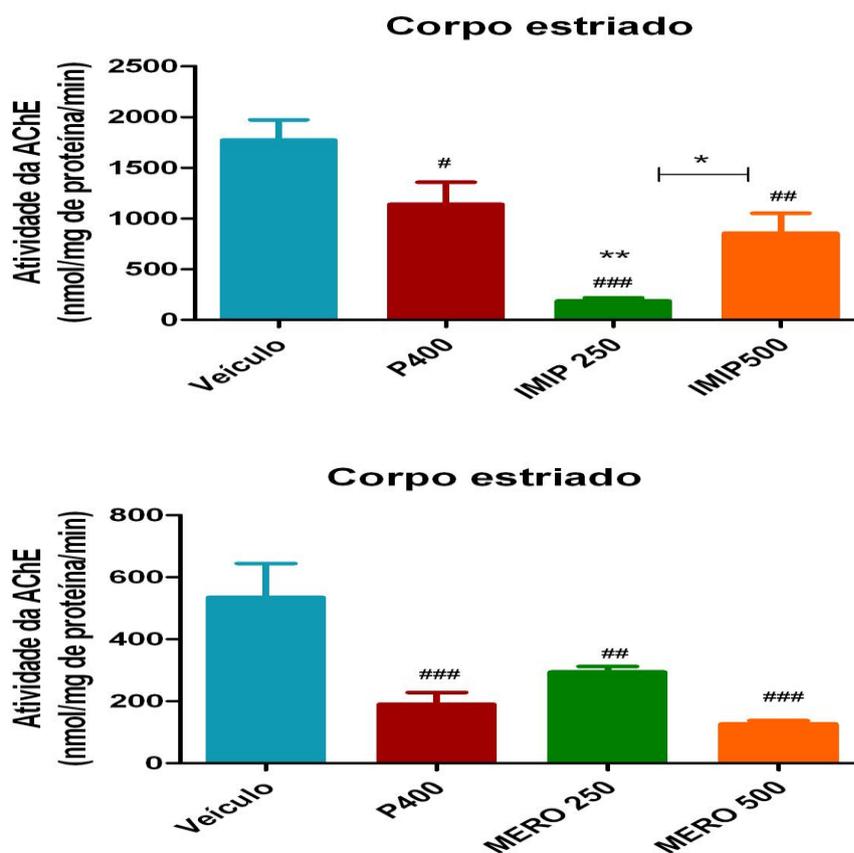


Figura 38. Efeitos do imipenem/cilastatina ou meropenem sobre a atividade da acetilcolinesterase (AChE) em pré-frontal, hipocampo e corpo estriado de camundongos durante as convulsões induzidas por P400.

O símbolo * representa a significativa diferença quando comparado ao grupo controle (P400); o símbolo # representa a significativa diferença quando comparado ao grupo salina (veículo). Os valores representam a média \pm EPM (n=8). (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post-hoc*). Valores significativos: * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,001$.

“Não ser ninguém a não ser você mesmo num mundo que faz todo o possível, noite e dia, para transformá-lo em outra pessoa, significa travar a batalha mais dura que um ser humano pode enfrentar, e jamais parar de lutar.”
E. E. Cummings

7 DISCUSSÃO

Os beta-lactâmicos são conhecidos por causar convulsões em animais experimentais (JIN *et al.*, 1999;. KURIHARA *et al.*, 1992;. SHIMADA *et al.*, 1992), dentre estes destaca-se os carbapenêmicos que em doses elevadas também podem induzir convulsões em várias espécies animais e sua ação convulsiva tem sido relacionada à inibição do sistema GABA (JIN *et al.*, 1999;. KURIHARA *et al.*, 1992;. SHIMADA *et al.*, 1992).

Um estudo comparativo do fluido cerebrospinal de animais (FCE) tratados com imipenem ou meropenem sugeriu que existem diferenças de difusão do imipenem e meropenem, e essas características podem ser parcialmente responsáveis por suas diferenças de toxicidade e eficácia a nível central. Portanto, a atividade convulsiva dos carbapenêmicos pode ser atribuída à propriedade de penetração através da barreira hemato-encefálica ou no FCE ao invés de efeitos intrínsecos ao sistema nervoso central. (DUPUIS *et al.*, 2000 a, b).

Essas descobertas anteriores indicam que é muito importante avaliar o potencial convulsivo em estudos animais para o desenvolvimento de novos antibióticos, porque a atividade convulsivante observada em algumas classes é um problema extremamente incômodo no uso clínico. Por isso, investigamos a capacidade convulsiva do imipenem e meropenem, dois antibióticos da classe dos carbapenêmicos muito utilizados clinicamente, através de vários modelos animais de convulsão. (HORIUCHI *et al.*, 2006).

O modelo das quimioconvulsões ou das convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol (PTZ) reproduz um quadro parecido ao encontrado nas crises epiléticas generalizadas, onde o mecanismo de ação ainda não está bem definido. O modelo de convulsão induzida por PTZ foi considerado um método de triagem útil para a avaliação da atividade proconvulsivante dos beta-lactâmicos (WILLIAMS *et al.*, 1988).

Nesse modelo o imipenem nas doses (250 e 500 mg / kg) causou uma diminuição significativa na latência para as convulsões, bem como na latência para a morte, quando comparado com o controle, mostrando possuir atividade proconvulsivante. Do mesmo modo, o meropenem apresentou atividade proconvulsivante, pois também reduziu os parâmetros observados.

Após a observação da atividade proconvulsivante é importante investigar o mecanismo das convulsões. Um dos modelos utilizados é o da picrotoxina que é uma antagonista GABA e tem sido amplamente utilizado como um modelo de convulsão induzida quimicamente,

produzindo uma convulsão tônico-clônica generalizada que leva à morte na maioria dos casos. (SWINYARD,1969; HEIDARI et al 1996; HEIDARI et al 2006).

Nos nossos dados o imipenem no modelo de convulsão induzida por picrotoxina diminuiu expressivamente a latência para convulsão e morte. De acordo com Shimada (1992), as convulsões induzidas por antibióticos beta-lactâmicos estão relacionadas com a inibição do receptor GABA, assim como foi demonstrado no presente estudo.

O grupo tratado com meropenem não apresentou diferença significativa, mostrando não possuir atividade gabaérgica. Em alguns estudos *in vitro* e *in vivo*, o meropenem exibiu fraca ou nenhuma atividade proconvulsivante, geralmente menor do que o imipenem com ou sem cilastatina, possivelmente devido à diferenças estruturais em suas cadeias de carbono laterais e sua afinidade para os receptores GABA (DE SARRO et al , 1995; DUPUIS *et al.*, 2000a, b; HIKIDA *et al.*, 1993; KAMEI *et al.*, 1991).

A estricnina provoca convulsões, bloqueando, principalmente na coluna vertebral , a resposta inibitória da glicina, que age através de um receptor que se assemelha ao receptor GABA A, um canal de cloro multimérico (VAN DEN EYNDEN, 2009). Neste modelo de convulsão observou-se que o imipenem apresentou atividade proconvulsivante apenas na dose de 250mg/Kg, supondo sua atividade semelhante à estricnina. Já o meropenem não apresentou atividade, supondo um não envolvimento com a via glicinérgica.

A investigação do mecanismo via colinérgica, foi feita através do modelo da pilocarpina, um agonista muscarínico, que em doses elevadas induz alterações comportamentais, tais como convulsões e lesões cerebrais em roedores via superestimulação cortical (ALAM, STARR, 1993; FREITAS *et al* , 2006)

A pilocarpina exacerba a atividade colinérgica, provavelmente por influência direta, aumentando a ação da ACh circulante, modificando a ligação dos receptores muscarínicos (HRUSKA *et al.*, 1984) e diminuindo a atividade acetilcolinesterásica (IMPERATO *et al.*, 1998).

No presente trabalho foi apresentado que o imipenem, também, potencializou as convulsões induzidas pela pilocarpina, efeitos semelhantes foram observados não somente na redução do tempo para o início do aparecimento das primeiras convulsões, mas também na redução do tempo de latência para morte desses animais. Já o Meropenem, que não apresentou atividade proconvulsivante nos modelos anteriores, demonstrou

significativamente, interação com o sistema colinérgico. Os nossos dados nos permitem sugerir que tanto o imipenem, quanto o meropenem possuem um mecanismo via colinérgica.

Para melhor elucidar o papel da neurotransmissão colinérgica nas convulsões e mortes induzidas por imipenem e meropenem, foi determinada a atividade da acetilcolinesterase cerebral dos animais. Esta enzima tem um papel crucial na transmissão colinérgica, hidrolisando o neurotransmissor acetilcolina com o intuito de terminar a transmissão nervosa. Especula-se que a atividade dessa enzima poderia afetar o desenvolvimento das convulsões induzidas pela pilocarpina, além da sua importância como possível alvo terapêutico (GETOVASSOVA, 2006).

No presente estudo, em acordo com os achados da literatura, o P400 induziu uma redução na atividade dessa enzima. O pré-tratamento com imipenem reduziu a atividade da enzima significativamente na dose de 250mg/Kg, quando comparado ao controle nas três áreas cerebrais. O grupos pré-tratados com meropenem (250 ou 500mg/Kg) apresentou uma redução na atividade da AChE, quando comparado ao grupo veículo(salina 0,9%). A inibição da atividade da AChE, induzida pela administração de pilocarpina, em modelo de convulsões, já foi previamente descrita (FREITAS *et al.*, 2006; SALES *et al.*, 2010.).

A excessiva ativação muscarínica, induzida tanto por aplicação de agonistas diretos que agem nos receptores colinérgicos como por inibidores da acetilcolinesterase, resulta em modificações da expressão gênica e da síntese de proteínas, resultando em alteração do funcionamento do sistema colinérgico (SOREQ; SEIDMAN, 2001).

A ativação colinérgica é essencial para o início do processo convulsivo em modelos de epilepsia do lobo temporal, visto que estas convulsões podem ser bloqueadas pelo pré-tratamento com o antagonista muscarínico atropina (DE BRUIN *et al.*, 2000).

Sabe-se que drogas anticolinesterásicas (colinérgica indiretas) também podem exercer efeitos excitatórios similares a agonistas colinérgicos exógenos (pilocarpina, carbacol). Acredita-se que a diminuição do metabolismo da acetilcolina, pela redução ou bloqueio da atividade da acetilcolinesterase (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).

Os nossos dados nos permitem sugerir que o mecanismo de convulsões causadas pelos carbapenêncios pode envolver uma interação com o sistema gabaérgico e glutamatérgico, através de uma modulação no sistema colinérgico, com possível redução da atividade da enzima acetilcolinesterase, culminando com o aumento dos níveis de acetilcolina. Foi demonstrado uma interação entre os sistemas GABAérgico e muscarínico em que a acetilcolina bloqueia as correntes GABAérgicas inibitórias pós-sinápticas e a resposta ao GABA exógeno, mesmo na presença de tubocurarina (antagonista nicotínico) ou de atropina, em células ganglionares da retina de ratos. (SHIH *et al.*, 1991).

Evidências fisiológicas e anatômicas sugerem que os aminoácidos transmissores excitatórios / inibitórios do sistema nervoso central(SNC) e que outros tipos de transmissores do SNC desempenham papéis moduladores de forma mais difusa, dentre eles o Ácido γ -aminobutírico, (GABA) e a glicina que são principais neurotransmissores inibitórios, enquanto que o glutamato e aspartato são os neurotransmissores excitatórios (MCGEER *et al.*, 1987)

Foi sugerido que a indução das convulsões relacionadas com os β -lactâmicos foi causada predominantemente pela inibição da transmissão inibitória GABA-mediada (WILLIAMS *et al.*,1985; HORI *et al.*, 1988; SCHLIAMSER *et al.*, 1991). No entanto, nenhuma pesquisa informou sobre os níveis Ácido γ -aminobutírico (GABA) e outros aminoácidos no córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado em quatro modelos clássicos de indução de convulsão: pentilenotetrazol, pilocarpina, estricnina e picrotoxina. Portanto, este estudo foi planejado, a fim de determinar os níveis de aminoácidos excitatórios e inibitórios em três áreas cerebrais com doses altas do imipenem/cilastatina.

Corroborando com os achados do estudo comportamental no modelo de convulsão induzida por PTZ e picrotoxina o imipenem/ cilastatina reduziu os níveis do aminoácido inibitório GABA nas três áreas cerebrais em relação ao grupo submetido apenas à salina (veículo), demonstrando mais uma vez sua ação via GABA.

Os β -lactâmicos tem ações convulsivantes e os derivados carbapenêncios foram previamente relacionados com a redução de liberação de GABA nos terminais nervosos ou à inibição da ligação no sítio do receptor GABA (ANTONIADIS, 1980; WILLIAMS,1988; SMITH,1989)

Além disso, De-Sarro *et al.* (1983) mostrou que o muscimol, um agonista seletivo GABA A foi capaz de proteger contra as convulsões induzidas por imipenem quando administrado intracerebroventricular(i.c.v.).

A Glicina por sua vez classicamente tem sido considerada um neurotransmissor inibitório, como o GABA, mas com uma distribuição limitada (especialmente na parte posterior do cérebro e da coluna vertebral, expressando-se tanto em neurônios quanto em células gliais. Apresenta também atividade excitatória, por meio de sua interação com os receptores do tipo NMDA, em sítios específicos denominados glicina B (MCGEER, 1987; PISERA, 2005).

Nos nossos achados os níveis de glicina foram diminuídos apenas no hipocampo no modelo de convulsão induzida por estriquina, possivelmente por que nas três áreas estudadas a glicina como neurotransmissor inibitório tem distribuição baixa. Esses dados complementam os experimentos comportamentais, onde o imipenem apresentou uma possível atividade via glicinérgica, sugerindo, assim, uma ação via glicina do imipenem/cilastatina.

Foi observado que não apenas o GABA, mas outros aminoácidos como a glicina e a taurina podem estar envolvidos na diminuição da neurotransmissão inibitória nas convulsões causadas pelo imipenem/cilastatina.

Embora o principal mecanismo para a atividade convulsiva do imipenem ainda não esteja determinado, um possível mecanismo é a excitação dos neurônios do SNC e um bloqueio na atividade sináptica do GABA, possivelmente em seu nível de receptores (SCHLIAMSER, 1991). Williams et al (1988) mostraram que o imipenem foi capaz de inibir a ligação de ^3H -GABA à membrana sináptica de cérebros de ratos, sugerindo uma interação com os receptores GABA.

As convulsões podem ser vistas como resultantes de um desequilíbrio entre os processos excitatórios e inibitórios no cérebro. Os mecanismos propostos para a geração e disseminação da atividade epiléptica no cérebro incluem a diminuição da neurotransmissão inibitória, que é mediada principalmente pelo ácido gama-aminobutírico (GABA), ou aumento da neurotransmissão excitatória, que é mediada principalmente pelo aminoácido glutamato. (SCORZA et al., 2002).

O Glutamato e aspartato têm poderosos efeitos excitatórios nos neurônios, e suas interações com receptores de membrana específicos são responsáveis por muitas funções neurológicas. (MCGEER, 1987).

Os resultados apontaram um aumento nos níveis de glutamato nos grupos pré-tratados com imipenem/cilastatina nos quatro modelos de convulsão sugerindo um possível aumento da neurotransmissão glutamatérgica nas convulsões causadas por imipenem/cilastatina.

De-Sarro et al. (1995) sugeriram uma hipótese alternativa sobre o envolvimento de

outros sistemas de neurotransmissores com as convulsões causadas pelo imipenem. Eles demonstraram que o MK-801, um antagonista forte do receptor NMDA, mostrou atividade anticonvulsivante de destaque tanto administrado intraperitoneal (i.p.) quanto intracerebroventricular (i.c.v.). É possível que existam interações potenciais com os receptores dos aminoácidos e/ou neurotransmissores excitatórios e inibitórios. De fato, os antagonistas dos aminoácidos excitatórios são capazes de prevenir as convulsões, aumentando seu limiar.

O achado mais importante do estudo acima citado foi que os antagonistas NMDA, como fenciclidina (CPP), CGP 39551, CPPene, AP7 ou maleato de dizocilpina (MK-801) bloquearam as convulsões induzidas pela administração i.p. ou i.c.v. do imipenem com potência igual ou superior ao agonista do receptor GABA A. Os antagonistas dos receptores AMPA/KAINATO como NBQX, que são específicos para o receptor alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4 isoxazolpropiónico (AMPA) também bloquearam ou reduziram as convulsões induzidas por imipenem em doses capazes de bloquear a neurotransmissão excitatória, demonstrando assim que os receptores AMPA/cainato tornam-se ativados no curso das convulsões induzidas por imipenem. A ação dos antagonistas específicos para os receptores quisqualato como CNQX teve uma ação anticonvulsivante relativamente fraca e de difícil avaliação, possivelmente estes componentes não estão envolvidos (DE-SARRO et al, 1995).

É notável que as doses de MK-801, CPPene, CGP 39551 e CPP necessárias para bloquear as convulsões tônico-clônicas induzidas por imipenem foram inferiores ou similares aquelas utilizadas em outros modelos experimentais para antagonizar convulsões tônico-clônica em camundongos (CHAPMAN, 1989). O IFE, um composto que atua sobre o sítio da poliamina do complexo receptor NMDA foi incapaz de proteger contra as convulsões induzidas por imipenem, sugerindo que o sítio da poliamina não exerce papel principal na gênese das convulsões induzidas por imipenem (PATEL, 1990).

É mais provável que a ativação excitatória dos receptores de aminoácidos ocorra secundariamente ou concomitantemente com o comprometimento da neurotransmissão GABAérgica inibitória causada pelo imipenem e é um elemento essencial para a propagação de convulsões. Particularmente os receptores NMDA e AMPA/cainato parecem desempenhar um papel central nas convulsões induzidas pelo imipenem, desde que os antagonistas dos receptores NMDA e AMPA/cainato foram anticonvulsivantes potentes. (DE-SARRO et al, 1995)

Esta observação está em linha com um estudo anterior mostrando que a atividade epileptiforme induzida pela penicilina, um derivado β -lactâmico relacionado com imipenem, pode ser mediado, pelo menos em parte, pelo aumento de aminoácidos excitatórios. O estudo também demonstrou que a intensidade da convulsão foi consistentemente reduzida nos animais pré-tratados com o a maioria dos antagonistas dos aminoácidos excitatórios ou a última fase da crise não ocorreu. (VAN GELDER, 1983)

Alguns estudos demonstram claramente que a excitação mediada por aminoácidos dicarboxílicos desempenha um papel crucial na patogênese das crises causada por imipenem em ratos semelhantes às observadas após um pré-tratamento com antagonistas dos aminoácidos excitatórios em convulsões induzidas por pilocarpina (DE SARRO *et al.*, 1987; MELDRUM *et al.*, 1988; PATEL *et al.*, 1988).

Tem sido relatado que os mecanismos de ação convulsivantes do imipenem são diminuição da inibição (WILLIAMS *et al.*, 1988; DE SARRO *et al.*, 1995), e aumento da excitação. o imipenem/cilastatina induz convulsões que são semelhantes às convulsões límbicas em humanos, e é uma conveniente ferramenta de teste para avaliar o potencial anticonvulsivante de drogas que atuam tanto na neurotransmissão inibitória quanto na excitatória (DE SARRO *et al.*, 1995).

O imipenem/cilastatina no presente estudo alterou os níveis de aminoácidos nas três áreas cerebrais estudadas: córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado. Essas áreas, segundo Engel (2001), são regiões que mais comumente originam descargas epiléticas em seres humanos, principalmente no córtex pré-frontal e hipocampo. São também essas estruturas que, em modelos animais, apresentam maior susceptibilidade a crises. Essas regiões possuem características importantes tanto para os processos de memória e aprendizado, quanto para o desenvolvimento de fenômenos epiléticos. Dentre essas características, destacam-se particularmente a organização laminar, isto é, a disposição das células em camadas, a presença de circuitos recorrentes e a abundância de receptores excitatórios.

Os circuitos primariamente envolvidos na epilepsia do lobo temporal (ELT) incluem estruturas do sistema límbico, particularmente o hipocampo e a amígdala. (GUERREIRO, 2000; YACUBIAN, 2004)

Entre as áreas em que ocorre dano neuronal, o hipocampo, o corpo estriado e o córtex fronto-parietal, além de serem as áreas mais acometidas, podem estar relacionadas de forma importante com os mecanismos de instalação, da propagação e/ou manutenção (epileptogênese) das convulsões límbicas (MARINHO *et al.*, 1998).

Com o desenvolvimento deste trabalho, podemos observar que o pré-tratamento com imipenem interfere com vários sistemas de neurotransmissores quando os animais são submetidos à convulsão induzida pela pilocarpina, pentilenotetrazol, estriçnina e picrotoxina. Tal efeito foi evidenciado através do aumento nos níveis de aminoácidos excitatórios como o glutamato e, por outro lado, uma diminuição nos níveis de aminoácidos inibitórios como o GABA reforçando a existência de uma possível via modulatória desses aminoácidos no controle e desenvolvimento de crises epilépticas quando ocorre o pré-tratamento com imipenem. Nossos estudos sugerem que o imipenem possui ação proconvulsivante no modelo de convulsão induzido por pilocarpina, pentilenotetrazol, picrotoxina e estriçnina em camundongos. Já o Meropenem possui ação proconvulsivante no modelo de convulsão por pilocarpina, e pentilenotetrazol, porém mais estudos devem ser realizados para desvendar os mecanismos de ação proconvulsivantes do imipenem e meropenem. Quando comparado o Imipenem/cilastatina com o meropenem, aquele demonstrou uma atividade proconvulsivante bem mais evidente que o meropenem em todos os modelos de convulsão estudados.

“De tudo, ficaram três coisas: a certeza de que estamos sempre a começar, de que é preciso continuar, e de que seremos interrompidos antes de terminar.”

(Fernando Sabino)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise dos resultados apresentados neste trabalho permitiu as seguintes considerações:

- ✓ O pré-tratamento com imipenem exerceu efeitos proconvulsivantes sobre as convulsões e mortes induzidas por PTZ, Picrotoxina, estricnina e pilocarpina.
- ✓ O imipenem/cilastatina reduziu significativamente as latências para convulsão e morte nesses quatro modelos e aumentou significativamente os níveis de aminoácidos excitatórios e reduziu significativamente os aminoácidos inibitórios nas áreas cerebrais.
- ✓ O pré- tratamento com imipenem/cilastatina foi capaz de reduzir a atividade da enzima AChE em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado, uma ação semelhante à da pilocarpina.
- ✓ No teste da convulsão induzida por pentilenotetrazol, o meropenem alterou as latências de convulsão e de morte, demonstrando apresentar atividade proconvulsivante.
- ✓ No teste da convulsão induzida por picrotoxina, o meropenem não alterou as latências de convulsão e de morte, demonstrando não apresentar atividade gabaérgica
- ✓ No teste da convulsão induzida por estricnina, o meropenem não alterou as latências para convulsão e morte, demonstrando não apresentar atividade glicinérgica
- ✓ No teste da convulsão induzida por pilocarpina, o meropenem reduziu significativamente as latências para convulsão e morte, sugerindo um possível mecanismo colinérgico envolvido
- ✓ O pré- tratamento com meropenem foi capaz de reduzir a atividade da enzima AChE em córtex pré-frontal, hipocampo e corpo estriado, uma ação semelhante à da pilocarpina

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram que o imipenem/cilastatina possui uma atividade proconvulsivante relacionada a mecanismos gabaérgicos, glutamatérgicos, glicinérgicos e colinérgicos. Já o meropenem que até então não se sabe o possível mecanismo de ação, no nosso trabalho apresentou uma ação proconvulsivante no modelo da pilocarpina.

O imipenem/cilastatina de uma forma geral provocou mudanças nas concentrações dos aminoácidos nas três áreas cerebrais estudadas, as quais estão envolvidas nos processos de gênese, propagação e manutenção das convulsões.

A importância de se determinar o mecanismo de convulsão preciso do imipenem e meropenem apóia-se no fato de que são muito utilizados clinicamente por possuírem grande atividade bactericida, mas em virtude da sua capacidade convulsivante o uso destes carbapenêmicos vem sendo restrito a pessoas com algum fator de risco convulsivo: como os insuficientes renais, pessoas com distúrbios do SNC, crianças e idosos. Entretanto, esse contingente corresponde a uma parcela significativa da população e com o advento da resistência bacteriana a várias classes de fármacos é limitante determinarmos sua atividade convulsivante, mas não os mecanismos precisos, pois só a partir deles futuramos a possibilidade do desenvolvimento desses antimicrobianos associados, na sua formulação, com outras substâncias/moléculas, e que desta forma possam ser capazes de minimizar ou inibir os efeitos maléficos, propiciando melhor utilização de suas ações farmacológicas e terapêuticas. Para tanto devem ser realizados experimentos adicionais para o melhor esclarecimento dos mecanismos de ação envolvidos na atividade convulsivante do imipenem e meropenem.

Este trabalho sugere um efeito modulador, exercido pelo imipenem/cilastatina e meropenem sobre o funcionamento do sistema colinérgico muscarínico, em nível central, como mecanismo alternativo para potencialização das convulsões no modelo do P400, sugerindo um possível mecanismo colinérgico envolvido, visto que os dois fármacos reduziram a atividade da acetilcolinesterase.

REFERÊNCIAS

- ALBERS, G.W.; GOLDBERG, M.P.; CHOI, D.W. Nmethyl- D-aspartate antagonists: ready for clinical trial in brain ischemia? **Ann Neurol.**, v. 25, p. 398-403, 1989.
- ALVAN, G.; NORD, C.E. Adverse effects of monobactams and carbapenems. **Drug Saf.**, v. 12, p.305-13, 1995.
- ANTONIADIS, A.; MULLER, W.E.; WOLLERT, U. Inhibition of GABA and benzodiazepine receptor binding by penicillins, **Neurosci. Lett**, v.18, p. 309-312, 1980.
- ARAKAWA, Y. *et al.* Convenient test for screening metallo-b-lactamase: producing gram-negative bacteria by using thiol compounds. **J. Clin. Microbiol**, v. 38, p. 40-3, 2000.
- ATTWELL, D. Brain uptake of glutamate: food for thought. **Journal of Nutrition**, v. 130, p.1023–1025, 2000.
- AZNAVOUR, 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, p. 206-217, 2002.
- BARAM, T. Z. Bicuculline induced seizures in infant rats: ontogeny of behavioural and electrocortical phenomena. **Dev Brain Res**, v. 57, p.291–5.
- BARTON, M.; WALTERS, L.J.; JONES, R.N. Prevalence and significance of a negative extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) confirmation test result after a positive ESBL screening test result for isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: results from the SENTRY Asia-Pacific Surveillance Program. **J Clin Microbiol**, v.45, p.1478-82, 2007.
- BEN-ARI, Y. *et al.* Eletrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculdeoxyglucose or pentylenetetrazole: metabolite mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. **Neuroscience**, v. 6, p. 1361-91, 1981.
- BEN-ARI, Y.; TREMBLAY, E.; OTTERSEN, O.P. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. **Neuroscience**, v. 5, p. 515-528, 1980.
- BERNADO, L.S.; PRINCE, D.A. Acetylcholine induced modulation of hippocampal pyramidal neurons. **Brain Res**, v. 211, p. 227-234, 1981.
- BLUM, D.; REED, M.; METZ, A. Prevalence of major affective disorders and maniac symptoms in persons with epilepsy: a community survey. **Neurology**, v. 58, (Suppl 4A): S175, 2002.
- BONNER, T. I.; BUCKLEY, N. J.; YOUNG, A. C.; BRANN, M. R. Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. **Science**, v. 237, p. 527-532, 1987.

- BORELLI, E.; BOZZI, Y. Dopamine D2 receptor signaling controls neuronal cell death induced by muscarinic and glutamatergic drugs. **Molecular and Cellular Neuroscience**. v. 19, p. 263-271, 2002.
- BORMANN, J. Electrophysiology of GABA_A e GABA_B receptor subtypes. **Trends Neuroscience**, v. 11, p. 112-116, 1988.
- BOWERY, N.G. GABA_B receptor pharmacology. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. v. 33, p. 109-147, 1993.
- BRUNEAU, E.G.; AKAABOUNE, M. Running to stand still: ionotropic receptor dynamics at central and peripheral synapses. **Mol Neurobiol**. v. 34, p.137-51, 2006.
- BUSH, K.; JACOBY, G.A.; MEDEIROS, A. A. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. **Antimicrob. Agents Chemother**. v.39, p.1211-33, 1995.
- CALANDRA, G; LYDRCK, E; CARRIGAN, J; WEISS, L; GUESS, H. Factors predisposing to seizures in seriously ill infected patients receiving antibiotics: experience with imipenem/cilastatin. **Am J Med**. v. 84, p. 911-8, 1988.
- CAVALHEIRO, E.A. *et al.* Spontaneous recurrent seizures in rats: amino acid and monoamine determination in the hippocampus. **Epilepsia**, v. 35, p. 1-11, 1994.
- CAVALHEIRO, E.A. The pilocarpine model of epilepsy. **Ital J Neurol Sci**. v. 16, p.33-37,1995.
- CAVALHEIRO, E.A.; LEITE, J.P.; BORTOLOTTI, 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, p. 778-782, 1991.
- CHAPMAN, A.G.; GRAHAM, J.L.; MELDRUM, B.S., Long-term anticonvulsant action of a novel competitive NMDA-antagonist, CGP 39551, in DBA/2 mice, Cereb. **J. Blood Flow Metab**. v. 9, p.309, 1989.
- CHOI, D.W. Excitotoxic Cell Death. **Journal of Neurobiology**. v. 23, p.1261-1276, 1992
- CHOI, D.W. Glutamate Neurotoxicity and Diseases of the Nervous System. **Neuron**. v. 1, p. 623-634, 1988.
- CHOI, D.W. Glutamate Receptors and the Induction of Excitotoxic Neuronal Death. **Progress in Brain Research**. v. 100, p.47-51, 1994.
- 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, p.649-53, 2005.
- CLIFFORD, D.B.; OLNEY, J.W.; MANIOTIS, A.; COLLINS, R.C.; ZORUMSKI, C.F. The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. **Neuroscience**. v. 23, p. 953-968, 1987.

COLARDYN, F.; FAULKNER, K.L. Meropenem serious infection study group. Intravenous meropenem versus imipenem/cilastatin in the treatment of serious bacterial infections in hospitalized patients. **J Antimicrob Chemother.** v. 38, p. 523–37, 1996.

COSTA-LOTUFO, L.V. *et al.* Attenuating effects of melatonin on pilocarpine-induced seizures in rats. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C.** v. 131, p. 521-529, 2002.

DANBOLT, N.C. Glutamate Uptake. **Progress in Neurobiology.** v. 65, p.1-105, 2001.

DE BRUIN, V. M. S.; MARINHO, M. M. F.; DE SOUSA, F. C. F.; VIANA, G. S. B. Behavioural and neurochemical alterations after lithium-pilocarpine administration in Young and adult rats: a comparative study. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 65, p. 547-551, 2000.

DE LORENZO, R.J.; RAZA, M.; PAL, S.; RAFIQ, A. Long-term alteration of calcium homeostatic mechanisms in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Brain Research.** v. 903, p. 1-12, 2001.

DE SARRO A.; AMMENDOLA D. ; ZAPPALA M. ; GRASSO S.; DE SARRO G.B. Relationship between structure and convulsant properties of some lactam antibiotics following intracerebroventricular microinjection in rats. **Antimicrob Agents Chemother.** v.39, p. 232–7, 1995.

DE SARRO, G.B.; CALO, M., BAGETTA, G., ANFOSSO, R., MARMO, E; NISTICO', G. and Guarino, V., Comparative epileptogenic properties of cefazolin and benzylpenicillin after intracaudate microinjection in rats, **Acta Pharmacol**, v. 4, p.236-238, 1983.

DE SARRO, G.B.; LIBRI, V.; ASCIOTI, C.; TESTA, R.; NISTICO, G. Anticonvulsant effect of denzimol in DBA/2 mice, **Neuropharmacology.** v.26, p.1425-1429, 1987.

DUDLEY, M.N. Imipenem-cilastatin. The promise of single-agent antimicrobial therapy fulfilled? **Clin. Pharmacol.** v. 5, p.760, 1996.

DUPUIS, A.; CAILLAUD, A.; PARIAT, C.; COURTOIS, P.; COUET, W; BOUQUET, S., Comparative cerebrospinal fluid diffusion of imipenem and meropenem in rats. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.52, p. 1143-1150, 2000.

DUPUIS, A.; PARIAT, C.; COURTOIS, P.; COUET, W. BOUQUET, S. Imipenem but not meropenem induces convulsions inDBA/2 mice, unrelated to cerebrospinal fluid concentrations. **Fundam. Clin. Pharmacol.**, v. 14, p. 163–165.

ENG, R. H.K, MUNSIF, A.N; NANGCO, B.G. Seizure propensity with imipenem. **Arch Intern Med.**, v. 149, p. 1881–3, 1989.

ENGEL, J.J.R. 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, p. 796-800, 2001.

ENGEL, J.Jr; SCHWARTZKROIN, P.A.; MOSHÉ, S.L; LOWENSTEIN, D.H. **Brain Plasticity and Epilepsy**. San Diego : Academic Press, 2001.

ERIC, V.; GRANOWITZ, M.D, RICHARD, B; BROWN, M.D. Antibiotic Adverse Reactions and Drug Interactions. **Crit Care Clin.**, v. 24, p. 421-442, 2008.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES, J. R. V.;FEATHERSTONE, R. M. A new v. and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity 7, **Biochem. Pharmacol.** p. 88-95, 1961.

FAULKNER, C. M, COX, H. L; WILLIAMSON, J.C. Unique aspects of antimicrobial use in older adults. **Clin Infect Dis.**, v. 40, p. 997–1004, 2005.

FERRAGUTI, F.; SHIGEMOTO, R. Metabotropic Glutamate Receptors. **Cell Tissue Research**. v. 326, p. 483-504, 2006.

FICA, A. E; ABUSADA, N.J. Seizures associated with ertapenem use in patients with CNS disorders and renal insufficiency. **Seccion de Infectologia**. Santiago: Editora da Independencia, 2008.

FILE, T. M, TAN ,J. S. Recommendations for using imipenem-cilastatinthe most broad spectrum antibiotic. **Hosp Formul**, v.22, p. 534–42, 1987.

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

FREITAS, R. M.; VASCONCELOS, S.M; Sousa, F. C, VIANA, G.S; FONTELES, M. M. Pharmacological studies of the opioids, mood stabilizer and dopaminergic drugs on pilocarpine-induced seizures and status epilepticus. **Neurosci Lett.** v.408, p. 84–8, 2006b.

FREUND, T.F.; BUZSÁKI, G. Interneurons of the hippocampus. **Hippocampus**. v. 6, p.347-470, 1996.

FUKUDA, T.; HEIZMANN, C.W.; KOSAKA, T. Quantitative analysis of GAD65 and GAD67 immunoreactivities in somata of GABAergic neurons in the mouse hippocampus proper (CA1 and CA3 regions), with special reference to parvalbumin-containing neurons **Brain Research**. v. 764, p. 237-243, 1997.

GALES, A. C.; MENDES, R. E; RODRIGUES, J. ; SADER, H. S. Comparação das atividades antimicrobianas de meropenem e imipenem/cilastatina: o laboratório necessita testar rotineiramente os dois antimicrobianos? **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 38, n. 1, 2002.

GETOVA-SPASSOVA, D. The role of brain cholinesterases and their inhibition in treatment of Alzheimer's disease: L6, **Autonom. Autacoid Pharmacol.**, v. 26, p. 50-51, 2006.

GIACOBINI, E. Cholinesterases: new roles in brain function and in Alzheimer's disease. **Neurochem. Res.**, v. 28, p. 515–522, 2003.

GOMES, M. M. Frequência populacional de epilepsia. **Revista Brasileira de Neurologia**. v. 33, n. 1, p. 3-7, 1997.

GREER N.D. **Doripenem (Doribax)**: the newest additions to the carbapenems. Proc. Baylor University Medical Center. v.21, p. 337-341, 2008.

GUERREIRO, C.A.M.; GUERREIRO, M.M. F.; CENDES, I. **Epilepsia**. São Paulo: Editoria Lemos, 2000.

HEIDARI, M.R.; KHALILI, F.; GHAZI-KHANSARI, M., *et al.* Effect of picrotoxin on antinociception in formalintest. **J. Pharmacol. Toxicol.**, v.78, p.313–316, 1996.

HEIDARI, M.R.; MANDEGARY, A.; HOSSEINI, A. *et al.* Anticonvulsant effect of methanolic extract of *Echium amoenum* Fisch and C.A Mey. against seizure induced by picrotoxin in mice. **Pakistan J. Biol. Sci.**, v. 9, p. 772-776, 2006.

HENSCHER, O.; KEITH,E. GABAA Receptors, Anesthetics and Anticonvulsants in Brain Development. **CNS Neurol Disord Drug Targets**. v. 7 p.211–224, 2008.

HIKIDA, M.. Inactivation of new carbapenem antibiotics by dehydropeptidase-I from porcine and human renal cortex. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 30, p.129-34, 1992.

HOFFMAN, J.; TRIMBLE, J.; GRETCHEN, M.B. Safety of Imipenem/Cilastatin in Neurocritical Care **Patients. Neurocrit Care.**, v.10, p. 403–407, 2009.

HOLLAND, K.D.; MCKEON, A.C.; CANNEY, D.J.; COVEY, D.F.; FERRENDELLI, J.A., Relative anticonvulsant effects of GABA mimetic and GABA modulatory agents, **Epilepsia**.v. 33, p. 981-986, 1992.

HORI, S; KURIOKA, S; MATSUDA, M; SHIMADA, J. Inhibitory effect of cephalosporins on gammaaminobutyric acid receptor binding in rat synaptic membranes. **Antimicrob Agents Chemother.**, v. 27, p.650-1, 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, p. 114–124, 2006.

HORROBIN, D. F.; MANLM, M. S.; CUNNANE, S.; KANNAZYN, M.; MORGAN, R. 0; ALLY, A. I., KANNA, J.J. Regulation of cytoplasmic calcium: Interactions between prostaglandins, prostacyclin, thromboxane A2, zinc,copper and taurine. **Can. J. Neurol Sci.**, v. 5, p. 93-96, 1978.

HRUSKA, R.E., LUDMER, L.M., PERT, A., PETER, J.R., BUNNEY, W.E. Effects of lithium on [3H] quinuclidinyl benzilate binding to rat brain muscarinic cholinergic receptors. **J Neurosci Res.**, v. 11, p. 171-180, 1984.

HULME, E. C. Muscarinic acetylcholine receptors: typical G-coupled receptors. **Symp Soc Exp Biol.**, v. 44, p. 39-54, 1990.

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. *In: OLIVEIRA, A. D. A. **Novos aspectos da ação de drogas antiepilépticas**: efeitos antioxidantes e modulação dos sistemas colinérgico e dopaminérgico. Tese (Doutorado)- Doutorado em Farmacologia. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.*

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, p.59–67, 1999.

JOHNSON JW, e ASCHER P. Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brai neurons. **Nature.**, v. 325, p. 529-531, 1987.

JONES RN, HUYNH H, BIEDENBACH D, FRITSCH T, SADER HS. Doripenem (S-4661), A novel carbapenem: Comparative activity against contemporary pathogens including bactericidal action and preliminary in vitro methods evaluations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** v. 54, p.144-54, 2004.

KURIHARA, A; HISAOKA, M.; MIKUNI, N.; KAMOSHIDA, K. Neurotoxicity of panipenem/betamipron, a new carbapenem, in rabbits: correlation to concentration in central nervous system. **J Pharmacobiodyn.** v. 15, p.325- 32, 1992.

LAZAROU, J.; POMERANZ, B.H; COREY, P.H. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. **JAMA**, v. 279, p.1200–5, 1998.

LIAO, C. F.; THEMME, A. P. N.; JOHO, R.; BARBERIS, C.; BIRNBAUMER, M.; BIRNBAUMER, L. Molecular cloning and expression of a fifth muscarinic acetylcholine receptor. **J. Biol. Chem.** v. 264, p. 7328-7337, 1989.

LING, E. A.; TANG, F. R.; LEE, W. L.; YANG, J.; SIM, M. K. Expression of metabotropic glutamate receptor 1 in the hippocampus of rat pilocarpine model of status epilepticus. **Epilepsy Research.** v. 46, p. 179-189, 2001.

LIPTON, S.A; ROSENBERG, P.A. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. **N Engl J Med.**, v. 330, p. 613-22, 1994.

LIU, Q.R; LOPEZ-CORCUERA, B.; MANDIYAN, S.; NELSON, H.; NELSON, N. Cloning and Expression of a Spinal Cord-and Brain-specific Glycine Transporter with Novel Structural Features. **J. Biol. Chem.**, v. 268, p.22802–22808, 1993.

LÖSCHER W, SCHMIDT D. New horizons in the development of antiepileptic drugs: Innovative strategies. **Epilepsy Research.** v. 69,183-272, 2006.

LÖSCHER W. New visions in the pharmacology of anticonvulsion. **European Journal of Pharmacology.**, v.342, p.1.13, 1998.

- LUNDE, J.L.; NELSON, R.E.; STORANDT, H.F. Acute seizures in a patient divalproex sodium after starting ertapenem therapy. **Pharmacotherapy**, v. 27, p. 1202-05, 2007.
- MACKENZIE, F.M; GOULD, I.M; CHAPMAN, D.G et al. Comparison of methodologies used in assessing the postantibiotic effect. **J Antimicrob Chemother**. v.34,p.223–30, 1994.
- MARCHETTI R.L.; DAMASCENO, B.P. Epilepsia: Psicopatologia e comportamento. In: Guerreiro, C.A.M.; GUERREIRO, M.M.; CENDES, F.; CENDES, I.L. **Epilepsia**. São Paulo: Editora Lemos, p. 231-242, 2000.
- MARINHO, M.M.F. et al. Effects of lithium, alone or associated with pilocarpine, on muscarinic and dopaminergic receptors and on phosphoinositide metabolism in rat hippocampus and striatum. **Neurochemistry International**. v. 33, p. 299-306, 1998.
- 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 lithiumpilocarpine in rats. **Neuroscience Letters**. v. 235, p. 13-16, 1997.
- MCGEER,P.L; ECCLES, J.C . ;MCGEER, E.G. **Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain**. New York: Plenum Press, p. 149-224, 1980.
- MELDRUM, B. S. Glutamate as a neurotransmitter in the brain. Review of Physiology and Pathology. **The Journal of Nutrition**, v. 130, p. 1007-1015, 2000.
- MELDRUM, B.S.; MILLAN, M.; PATEL, S.; DE SARRO, G.B., Antiepileptic effects of focal micro-injection of excitatory amino acid antagonists, **J. Neural. Transm.**, v. 72, p. 191-200, 1988.
- MILLAN, M.H.; CHAPMAN, A.G.; MELDRUM, B.S. Extracellular amino acid levels in hippocampus during pilocarpine-induced seizures. **Epilepsy Res.**, v.14, p. 139-148, 1993.
- 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, p. 375-379, 1999.
- NORRBY, S.R; GILDON, K.M. Safety profile of meropenem: a review of nearly 5,000 patients treated with meropenem. **Scand J Infect**, v.31, p.3–10, 1999.
- OLNEY, J. W.; COLLINS, R. C.; SLOVITER, R. S. Excitotoxic mechanisms of epileptic brain damage. **Adv. Neurol.**, v. 44, p. 857-877, 1986.
- OLNEY, J. W.; DE-CUBAREFF, T.; LABRUYERE, J. Seizure-related brain damage induced by cholinergic agents. **Nature**, v. 301, p. 520-522, 1983.
- OTTERSEN, O.P; STORM-MATHISEN, J. Glutamate. **Handbook of chemical neuroanatomy**. Amsterdam: Elsevier, v.18, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC; Porto Alegre: Editora da UFRGS,1999.

PACKAGE Insert. **Merrem IV (meropenem for injection)**. Wilmington, DE: February 2007.

PACKAGE Insert. **Primaxin IV (imipenem and cilastatin for injection)**. Whitehouse Station, NJ: December 2007.

PATEL, S., CHAPMAN, A.G., GRAHAM, J.L., MELDRUM, B.S. and Frey, P., Anticonvulsant activity of the NMDA antagonists, D-4-(3-phosphonopropyl)piperazine-2-carboxylic acid (D-CPP) and D-(E)-4-(3-phosphonoprop-2-enyl)piperazine-2-carboxylic acid (D-CPPene) in a rodent and a primate model of reflex epilepsy, **Epilepsy Res**, v.7, p. 3-10,1990.

PATEL, S., DE SARRO, G.B.; MELDRUM, B.S., Regulation of seizure threshold by excitatory amino acids in the striatum and entopeduncular nucleus of rats. **Neuroscience**, v.23, p. 837-850, 1988.

PEPEU, G. Brain acetylcholine: an inventory of our knowledge on the 50th anniversary of its discovery. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 4, p. 416- 418, 1983.

PERALTA, E. G.; WINSLOW, J. W.; PETERSON, G. L.; SMITH, D. H.; ASHKENAZI, A.; Primary structure and biochemical properties of an M2 muscarinic receptor. **Science**. v. 236, 1987.

PESTOTNIK, S.L; CLASSEN, D.C; EVANS, R.S; et al. Prospective surveillance of imipenem/cilastatin use and associated seizures using a hospital information system. **Ann Pharmacother**, v.27, p.497-501.

PIRMOHAMED, M; PARK ,B.K. HIV and drug allergy Curr Opin Allergy. **Clin Immunol**, v.1, 2001.

PISERA, D. Fisiologia da Dor. In: OTERO, P. E. Dor: **Avaliação e tratamento em pequenos animais**. Sao Paulo: Interbook, p.30-75, 2005.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Modelos animais para avaliação de drogas anticonvulsivantes: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.**, v.88, p.163-166, 2007.

RADCLIFFE, K.A.; FISHER, J.L.; GRAY, R.; DANI, J.A. Nicotinic modulation of glutamate and GABA synaptic transmission. **Ann NY Acad Sci.**, v.868, p.591-610, 1999.

RAMACHANDRAN, J.; SCHIMERLIK, M. I.; CAPON, D. J. Primary structure and biochemical properties of an M2 muscarinic receptor. **Science**. v. 236, p. 600-605, 1987.

RAMANJANEYULU, R; TICKU, M.K., Interaction of pentamethylenetetrazole and tetrazole analogues with the picrotoxinin site of the benzodiazepine-GABA receptor-ionophore complex. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 98, p.337-345, 1984.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.. MOORE, P.K. **Farmacologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

ROBERTS, E. Introduction. In *GABA in Nervous System Function*. Roberts E, Chase T.N. and Tower D.B., Raven Press, New York, p. 1-6, 1976.

ROUX M.J, SUPPLISSON S. Neuronal and glial glycine transporters have different stoichiometries. **Neuron.**, v.25, p.373–383, 2000.

SANTOS, S B; SILVA, F. L.; ROMEUS, S. S. ; COELHO, G. R. ; OLIVEIRA, S. G. Teste “in vitro” com ertapenem dentro de um Hospital público do Rio de Janeiro. **RBAC**, v. 39, p. 51-53, 2007.

SCHLIAMSER,S.E; BROHOLM,K.A.; LILJEDAHL,A.L; NORRBY, S.R.. Comparative neurotoxicity of benzylpenicilin, imipenem/cilastatin and FCE 22101, a new injectible penem. **J Antimicrob Chemother.**, v. 22, p.687-95, 1988.

SCHLIAMSER, S.E; CARS, O, NORRBY, S.R. Neurotoxicity of b-lactam antibiotics: predisposing factors and pathogenesis. **J Antimicrob Chemother.**, v.27, p. 405-25, 1991.

SCORZA, F. A.; ARIDA, R. M.; PRIEL, M. R. ; CALDERAZZO, L. ; CAVALHEIRO, E.A. Glucose utilisation during status epilepticus in an epilepsy model induced by pilocarpine. **Arq Neuropsiquiatr.**, v. 60, p.198-203, 2002.

SCOTT, R.A; LHATOO, S.D; SANDER, J.W. The treatment of epilepsy in developing countries: where do we go from here? **Bull World Health Organ.**, v. 79, n. 4, p. 344-51, 2001.

SHIH, T. M.; KOVIK, T. A.; CAPACIO, B. R. Anticonvulsants for poisoning by the organophosphorus compound soman: pharmacological mechanisms. **Neurosci. Biobehav.**, v. 15, p. 349-362, 1991.

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,p. 377–381, 1992.

SIEGEL, R; AGRANOFF, B.; ALBERS, R.W.; MOLINOFF, P. **Basic Neurochemistry – Molecular, Cellular and Medical Aspects**. E.U.A.: Raven Press, 4th ed., 1989.

SIMONIC, A.; LAGINJA, J.; VARLJEN, J.; ZUPAN, G.; ERAKOVIC, V. Lithium plus pilocarpine induced status epilepticus – biochemical changes. **Neuroscience Research**. v. 36, p. 157-166, 2000.

SMITH, M; WILCOX, K.S. ;WHITE ,H.S. Discovery of antiepileptic drugs. Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental. **NeuroTherapeutics.**, v.4, p.12-17, 2007.

SMITH, S.M.; CHMEL, H., Seizure propensity with imipenem, **Arch. Int. Med.**, v. 149, p.1881-83, 1989.

SNAVELY, S.R, HODGES, G.R. The neurotoxicity of antibacterial agents. **Arch Intern Med.**, v.101, p.92–104, 2008.

SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase – new roles for an old actor. *In*: OLIVEIRA, A.D. A. **Novos aspectos da ação de drogas antiepilépticas: efeitos antioxidantes e modulação dos sistemas colinérgico e dopaminérgico.** Tese (Doutorado)- Doutorado em Farmacologia. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

SPRIET I; GOYENS J; MEERSSEMAN W; WILMER A; WILLEMS L; VAN PAESSCHEN W. Interaction between valproate and meropenem: a retrospective study. University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium, 2007. status epilepticus. **Neurosci. Lett.**, v. 399, p. 76-79, 2006b.

STURMAN, J. A., RASSIN, D. K.; GAULL, G. E. Taurine in the development of the central nervous system. **Ann. Rev. Nutr.**, v. 1, p. 47-91, 1981.

STURMAN, J. A.. Taurine in the developing rabbit visual system: changes in concentration and axonal transport including a comparison with axonally transported proteins. **J. Neurobiol.**, v.10, p.221-37, 1979.

SUNAGAWA, M.; MATSUMURA, H; SUMITA, Y.; NOUDA, H. Structural features resulting in convulsive activity of carbapenem compounds: effect of C-2 side chain. **W Antibiot Tokyo**, v. 48, p.408-16, 1995.

SWINYARD, E.A. Laboratory evaluation of antiepileptic drugs. Review of laboratory methods. **Epilepsia**, v. 10, p.107–119, 1969.

SYAPIN, P.J. ;RICKMAN, D.W., Benzodiazepine receptor increase following repeated pentylenetetrazol injections, **Eur. J. Pharmacol**, v.72, p. 117-120, 1981.

Tapiero, H., Mathe, G., Couvreur, P., Tew, K.D., II. Glutamine and glutamate. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 56, p.446-457, 2002.

TURSKI L. Seizures produced by pilocarpine in mice: a behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. **Brain res.**, v. 321, p. 237-53, 1984.

TURSKI, L.; IKONOMIDOU, C.; TURSKI, W.A.; BORTOLOTTI, Z.A.; Cavalheiro, E.A. Review: cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. **Synapse**, v. 3, p. 154-71, 1989.

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

TZSCHENTKE, T.M. Glutamatergic mechanisms in different disease states: overview and therapeutical implications – an introduction. **Amino Acids**, v. 23, p. 147–152, 2002

VAN DEN EYNDEN, J.; SAHEBALI, S.; HORWOOD, N.; CARMANS, S. ; BRONE, B. ; HELLINGS, N.; STEELS, P.; HARVEY, R. J; RIGO, J.M .Glycine and glycine receptor signaling in non-neuronal cells. **Front Mol Neurosci**, v. 2, p.9, 2009.

VAN DER ZEE, E.A.; LUITEN, P.G. Muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus, neocortex and amygdala: a review of immunocytochemical localization in relation to learning and memory. **Prog Neurobiol.**, v. 58, p.409-71, 1999.

VAN GELDER, N.M.; SIATITSAS, I.; MENINI, C.; GLOOR, P., Feline generalised penicillin epilepsy: changes of glutamic acid and taurine parallel to progressive increase in excitability of cortex, **Epilepsia**, v.24, p. 200-21, 1983.

WASTERLAIN C.G.; SHIRASAKA Y. Seizures, brain damage and brain development. **Brain & Development.**, v. 16, p.279-95, 1994.

WESS, J.; BONNER, T. I.; DÖRJE, F.; BRANN, M. R. Delineation of muscarinic receptor domains conferring selectivity of coupling to guanine nucleotide-binding proteins and second messengers. **Mol. Pharmacol.** v. 38, p. 517-523, 1990.

WHITE, H. S. Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v. 38, p. 9-17, 1997.

WILLIAMS, P.D. ; BENNETT, D.B; COMERESKI, C.R. Animal model for evaluating the convulsive liability of b-lactam antibiotics. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 32, p.758-60, 1988.

WONG VK, Wright HT, Ross LA, et al. Imipenem/cilastatin treatment of bacterial meningitis in children. **Pediatr Infect Dis J.**,v.10, p.122–5, 1999.

YACUBIAN, E.M.T. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Editorial Lemos, 2004.

ZHANEL GG; JOHANSON C; EMBIL JM; NOREDDIN A; Gin A; Vercaigne L; Hoban DJ. Ertapenem : review of a new carbapenem. **Expert Rev. Anti Infect. Ther**, v.3, p. 23–39, 2005.

ZHANEL, G.G; WIBE, R; DILAY, L; THOMSON, K; RUBINSTEINS, E; HOBAN, D.J; NOREDDIN, A.M; KARLOWSKY, J.A. Comparative review of the carbapenems, **Drugs.**, v.67, p.1027-52, 2007.

ZIA, A; SIDDIQUI, B.S.; BEGUM, S.; SURIA, A. Studies on the constituents of the leaves of Neriumoleander on behavior pattern in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.49, p.33-39, 1995.

ZILLES, K.; WU, J.; CRUSIO, W.E.; SCHWEGLER, H. Water maze and radial maze learning and the density of binding sites of glutamate, GABA, and serotonin receptors in the hippocampus of inbred mouse strains. **Hippocampus**, v. 10, p. 213-225, 2000.