

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

BEATRIZ DE ANDRADE MARQUES
RAFAELA LARANJEIRA SILVA

**A UTILIZAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DO FENOBARBITAL INTERCALADO PARA O
CONTROLE DO QUADRO CONVULSIVO**

Belém
2019

BEATRIZ DE ANDRADE MARQUES
RAFAELA LARANJEIRA SILVA

**A UTILIZAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DO FENOBARBITAL INTERCALADO PARA O
CONTROLE DO QUADRO CONVULSIVO**

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

Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy

Belém
2019

BEATRIZ DE ANDRADE MARQUES
RAFAELA LARANJEIRA SILVA

**A UTILIZAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DO FENOBARBITAL INTERCALADO PARA O
CONTROLE DO QUADRO CONVULSIVO E EPILEPSIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Pará para obtenção de grau de Bacharel em Medicina.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Moisés Hamoy
Universidade Federal do Pará –UFPA
Orientador

Profa. Dra. Vanessa Joia de Mello
Universidade Federal do Pará – UFPA
Examinadora Interna

Prof. Msc. Rômulo Augusto Feio Farias
Universidade Federal do Pará - UFPA
Examinador Interno

Aprovada em: ___/___/___

Conceito: _____

Dedico este trabalho primeiramente à Deus, pela força e coragem concedidas a mim durante toda esta caminhada. Aos meus pais, Israel e Edileuza, irmãos e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Ao professor Moisés Hamoy pelo incentivo e pela paciência na orientação que tornaram possível a conclusão desta monografia.

Beatriz de Andrade Marques.

Dedico este trabalho primeiramente à Deus por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia. À minha mãe por sempre me ajudar e apoiar durante a caminhada acadêmica. Ao meu esposo por toda cumplicidade e incentivo. À minha irmã por sempre estar ao meu lado e ao prof. Hamoy por toda dedicação e empenho para que esse trabalho fosse possível.

Rafaela Laranjeira Silva.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos, em primeiro lugar, à Deus, por nos ter dado saúde e força para superar as dificuldades. À esta universidade, seu corpo docente, direção e administração que oportunizaram a janela que hoje vislumbramos um horizonte superior. Ao nosso orientador, pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho. Agradecemos a todos os professores por nos proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a nós, e não somente por terem nos ensinado, mas por terem nos feito aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão nossos eternos agradecimentos. A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de nossa formação, muito obrigado.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota”.

Theodore Roosevelt.

RESUMO

INTRODUÇÃO: As convulsões geralmente são eventos assustadores para quem os presencia e representa uma causa importante de visita à emergência pediátrica. O fenobarbital consiste em um medicamento barbitúrico que apresenta ação no sistema nervoso central, usado para prevenir o aparecimento de convulsões em indivíduos com epilepsia ou crises convulsivas de outras origens. Diversos trabalhos demonstram alta eficiência dos HDLs em sistemas de liberação controlada de fármacos fazendo com que eles sejam um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para ser utilizado como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada. **OBJETIVOS:** Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia do fenobarbital de liberação lenta no controle das convulsões deflagradas pelo pentilenotetrazol, verificando o tempo de permanência no efeito anticonvulsivante através do comportamento e de registros eletroencefalográficos. **METODOLOGIA:** Foi realizado um estudo quantitativo experimental no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Foram utilizados 162 ratos wistar machos adultos, pesando entre 200 a 250g, divididos em 2 grupos, sendo um para análise comportamental (n=90) e bioquímica e outro para aquisição de registro electrocorticográfico (n=72). As enzimas hepáticas foram dosadas por meio da obtenção de amostra de sangue dos animais estudados, sendo analisadas no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, por meio de um aparelho de análise bioquímica da função hepática da marca Wiener lab GROUP, modelo CM 200. O procedimento para implante dos eletrodos e os registros electrocorticográficos foram realizados conforme descrito por Hamoy (2011, p. 55-56). Os valores dos resultados foram descritos como média e desvio padrão. As comparações de potência serão feitas usando o ANOVA e teste de Turkey, através do software GraphPadPrism® 5. **RESULTADOS:** Com a retirada do fenobarbital por um período de 36 horas os animais apresentaram evolução do quadro convulsivo até o estágio V após a indução com o pentilenotetrazol, porém os animais que receberam o fenobarbital intercalado apresentaram latências maiores para a deflagração do quadro convulsivo, o que indicou a permanência do efeito anticonvulsivante da droga. A utilização de fenobarbital não intercalado e intercalado não aumentaram a enzima ALT, em relação ao grupo controle, havendo manutenção da enzima próximo aos padrões de normalidade, diferentemente do que foi observado ao se analisar a enzima AST, em que a utilização do fenobarbital não intercalado induziu um aumento relevante de AST em comparação ao grupo controle, o que pode sugerir um certo comprometimento hepático.

CONCLUSÃO: Ambas as drogas, fenobarbital intercalado e fenobarbital não intercalado, exercem segurança contra as crises convulsivas induzidas pelo PTZ no período de 12, 24 e 36 horas. Porém após 36 horas de uso do PBTI, foi constatado efeito protetor superior do mesmo pelo fato deste composto apresentar um maior tempo de permanência no organismo.

PALAVRAS-CHAVES: Convulsões, Fenobarbital intercalado, Fenobarbital não intercalado.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Convulsions are usually events for those who are present and are an important cause of pediatric emergency visits. Phenobarbital consists of a barbiturate drug that acts on the central nervous system, used to prevent the onset of seizures in individuals with epilepsy or seizures of other origins. Several works demonstrate high efficiency of HDLs in controlled drug release systems making them one of the inorganic materials pointed out as promising to be used as a support for the storage and sustained release of the intercalated substance. **OBJECTIVES:** This study aims to evaluate the efficacy of slow release phenobarbital in the control of convulsions triggered by pentilenotetrazol, verifying the time of permanence in the anticonvulsant effect through behavior and electroencephalographic records. **METHODS:** A quantitative experimental study was carried out at the Laboratory of Pharmacology and Toxicology of Natural Products of the Biological Sciences Institute of the Federal University of Pará. A total of 162 adult male Wistar rats weighing between 200 and 250g were divided into two groups, one for behavioral analysis (n = 90) and biochemistry and another for the acquisition of electrocorticographic record (n = 72). Hepatic enzymes were measured by obtaining a blood sample from the animals studied and analyzed in the Laboratory of Clinical Analysis of the Biological Sciences Institute of the Federal University of Pará by means of a biochemical analysis of liver function of the Wiener lab GROUP, model CM 200. The procedure for electrode implant and electrocorticographic recordings were performed as described by Hamoy (2018, p. 55-56). The values of the results were described as mean and standard deviation. Power comparisons will be made using ANOVA and Turkey test using GraphPadPrism ® 5 software. **RESULTS:** With the withdrawal of phenobarbital for a period of 36 hours, the animals evolved from the convulsive stage to stage V after induction with pentylenotetrazole, but the animals that received intercalated phenobarbital presented higher latencies for the triggering of the convulsive condition, which indicated the permanence of the anticonvulsive effect of the drug. The use of non-intercalated and intercalated phenobarbital did not increase the ALT enzyme in relation to the control group, maintaining the enzyme close to the normality standards, unlike what was observed when analyzing the AST enzyme, in which the use of non-intercalated phenobarbital induced a significant increase in AST compared to the control group, which may suggest a certain hepatic impairment. **CONCLUSION:** Both drugs, intercalated phenobarbital and non-intercalated phenobarbital, exert safety against PTZ-induced seizures in 12, 24 and 36 hours.

However, after 36 hours of PBTI use, a higher protective effect was observed because this compound had a longer residence time in the organism.

KEYWORDS: Convulsions, intercalated phenobarbital, non-intercalated phenobarbital.

LISTA DE ABREVIATURAS

SV2A - Proteína da vesícula sináptica 2A
SNC - Sistema Nervoso Central
ILAE - Liga Internacional Contra a Epilepsia
EEG - Eletroencefalografia
ABE - Associação Brasileira de Epilepsia
NMDA - N-metil D-Aspartato
GABA - Ácido gama-aminobutírico
ILAE - International League Against Epilepsy
DAE - Drogas Antiepiléticas
PTZ - Pentilenotetrazol
SANAD - Novas Drogas Antiepiléticas
CBZ - Carbamazepina
CYP - Citocromo P450
UGT - Uridina-Glicuronosiltransferase
BZD - Benzodiazepínicos
REM - Rapid Eye Movement
AAL - Ácido ô-aminolevulínico
TCE - Traumatismo Cranioencefálico
RM - Ressonância Magnética
TC - Tomografia Computadorizada
AMPA - Alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico
CSF - Fluido Cérebro-espinhal
PSD - Potencial Espectral
PBTNI - Fenobarbital Não Intercalado
PBTI - Fenobarbital Intercalado
ALT - Alanina Aminotransferase
AST - Aspartato Aminotransferase
I.P - Intra Parenteral
IV- Intravenoso

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 1.1. Objetivo geral..... | 14 |
| 1.2. Objetivos específicos | 15 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 16 |
| 2.1. Crise convulsiva | 16 |
| 2.1.1. Etiologia..... | 17 |
| 2.1.2. Diagnósticos diferenciais..... | 17 |
| 2.1.3. Crises convulsivas atendidas na emergência | 18 |
| 2.1.4. Classificação clínica da crise convulsiva..... | 19 |
| 2.1.5. Investigação diagnóstica | 20 |
| 2.1.6. Manejo das crises na emergência | 21 |
| 2.2. Fenobarbital | 23 |
| 2.2.1. Propriedades anticonvulsivantes do fenobarbital | 25 |
| 2.2.2. Classe farmacológica do fenobarbital..... | 25 |
| 2.2.3. Química dos barbitúricos | 25 |
| 2.2.4. Mecanismo de ação..... | 26 |
| 2.2.5. Administração..... | 27 |
| 2.2.6. Efeitos adversos | 27 |
| 2.2.7. Indicações terapêuticas do fenobarbital | 28 |
| 2.2.8. Contraindicações..... | 29 |
| 2.3. Hidróxidos duplo lamelares | 29 |
| 2.4. Modelo do pentilenotetrazol na crise convulsiva | 31 |
| 3. METODOLOGIA..... | 33 |
| 3.1. Tipo de pesquisa | 33 |
| 3.2. Local da pesquisa | 33 |
| 3.3. Coleta de dados | 33 |
| 3.3.1. Animais..... | 33 |
| 3.3.2. Divisão dos grupos | 33 |
| 3.3.3. Dosagem das enzimas hepáticas | 35 |
| 3.3.4. Implante dos eletrodos | 35 |
| 3.3.5. Indução da convulsão e registro | 36 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 3.4. | Análise dos dados | 36 |
| 4. | RESULTADOS | 37 |
| 5. | DISCUSSÃO | 45 |
| 6. | CONCLUSÃO | 48 |
| | REFERÊNCIAS..... | 49 |
| | APÊNDICE A - ARTIGO..... | 59 |
| | ANEXO A - FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA..... | 86 |

1 INTRODUÇÃO

As convulsões geralmente são eventos assustadores para quem os presencia e representa uma causa importante de visita à emergência pediátrica. Uma crise epilética constitui um sinal de anormalidade na função do cérebro, sendo caracterizada por descargas elétricas anormais e excessivas de um grupo de neurônios que provocam manifestações clínicas súbitas (BRITO et al, 2017; SASIDARAN et al, 2012), tais como alteração ou perda da consciência, uma atividade motora anormal, distúrbios de comportamento, disfunção autonômica e sintomas sensoriais/sensitivos (BRITO et al, 2017; BLUMSTEIN, FRIEDMAN, 2007). As crises epiléticas com manifestações motoras correspondem às convulsões, já as crises epiléticas não convulsivas são representadas pelas crises de ausência, assim como aquelas com sintomas exclusivamente sensitivos, visuais ou auditivos (BRITO et al, 2017).

O fenobarbital consiste em um barbitúrico com propriedades anticonvulsivantes, em função de sua capacidade de elevar o limiar de convulsão. Este é um medicamento que apresenta ação no sistema nervoso central, usado para prevenir o aparecimento de convulsões em indivíduos com epilepsia ou crises convulsivas de outras origens (TEUTO, 2016). Possui um largo espectro de ação, tendo efetividade similar à de outros fármacos anticonvulsivantes. Seu uso é seguro e está disponível tanto em apresentações orais e como parenterais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

O mecanismo de ação mais importante dessa droga consiste no prolongamento da abertura dos canais de cloro, dos receptores GABAA e consequente hiperpolarização da membrana pós-sináptica. O fenobarbital pode também bloquear os canais de sódio e potássio, reduzir o influxo de cálcio pré-sináptico e, possivelmente, reduzir as correntes mediadas pelo glutamato. O fenobarbital é ainda amplamente utilizado na prática clínica, em razão de apresentar eficácia equivalente à de fenitoína no tratamento em monoterapia tanto de crises focais como nas generalizadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013; NOLAN et al, 2013). Está indicado no tratamento de tanto de crises focais como generalizadas de pacientes de qualquer idade, incluindo recém-nascidos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

O desenvolvimento de materiais híbridos representa um campo de pesquisa que vem demonstrando um crescimento considerável nos últimos anos, especialmente pelo fato de harmonizar o conhecimento tradicional com as novas abordagens e as tecnologias modernas. Essa amplificação visa atender à crescente demanda por novos materiais multifuncionais, com variadas aplicações em Física, Química, Biologia, Agricultura e Medicina. Particularmente,

tem merecido destaque a grande quantidade de trabalhos que abordam utilização de nanopartículas como cápsulas de armazenamento ou carregadores de espécies de interesse biológico e terapêutico (CUNHA et al, 2010; XU et al, 2006; SANVICENS, MARCO, 2008; SOKOLOVA, EPPLE, 2008).

Inúmeros sistemas para liberação controlada de drogas têm sido arquitetados e descritos, comparando suas vantagens e desvantagens, e podem ser classificados em quatro principais grupos: carregadores virais, compostos catiônicos orgânicos, proteínas recombinantes e nanopartículas inorgânicas. Como exemplos recentes tem-se: pontos quânticos (*quantum dots*) ou nanocompósitos magnético-fluorescentes; géis poliméricos; nanotubos de carbono ou sílica funcionalizados; cápsulas multilamelares de polieletrólitos; nanopartículas de ouro e hidróxidos duplos lamelares (HDLs) (CUNHA et al, 2010).

O termo “argilas amônicas” é usado para intitular os hidróxidos duplos lamelares, naturais ou sintéticos, contendo espécies aniônicas no domínio interlamelar. Esta designação é devida a um paralelo com o termo “argilas catiônicas”, utilizado para aqueles materiais que são constituídos de camadas de aluminossilicatos carregadas negativamente, com cátions no espaço interlamelar para compensar estas cargas. Nos últimos anos o termo Hidróxido Duplo Lamelar (HDL) tem sido mais utilizado e refere-se a características estruturais, destacando a presença de dois cátions metálicos na lamela destes compostos (SANTOS, 2016).

Diversos trabalhos demonstram alta eficiência dos HDLs em sistemas de liberação controlada de fármacos (SANTOS, 2016). As propriedades dos HDLs (como o caráter antiácido) podem ser combinadas com as propriedades do composto intercalado, tendo como resultado um híbrido no qual as estabilidades química, térmica e/ou fotoquímica, entre outras, são sensivelmente aumentadas em relação à do fármaco livre. Além disso, o material intercalado poderá sofrer um processo de liberação prolongada, decorrente da dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma reação de troca aniônica (CUNHA et al, 2010; CHOY et al, 2008; DEL HOYO, 2008). Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para ser utilizado como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada, que pode ser um tanto um fármaco como os anti-inflamatórios não-esteroidais, drogas anticancerígenas, um regulador de crescimento vegetal, porfirinas para uso em terapia fotodinâmica, aminoácidos, herbicidas, como a molécula de DNA em procedimentos de terapia gênica (CUNHA et al, 2010).

1.1 Objetivos gerais

Avaliar a eficácia do fenobarbital de liberação lenta no controle das convulsões deflagradas pelo pentilenotetrazol (PTZ), verificando o tempo de permanência no efeito anticonvulsivante através do comportamento e de registros eletroencefalográficos.

1.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o quadro de convulsão agudo provocado pela aplicação de pentilenotetrazol, levando em conta padrões de comportamento e do registro eletroencefalográfico, para criação de escores que facilitará a análise com o fenobarbital de liberação lenta.
- Criar dispositivos para análise dos dados eletroencefalográficos que possibilite associar o comportamento observado e as alterações eletroencefalográficas.
- Quantificar as alterações eletroencefalográficas observada após a aplicações de pentilenotetrazol e verificar a sua intensidade após a aplicação do fenobarbital de liberação lenta e comparar com o fenobarbital não intercalado (PBTNI) já utilizado para controle da convulsão, verificando a permanência do seu efeito em 12, 24 e 36 horas após a última administração.
- Verificar a função hepática dos animais após a utilização do fenobarbital intercalado (PBTI).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Crise convulsiva

A crise epiléptica consiste em uma anormalidade na função do cérebro, sendo definida como a ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas devido a uma atividade neuronal síncrona ou excessiva no cérebro. Esses sinais ou sintomas incluem fenômenos anormais súbitos e transitórios tais como alterações da consciência, ou eventos motores, sensitivo-sensoriais, disfunções autonômicas ou psíquicas involuntárias percebidos pelo paciente ou por um observador (SILVA et al, 2018; THURMAN et al, 2011; BRITO et al, 2017; SASIDARAN et al, 2012; BLUMSTEIN, FRIEDMAN, 2007; GUARAGNA et al, 2018; PICON et al, 2010).

Convulsões correspondem as crises epilépticas com manifestações motoras. As crises de ausência, bem como aquelas com sintomas exclusivamente sensitivos, visuais ou auditivos, são denominadas crises não convulsivas (BRITO et al, 2017). As crises epilépticas, sejam elas convulsivas ou não, são bem mais comuns do que se imagina. Cerca de 9% da população apresentará pelo menos uma crise ao longo da vida (DULAC, 1997; CARVALHO, SOUZA, 2002).

As crises não provocadas constituem aquelas em que não há fatores desencadeantes identificáveis, como, por exemplo, febre, traumatismo cranioencefálico (TCE) ou distúrbio metabólico (CARVALHO, SOUZA, 2002). As crises são denominadas sintomáticas remotas quando a criança tem antecedente de insulto neurológico prévio, tal como uma encefalopatia não progressiva desde o nascimento, acidente vascular cerebral ou TCE, provocando uma lesão estática. Os casos de crises não provocadas em que não há antecedente etiológico serão categorizadas como idiopáticas ou criptogênicas. O termo idiopático não deve ser utilizado para crises sem causa óbvia, como é feito frequentemente, e sim usado para classificar síndromes epilépticas parciais ou generalizadas, com características clínicas e eletrográficas específicas. As crises não configuradas como idiopáticas ou sintomáticas remotas são denominadas criptogênicas (CARVALHO, SOUZA, 2002; COMMISSION ON EPIDEMIOLOGY AND PROGNOSIS, 1993). Nas formas idiopáticas, não há presença de fatores causais, nas sintomáticas existe algum fator etiológico conhecido, sendo postulado, por alguns autores, que as variações entre essas duas poderiam ocorrer, sugerindo assim a existência de um continuum biológico entre as diversas entidades em detrimento da ideia de

síndromes epilépticas distintas. (CARVALHO, SOUZA, 2002; BERKOVIC, 1994; BERKOVIC, 1987).

As crises convulsivas correspondem a manifestação neurológica mais frequente nos departamentos de emergência (GUARAGNA et al, 2018; PORTELA, 2011; CASELLA et al, 1999), representando cerca de 1-5% dos atendimentos, excluindo-se o trauma (CASELLA et al, 1999). Dentre elas, as que necessitarão de intervenção imediata e investigação são as crises recorrentes ou as prolongadas (com duração maior que 5 minutos), pois quanto mais tempo de crise, maior a sua morbimortalidade, já que neurotoxicidade e danos cerebrais podem ser provocados por convulsões prolongadas (GUARAGNA, 2018; PORTELA, PIVA, 2011).

2.1.1 Etiologia

É importante esclarecer se a crise é manifestação de um quadro agudo ou de uma doença crônica. Com a anamnese objetiva-se obter uma descrição detalhada do episódio paroxístico, dos períodos pré e pós-ictal, buscando observar os fatores que possam ter cooperado para o desencadeamento da crise (BRITO et al, 2017; SASIDARAN et al, 2012).

O tipo de crise, juntamente com achados no exame neurológico, pode oferecer pistas acerca de sua etiologia. As principais etiologias consistem em: febre, epilepsia primária, malformação cerebral, infecção de sistema nervoso central, tumor cerebral, traumatismo cranioencefálico, hemorragia cerebral, hipóxia, intoxicações exógenas, distúrbios metabólicos, como hipoglicemia, hipocalcemia, hipo ou hipernatremia, hipomagnesemia, síndromes neurocutâneas, erros inatos do metabolismo e encefalopatias crônicas progressivas (BRITO et al, 2017; CAPLAN et al, 2016).

2.1.2 Diagnósticos diferenciais

Após a pesquisa dos principais fatores desencadeantes de crises epilépticas, é importante diferenciar uma crise epiléptica de outros distúrbios paroxísticos da consciência que podem confundir o diagnóstico, como: síncope vasovagal ou cardiogênica; transtornos psiquiátricos; distúrbios do sono (como narcolepsia ou movimento periódico dos membros durante o sono); migraena; amnésia global transitória. A avaliação em serviço de emergência deve sempre ser reputado nos casos de suspeita de infecção do SNC, AVC ou AIT agudo, distúrbios hidroeletrólíticos graves e síncope de provável origem cardiogênica (TELESSAÚDERS/UFRGS, 2016).

2.1.3 Crises convulsivas atendidas na emergência

- Crise convulsiva febril: corresponde a uma crise associada à temperatura acima de 38°C em crianças entre 6 meses e 5 anos sem infecção do sistema nervoso central (SNC), podendo ser classificada em simples (generalizada, durando menos de 15 minutos, sem recorrência em 24 horas) (GUARAGNA, 2018; SUBCOMMITTEE ON FEBRILE SEIZURES, 2011; BRITO, 2017; CAPOVILLA et al, 2009; HAMPERS, SPINA, 2011) ou complexa (focal, apresentando duração de pelo menos 15 minutos e/ou recorrência em 24 horas, além de déficit neurológico focal) (GUARAGNA, 2018; SUBCOMMITTEE ON FEBRILE SEIZURES, 2011; BRITO, 2017; GUPTA, 2016). Ocorrem em três ou quatro de cada 100 crianças, com pico entre os 12 e os 18 meses de idade (BRITO et al, 2017; AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS, 2015). Grande parte das convulsões febris simples são autolimitadas (KHAIR, ELMAGRABI, 2015; FETVEIT, 2008), e não carecem de avaliação neurológica adicional. Nem o eletroencefalograma (EEG) nem exames de imagem necessitam ser realizados para a avaliação de rotina de uma criança saudável com uma convulsão febril simples (BRITO et al, 2017; CAPOVILLA et al, 2009; OLUWABUSI, SOOB, 2012).
- Estado epilético febril: apresenta-se como crise febril generalizada ou parcial evoluindo para generalizada com duração superior a 30 minutos. Associa-se à história familiar de epilepsia e a anormalidades neurológicas (GUARAGNA, 2018; PIVA, GARCIA, 2015).
- Epilepsia: é definida pela presença de crises convulsivas recorrentes (duas ou mais) não relacionadas a um insulto agudo do sistema nervoso. Várias síndromes epiléticas podem iniciar na infância (BRITO et al, 2017; CAPLAN et al, 2016). As crianças com distúrbios convulsivos conhecidos por vezes fazem frequentes visitas hospitalares e, em geral, não obtêm nenhum ganho com investigações de rotina repetidas (BRITO et al, 2017; LAWTON, DEUBLE, 2016). É necessário certificar-se de que estão fazendo uso regular do medicamento antiepilético prescrito e que o responsável está administrando-o corretamente (BRITO et al, 2017; SASIDARAN et al, 2012).

- Crise epiléptica após traumatismo crânio-encefálico (TCE): aproximadamente 20 a 40% das crianças que sofrem TCE podem apresentar quadro de crise epiléptica pós-traumática. É necessário solicitar tomografia computadorizada (TC) de crânio objetivando excluir lesões neurológicas.
- Estado de mal epiléptico (EME): quadro bastante temido na emergência. Caracterizado por crises convulsivas contínuas por mais de 30 minutos ou duas ou mais convulsões de curta duração, sem recuperação da consciência entre elas, por mais de 30 minutos (GUARAGNA et al, 2018; PIVA, GARCIA, 2015). Trata-se de uma verdadeira emergência clínica que ameaça a vida e requer tratamento imediato para interromper a crise em curso (BRITO et al, 2017; ABEND et al, 2014; FREILICH et al, 2010).

2.1.4 Classificação clínica da crise convulsiva

O estado de mal epiléptico é considerado convulsivo, se existirem manifestações motoras, ou não convulsivo, quando a manifestação predominante é a alteração do nível de consciência ou de aspectos qualitativos da consciência (GUARAGNA, 2018; PIVA, GARCIA, 2015).

As crises epilépticas podem se manifestar de diferentes formas (BRITO et al, 2017; FISCHER et al, 2017; CAPLAN et al, 2016):

- a) crises focais - as crises parciais simples podem promover alterações visuais, percepções auditivas alteradas, movimentos clônicos ou tônicos de um lado do corpo e também alterações na sensibilidade, como parestesias e dor. Algumas crianças podem ter crises versivas, que se caracterizam pela rotação da cabeça e olhos para um lado. A criança permanece com a consciência preservada durante todo o episódio. Já na crise parcial complexa existe alteração da consciência, podendo até se ter a impressão de que a criança está alerta, porém sem conseguir se controlar, realizando movimentos de forma automática, que se manifestam como movimentos de mastigação, andar sem rumo ou também falar de modo incompreensível e até atitudes mais complexas destituídos de contexto. Não há lembrança do que aconteceu ao fim da crise;
- b) crises generalizadas - caracterizam-se por perda da consciência, sem que o paciente recorde do episódio. Na crise tônico-clônica generalizada ocorrem contrações musculares mantidas (tônicas) em todo o corpo, seguida alternância entre contrações e breves relaxamentos, rítmicos e repetitivos (clônicas). Os olhos viram e pode haver

salivação excessiva, respiração ofegante e até chegar a urinar. Alguns pacientes podem ter apenas crise tônica, sem o componente clônico e vice-versa. As crises atônicas se manifestam por quedas, em que o corpo se encontra relaxado. Nas crises mioclônicas ocorrem contrações musculares semelhantes a choques nos membros. A crise de 'ausência' se manifesta tipicamente pela perda de contato com o meio. A criança fica com o olhar fixado associado a piscamentos e automatismos orais ou manuais, durando segundos, podendo ser difícil de ser percebida e diagnosticada. Determinados pacientes inicialmente apresentam uma crise focal com generalização secundária;

c) crises desconhecidas – corresponde as crises em que é impossível identificar o tipo, em função da falta de informações adequadas dos familiares.

A classificação clínica das crises convulsivas, resumida no quadro 1, é importante tanto para definir a conduta terapêutica, bem como para auxiliar na investigação etiológica (GUARAGNA, 2018; PICON, 2010).

QUADRO 1. Classificação clínica da crise convulsiva.

| TIPO DE CONVULSÃO | MANIFESTAÇÃO CLÍNICA |
|--------------------------|--|
| Tônica | Contração muscular mantida com duração de segundos a minutos. |
| Clônica | Breves abalos musculares (contração e relaxamento) repetitivos. |
| Mioclônica | Contrações musculares de curta duração, semelhantes a choques. |
| Tônico-clônica | Fase inicial tônica com contração de todas as musculaturas do corpo, com apneia e cianose, seguida pela fase clônica com abalos musculares generalizados. Há perda de consciência e pode haver relaxamento esfínteriano. |

Fonte: GUARAGNA, 2018.

2.1.5 Investigação diagnóstica

A abordagem diagnóstica deve ser orientada por meio de uma anamnese completa e dos exames clínico e neurológico realizados na chegada. A investigação deve ocorrer de forma simultânea ao manejo terapêutico, sendo intensificada após a estabilização clínica do paciente (GUARAGNA et al, 2018; PIVA, GARCIA, 2015). A princípio, poderão ser feitos laboratoriais como glicose, eletrólitos, gasometria, creatinina, nível sérico de medicação antiepiléptica, punção lombar, hemograma, plaquetas e exame qualitativo da urina. Depois de

estabilizar o paciente, prossegue-se a abordagem com a realização de provas hepáticas, triagem toxicológica, eletroencefalograma (EEG) e exames de neuroimagem, como TC de crânio ou ressonância magnética de encéfalo (TELESSAÚDERS/UFRGS, 2016; GUARAGNA et al, 2018; PIVA, GARCIA, 2015).

É importante ressaltar que cada caso deverá ser manejado em conformidade com o quadro clínico apresentado. É de suma importância lembrar que a punção lombar somente pode ser realizada com o paciente estabilizado e com sinais vitais estáveis, sendo contraindicada se houver suspeita de hipertensão intracraniana ou herniação cerebral, sendo necessário nesses casos a realização prévia de TC de crânio (GUARAGNA et al, 2018; PIVA, GARCIA, 2015).

2.1.6 Manejo das crises na emergência

As crises convulsivas febris são as mais comuns, atingindo 2 a 5% das crianças na faixa etária de 6 meses a 5 anos. Na grande parte dos casos ocorre um único episódio de apresentação benigna. Se a crise convulsiva febril for recorrente ou prolongada, com duração maior que 5 minutos, é obrigatória nesses casos a realização de investigação adicional para buscar a sua etiologia, dando início ao tratamento de forma semelhante às crises afebris (GUARAGNA et al, 2018; SUBCOMMITTEE ON FEBRILE SEIZURES, 2011).

A realização de punção lombar é obrigatória sempre que houver sinais ou sintomas de meningite ou infecção do SNC. Sua realização é opcional em crianças entre 6 e 12 meses com imunização deficiente para *Haemophilus influenzae* B ou *Streptococcus pneumoniae* ou calendário vacinal desconhecido; se a criança foi previamente tratada com antibiótico, pois este pode mascarar os sinais e sintomas meníngeos (a decisão depende do antibiótico, da duração do tratamento e da clínica do paciente). Sempre que for realizada punção lombar, deve-se lembrar também de solicitar hemocultura e glicemia (GUARAGNA et al, 2018; SUBCOMMITTEE ON FEBRILE SEIZURES, 2011). A estabilização do paciente com crise convulsiva na emergência consiste em uma prioridade (GUARAGNA et al, 2018).

A maioria das convulsões são breves, autolimitadas e cessam mesmo antes da chegada da criança à emergência, não necessitando de qualquer tratamento com anticonvulsivantes. Naqueles cuja convulsão já se resolveu, a conduta inicial é observar a segurança do paciente no período pós-crise (BRITO et al, 2017; LAWTON, DEUBLE, 2016).

A abordagem inicial para o paciente que chega convulsionando na emergência necessita ser rápida e inclui estender cuidadosamente a mandíbula a fim de manter as vias

aéreas pérvias, monitorização dos sinais vitais e saturação de O₂, exame cardiorrespiratório, oxigenoterapia (e intubação, se necessário), medir a glicemia, cálcio, magnésio, hemograma completo, testes de função hepática e gasometria arterial, estabelecer acesso venoso e avaliar a história do episódio e exame físico (BRITO et al, 2017; SASIDARAN et al, 2012; ABEND et al, 2014; BROPHY et al, 2012; ABEND, LODDENKEMPER, 2014; GUARAGNA et al, 2018; PORTELA, PIVA, 2011). A história clínica é o primeiro passo para distinguir eventos epiléticos de não epiléticos, assim como para o reconhecimento do tipo de crise para a realização de uma conduta apropriado. É de extrema necessidade o tratamento das causas reversíveis de convulsões como hiponatremia, hipoglicemia, hipocalcemia, hipomagnesemia e hipertensão, bem como o controle da hipertermia quando presentes (BRITO et al, 2017).

A conduta terapêutica medicamentosa inicial tem o objetivo de interromper a convulsão o mais rápido possível, reduzindo a chance do estado de mal epilético. A primeira classe de drogas a ser utilizada é a dos benzodiazepínicos (GUARAGNA et al, 2018; PORTELA, PIVA, 2011; BRITO et al, 2017; AGARWAL, FOX, 2013; LAWTON, DEUBLE, 2016; ABEND et al, 2010) (diazepam ou midazolam), podendo ser repetida se necessário a cada cinco minutos, até no máximo de três doses. É importante verificar se o material para reanimação está disponível. Se não tiver acesso venoso disponível, o diazepam pode ser administrado por via retal (ABEND et al, 2014; ABEND et al, 2008; BRITO et al, 2017). Necessita-se ter o cuidado de interrogar se foram administrados benzodiazepínicos antes da chegada à emergência, visto que o excesso deste medicamento pode produzir insuficiência respiratória (BRITO et al, 2017).

Esses medicamentos agem por meio da inibição neural mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) e têm ação rápida e meia vida curta, sendo necessário, após a estabilização inicial da crise, associar um segundo medicamento com meia vida mais longa (GUARAGNA et al, 2018; PORTELA, PIVA, 2011). No caso de o paciente permanecer com crise, outros medicamentos devem ser introduzidos (GUARAGNA et al, 2018; BRITO et al, 2017) como a fenitoína (devendo ser administrada lentamente para evitar arritmias cardíacas) ou o fenobarbital. É importante realizar monitoramento cardiovascular e respiratório. Nas crianças abaixo de 2 anos pode-se considerar a administração de piridoxina (BRITO et al, 2017; AGARWAL, FOX, 2013).

A persistência da crise durante mais de 30 minutos caracteriza o estado de mal epilético e o paciente deverá ser transferido para uma unidade de terapia intensiva com monitorização eletroencefalográfica contínua. É indicada a infusão contínua de midazolam ou o propofol (ABEND et al, 2010; BRITO et al, 2017). Se houver persistência das crises, deve-

se considerar o coma barbitúrico com o tiopental ou a anestesia geral. Os pacientes tratados com infusões contínuas ou anestésicos inalatórios necessitam de monitoramento intensivo e a ventilação mecânica invasiva é imprescindível tanto para a proteger as vias aéreas como para manter oxigenação e ventilação adequadas (ABEND et al, 2014; BRITO et al, 2017).

É urgente a realização de exame de neuroimagem diante da persistência de um estado mental alterado, anormalidade neurológica focal ou suspeita de sangramento intracraniano. A tomografia computadorizada é mais indicada em situações de um processo intracraniano agudo, sangramento ou trauma. A ressonância magnética do encéfalo é o exame de escolha para detectar anormalidades parenquimatosas (LAWTON, DEUBLE, 2016; BRITO et al, 2017). A investigação por neuroimagem, porém, jamais deve ser realizada antes da estabilização do paciente (BRITO et al, 2017).

Por serem uma emergência médica com alto risco de mortalidade ou de sequelas neurológicas, as crises convulsivas requerem manejo objetivo e com protocolo adequado. (GUARAGNA et al, 2018).

2.2 Fenobarbital

O fenobarbital é uma droga antiepilética que é largamente utilizada em virtude do seu baixo custo e à sua alta indicação. Nos países em desenvolvimento, é uma droga indicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como um princípio ativo de primeira linha (OLIVEIRA et al., 2018; ZANG et al., 2011). Este medicamento é uma droga anticonvulsivante originada do barbiturato, que potencializa a via GABA (ácido gama-aminobutírico) nas sinapses além de antagonizar a via glutamatérgica, agindo como depressor no SNC (Sistema Nervoso Central) (OLIVEIRA et al., 2018; FAVANO et al., 2011).

O fenobarbital se sobressai, não só por sua importância na história da farmacoterapia anticonvulsivante, mas também pelo fato de que, ainda hoje, continua sendo bastante usado para a prevenção de crises convulsivas, especialmente pelo seu baixo custo (MEDEIROS, 2014).

O fenobarbital foi um dos barbitúricos hipnóticos desenvolvidos pela Bayer nos primeiros anos do século XX (GUERREIRO, 2006). Essa droga tem amplo uso como droga antiepilética na população neonatal e pediátrica. É o tratamento medicamentoso mais eficaz em termos de custos para a epilepsia em adultos em países com poucos recursos (SKIBISKI, 2019; ABDIJADID, 2019; HADDAD, 2012; ARABI, 2012).

O fenobarbital (ácido 5-fenil-5-etilbarbitúrico) foi o primeiro fármaco anticonvulsivante efetivo, que foi adotado para uso clínico em 1904. Este medicamento é usado para tratar convulsões. Ele tem baixa toxicidade. A maioria dos barbitúricos tem propriedades anticonvulsivas, no entanto, apenas alguns desses agentes, como o fenobarbital, exerce ação anticonvulsivas em doses abaixo das necessárias para hipnose. O mecanismo pelo qual o fenobarbital inibe convulsões é a inibição sináptica através de uma ação em Receptor GABA A (PACIFI, 2016). Foi observado êxito no controle das convulsões administrando somente o fenobarbital para tratar a epilepsia (JUAN, 2013).

O fenobarbital está entre os mais antigos anticonvulsivos ainda em uso. É eficaz para o tratamento de convulsões generalizadas e focais. No entanto, sua utilidade clínica é limitada por seus efeitos sedativos. Essa droga liga-se ao receptor GABA (A), melhorando o efeito do GABA ao prolongar a duração das aberturas dos canais de cloreto mediados pelo GABA. Esse processo permite um fluxo crescente de íons de cloreto através da membrana, causando hiperpolarização neuronal (SCHACHTER, 2018).

O fenobarbital é largamente metabolizado por citocromos hepáticos CYP2C9, CYP2C19 e CYP2E1. Os metabolitos conjugados são eliminados pelo rim (PACIFICI, 2016). Um quarto da dose administrada de fenobarbital é excretada inalterada na urina de neonatos e adultos. Em bebês prematuros, a meia-vida é maior do que em bebês a termo e o volume de distribuição é o dobro em bebês do que em adultos. A meia-vida reduz com idade e metades após uma a duas semanas de medicação porque o fenobarbital induz enzimas hepáticas (PACIFICI, 2016; JOHN WILEY & SONS, 2011; YOUNG; MANGUM, 2010).

A disseminação do fenobarbital no organismo é influenciada pela lipossolubilidade e ligação com proteínas do plasma, possuindo posologia normalmente por via oral, com concentrações que variam conforme a idade. A sua metabolização acontece no fígado, e cerca de até $\frac{1}{4}$ do fármaco é excretado de maneira inalterada pelo rim (OLIVEIRA et al., 2018; OGA et al., 2008).

As porções de fenobarbital utilizadas diferenciam entre crianças e adultos. Em adultos é indicada a dose de 2 a 3 mg/kg por dia, em dose única ou fracionada, e a posologia pediátrica é de 3 a 4 mg/kg também em única dose ou fracionada (OLIVEIRA et al., 2018; SANOFI-AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA). As concentrações séricas de fenobarbital devem ser verificadas três a quatro semanas após a dose inicial, com uma meta de nível terapêutico de 10 a 40 mcg / mL (43 a 172 micromoles / L). Vários fármacos podem influenciar a concentração sérica de fenobarbital. Ele pode reduzir a eficácia da maioria das formas de contraceptivos hormonal (SCHACHTER, 2018).

O fenobarbital se sobressai, não só por sua importância na história da farmacoterapia anticonvulsivante, mas também pelo fato de que, ainda hoje, continua sendo bastante usado para a prevenção de crises convulsivas, especialmente pelo seu baixo custo. No entanto, muitos especialistas e autores criticam tal uso pelas suas restrições terapêuticas para alguns tipos de crises e pelo elevado risco de efeitos adversos graves, como sedação, anemia megaloblástica, osteomalácia e hipersensibilidade leve, além do risco de tolerância metabólica e farmacodependência. Em doses elevadas, são comuns os relatos de depressão cardiorrespiratória e até mesmo coma (MEDEIROS, 2014).

2.2.1 Propriedades anticonvulsivantes do fenobarbital

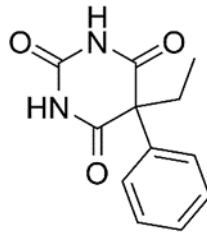
Grande parte dos barbitúricos possuem propriedades anticonvulsivantes. Entretanto, somente alguns desses fármacos (como exemplo, o fenobarbital) apresentam atividade anticonvulsivante máxima nas doses inferiores às necessárias para provocar efeitos hipnóticos, e esse fato determina sua utilização clínica como antiepiléptico. Esse fármaco promove a inibição da extensão tônica das patas traseiras no modelo de eletrochoque máximo, das convulsões clônicas causadas por pentilenotetrazol (PTZ) e também das convulsões originadas por ignição (GOODMAN; GILMAN, 2012).

2.2.2 Classe farmacológica do fenobarbital

O fenobarbital é um barbitúrico lipofílico e teria meia-vida extremamente longa se não fosse por sua conversão metabólica para compostos mais solúvel em água (KATZUNG; TREVOR, 2017). Os barbitúricos são um grupo de medicamentos sedativo-hipnóticos usados para o tratamento de distúrbios convulsivos, abstinência neonatal, insônia, ansiedade pré-operatória, indução de coma para aumento da pressão intracraniana. Eles também são úteis para induzir a anestesia (SKIBISKI, 2019; ABDIJADID, 2019).

2.2.3. Química dos barbitúricos

O ácido barbitúrico é a 2,4,6-trioxoexaidropirimidina. Apesar desse composto carecer de atividade depressora central, a presença de grupos alquila e arila na posição cinco propicia atividade sedativo-hipnótica e, algumas vezes, outras atividades. A fórmula estrutural do fenobarbital consiste no ácido 5-fenil-5-etilbarbitúrico, e está ilustrada abaixo (GOODMAN; GILMAN, 2012).

FIGURA 1 - Fórmula química do Fenobarbital.

Fonte: Goodman; Gilman (2012)

2.2.4. Mecanismo de ação

Os barbituratos estão ligados a elevação pós-sináptica do GABA, atuando com as subunidades alfa e beta do receptor GABA (SKIBISKI, 2019; ABDIJADID, 2019; CHAU, 2010). Os barbituratos elevam o fluxo iônico de cloreto que resulta na inibição pós-sináptica induzida por GABA. O Fenobarbital afeta os receptores GABA com uma resposta dose-dependente. Em concentrações micromolares mais altas, associadas aos níveis anestésicos, essas drogas estimulam diretamente os canais de cloro (SKIBISKI, 2019; ABDIJADID, 2019; LÖSCHER; ROGAWSKI, 2012). Tanto os barbitúricos como os benzodiazepínicos interagem com os receptores GABA, mas os barbitúricos são únicos porque potencializam os receptores GABA e aumentam o influxo de íons cloreto (SKIBISKI, 2019; ABDIJADID, 2019; DEVENYI; WILSON, 1971).

A classificação de barbitúricos é de acordo com a duração de sua ação, as apresentações IV de tiopental e metoexital estão na classe de ação ultracurta. A ação curta e intermediária tem um efeito que dura de 2 a 6 horas. Esta classificação compreende fármacos para que ajudam a dormir como o pentobarbital, secobarbital, amobarbital e butabarbital. Os barbitúricos de ação prolongada têm um efeito superior a 6 horas dentre elas temos o fenobarbital (SKIBISKI, 2019; ABDIJADID, 2019; COZANITIS, 2004).

O fenobarbital age aumentando a quantidade de tempo em que os canais de cloro estão abertos, o que por sua vez deprime o sistema nervoso central. Isso é feito por meio da atuação nas subunidades do receptor GABA-A. Quando o fenobarbital se liga a esses receptores, as portas de íons cloreto se abrem e permanecem abertas, permitindo um fluxo contínuo desses íons nas células neuronais. Essa ação hiperpolariza a membrana da célula, elevando assim o limiar do potencial de ação. Este é o raciocínio que explica a eficácia desta droga no tratamento de convulsões. Considerando-se o metabolismo e depuração do fármaco, o

fenobarbital é um agente solúvel em água metabolizado pelo fígado e expelido principalmente através dos rins. (LEWIS; ADAMS, 2018; FALCO-WALTER; BLECK, 2016).

É solene ressaltar que as taxas de liberação variam de acordo com os pacientes e suas apresentações específicas. Por exemplo, o uso de fenobarbital em pacientes com câncer terminal pode necessitar de ajustes de dose devido à diminuição da depuração deste fármaco (LEWIS; ADAMS, 2018; NAKAYAMA et al.,2017).

O citocromo p450 é induzido pelo fenobarbital e, portanto, uma avaliação cuidadosa deve ser feita quando administrado concomitante com outros medicamentos. Por exemplo, uma mulher epilética que toma pílulas anticoncepcionais orais e fenobarbital deve estar plenamente informada da possível interação entre os medicamentos. O fenobarbital, um medicamento antiepilético, é conhecido por ativar a enzima do citocromo p450 do fígado. Induzir esta enzima acelera o metabolismo dos estrogênios e progestinas. Assim, uma mulher que usa medicação antiepilética e pílulas contraceptivas orais pode ter uma gravidez inesperada devido à redução da eficácia de suas pílulas contraceptivas orais. (LEWIS; ADAMS, 2018; SABERS, 2008).

2.2.5 Administração

O fenobarbital é administrado por várias vias. Estas incluem (LEWIS; ADAMS, 2018; NAKAYAMA et al.,2017):

- Intramuscular (IM)
- Oral
- Intravenoso (IV)

Na emergência o fenobarbital é administrado por via intravenosa. Outras formas de administração devem ser tentadas primeiro e verificadas quanto a induração. Estudos mostraram que uma induração em um local de infusão resulta em uma diminuição da biodisponibilidade do fenobarbital (LEWIS; ADAMS, 2018; NAKAYAMA et al.,2017). Outro estudo demonstrou que a administração retal de fenobarbital é eficaz, com uma biodisponibilidade relativa atingindo 90% (LEWIS; ADAMS, 2018; SAYER, 1975).

2.2.6 Efeitos adversos

As complicações relacionadas ao uso de fenobarbital são coma, diminuição do esforço para respirar e redução da pressão arterial (LEWIS; ADAMS, 2018; FALCO-WALTER;

BLECK, 2016). Os efeitos adversos mais comuns incluem (LEWIS; ADAMS, 2018; ROBERTS; SYDENHAM 2012):

- Incoordenação
- Equilíbrio prejudicado
- Sonolência

Esses efeitos adversos, decorrentes do uso de fenobarbital, têm um impacto maior nos pacientes geriátricos e, portanto, o uso de novos antiepiléticos (lamotrigina, levetiracetam) é o preferido para o tratamento de convulsões nessa população (LEWIS; ADAMS, 2018; ROBERTS; SYDENHAM 2012).

O fenobarbital foi relacionado à síndrome de Steven-Johnson, mas esta é uma complicação rara. Os seguintes fatores foram ligados ao uso prolongado de fenobarbital: irritabilidade, perda de apetite, dor nos ossos, articulações ou músculos, depressão e danos no fígado, embora o dano hepático seja uma complicação rara na população (LEWIS; ADAMS, 2018; HADDAD; ARABI, 2012).

Pode ser constatado um aumento isolado do gama-glutamil transpeptidase associado com a natureza do fenobarbital em estimular as enzimas hepáticas. Em geral, este aumento não apresenta relevância clínica. Um aumento isolado e moderado nos valores das transaminases e/ou fosfatases alcalinas é observado muito casualmente. Foram constatados casos extremamente raros de hepatite (TEUTO, 2016).

2.2.7 Indicações terapêuticas do fenobarbital

O fenobarbital consiste em um barbitúrico com propriedades anticonvulsivantes, devido à sua capacidade de elevar o limiar de convulsão. Este é um medicamento com ação no sistema nervoso central, utilizado para prevenir o surgimento de convulsões em indivíduos com epilepsia ou crises convulsivas de outras origens (ANVISA, 1999).

Os barbitúricos, notadamente o fenobarbital, oferecem uma ampla gama de usos clínicos que comumente incluem o manejo anti-convulsivo (LEWIS; ADAMS, 2018; HADDAD; ARABI, 2012). É proposto como um agente para tratar o estado epilético (LEWIS; ADAMS, 2018; ICHIKURA; OKUMURA; TAKEUCHI, 2016) Um estudo feito na China, comparando o ácido valpróico ao fenobarbital para o tratamento do estado epilético, demonstrou que o fenobarbital intravenoso apresenta melhores resultados clínicos na população estudada em comparação com o ácido valpróico (LEWIS; ADAMS, 2018; SUDDOCK; CAIN, 2018).

O fenobarbital também pode ser usado para melhorar a insônia (LEWIS; ADAMS, 2018; SACHDEVA; CHOUDHARY; CHANDRA, 2015) e ansiedade, embora a dependência seja um ponto preocupante quando o fenobarbital é usado para a insônia. Este medicamento também pode ser usado para tratamento com benzodiazepínicos e abstinência de álcool (LEWIS; ADAMS, 2018; HOCKER; CLARK; BRITTON, 2018) devido às suas propriedades anti-epilépticas e efeito sedativo. A síndrome causada pela abstinência de álcool tem um melhor resultado clínico quando tratada com benzodiazepínicos de acordo com estudos importantes baseados em evidências (LEWIS; ADAMS, 2018; HOCKER; CLARK; BRITTON, 2018; WILENSKY et al., 1982).

O fenobarbital mostra-se eficaz nas crises epilépticas tônico-clônicas parciais e generalizadas. A eficácia, a baixa toxicidade e custo fazem do fenobarbital um importante fármaco para tratamento desses tipos de epilepsia. Porém, em função de seus efeitos sedativos e de sua tendência a prejudicar o comportamento das crianças, sua utilização como primeira opção terapêutica foi reduzida. O fenobarbital não apresenta eficácia para o controle das crises de ausência (GOODMAN; GILMAN, 2012).

2.2.8 Contraindicações

Um paciente com doença pulmonar obstrutiva concomitante terá um risco maior de complicações (LEWIS; ADAMS, 2018; HADDAD; ARABI, 2012). A depressão do drive respiratório relacionada à toxicidade de barbitúricos, associada a um sistema respiratório já comprometido, pode contribuir para complicações. Observou-se também que a interação medicamentosa da medicação combinada de teofilina oral e fenobarbital, afetou negativamente os níveis sanguíneos de teofilina em comparação com as pílulas de teofilina orais simples. O fenobarbital demonstrou reduzir os níveis de esteroides e teofilina através do sistema de metabolismo hepático do citocromo p450 complicações (LEWIS; ADAMS, 2018; SU et al., 2016).

É indiscutível não ingerir álcool enquanto se usa barbitúricos porque existe o perigo de depressão respiratória grave quando ambos estão no sistema. Quando tomado simultaneamente, os efeitos individuais de ambos os fármacos no GABA-A se somam ao outro (LEWIS; ADAMS, 2018; HADDAD; ARABI, 2012).

2.3 Hidróxidos duplo lamelares

Nas últimas décadas, uma classe de argilas aniônicas denominadas hidróxidos duplos lamelares (HDLs) tem despertado a atenção tanto de indústrias quanto de pesquisadores (SOUSA, 2015).

Os Hidróxidos duplos lamelares (HDLs) são um grupo de minerais de argila, conhecidos também como compostos do tipo hidrotalcita ou como argilas aniônicas, em função do fato que grande parte deles apresentam capacidade de adsorverem compostos aniônicos na superfície de suas estruturas. Sua estrutura é similar ao mineral brucita ($Mg(OH)_2$) ou gibbsita ($Al(OH)_3$) apresentando-se bidimensionalmente organizada e com carga positiva, possibilitando fácil aplicação na remoção de numerosos poluentes aniônicos a partir da solução aquosa (MILAGRES, 2015; THEISS et al, 2014; CUNHA et al, 2010; BASU et al, 2014).

As argilas aniônicas são descritas pelos mineralogistas desde o século XIX, sendo a hidrotalcita natural relatada por Hochstetter em 1842 e sintetizada quase 100 anos depois por Feitknecht (MILAGRES, 2015; BRAVO-SUAREZ et al, 2004) em 1933, baseando-se na precipitação controlada de soluções aquosas contendo cátions metálicos em uma solução alcalina (SOUSA, 2015).

Atualmente, existem inúmeros HDLs naturais ou sintéticos descritos na literatura, isto se deve à variedade na composição estrutural com cátions divalentes e trivalentes, em conformidade com essa a composição e simetria, recebem diferentes nomes, se enquadrando em grupos que sugerem uma nomenclatura que é útil para análogos sintéticos, como o grupo das hidrotalcitas (contendo magnésio na estrutura) ou das hidrocalumitas (contendo cálcio na estrutura) (MILAGRES, 2015; SOUSA, 2015; MILLS et al, 2012; CREPALDI, VALIM, 1998).

Os HDLs tem seu uso difundido em inúmeras áreas da ciência, como na área ambiental, por exemplo (SANTOS, 2016; MILAGRES, 2015), agindo na remoção de cátions, ânions e oxiânions potencialmente tóxicos como Cd^{2+} , Hg^{2+} e Pb^{2+} (MILAGRES, 2015; LIANG et al, 2013), F^- , Br^- , ClO_4^- (MILAGRES, 2015; THEISS et al, 2014), AsO_4^{3-} e CrO_4^{2-} (MILAGRES, 2015; TOLEDO et al, 2011). Os HDLs são também utilizados na área da ciência dos materiais, atuando especialmente como agentes de reforço ou adsorventes, como por exemplo, a adição de HDLs nos polímeros com a finalidade de melhorar as propriedades mecânicas da borracha (BASU et al, 2014), adição de policarboxilato em um HDL de Ca/Al utilizado na tecnologia moderna de concreto (PLANK et al, 2006) além da intercalação de dodecilsulfato na adsorção do corante azul de metileno (MIRANDA et al, 2014). Sua utilidade se reflete também na adsorção de compostos orgânicos aniônicos e

polares como na remoção de pesticidas (CORNEJO et al, 2008), corante alaranjado de metila (EXTREMERA et al, 2012) além de fenol e nitrofenol (CHEN et al, 2009). Outras áreas que têm ganhado atenção são as da catálise em que o HDL original apresenta forte propriedade básica e pode ser usado como catalisador heterogêneo (SANTOS, 2016; SOUSA, 2015; PARIDA et al, 2010; VALENTE et al, 2010), assim como na oxidação de alquilaromáticos com O₂, transesterificação, e reação de cicloadição de epóxidos com o CO₂ atmosférico (KUWAHARA et al, 2012) e na área medicinal e na agricultura onde moléculas biologicamente ativas podem ser intercaladas entre as camadas do HDL e o composto obtido aplicado para liberação controlada do fármaco utilizado (SOUSA, 2015; CUNHA et al, 2010; RIVES, 2014) ou até mesmo de vitamina C (GAO et al, 2014) e para liberação lenta de fertilizantes (SOUSA, 2015; SILVA et al, 2014).

As propriedades dos HDLs como alta solubilidade, baixa toxicidade, elevada estabilidade química, alta alcalinidade, grande biodisponibilidade e capacidade de biodegradação, fazem com que haja um grande interesse em estudos capazes de sofisticar os métodos de manipulação dos HDLs para que estes possam ser incorporados à indústria farmacêutica, por meio da introdução de novos fármacos ou mesmo pela retomada dos tradicionalmente conhecidos. Segundo pesquisas realizadas por Cunha et al.(2010), os hidróxidos duplos lamelares destacam-se em relação a outros compostos inorgânicos (nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono, óxidos de ferro entre outros), pois além das inúmeras vantagens dos materiais inorgânicos, tais como a biodisponibilidade, baixa toxicidade, a alta biocompatibilidade, a alta estabilidade química, possui também grande possibilidade de inserção de espécies iônicas, melhor funcionalização do fármaco intercalado, bem como a possibilidade da liberação controlada do fármaco (devido à troca iônica). Os HDLs são biodegradáveis por apresentarem alta alcalinidade e capacidade lenta de degradação em meio ácido, a combinação dessas qualidades – estabilidade química e biodegradabilidade – os tornam promissores na liberação controlada de fármacos (CUNHA et al, 2010).

Vários trabalhos tem demonstrado a alta eficiência dos HDLs em sistemas de liberação controlada de fármacos. O desenvolvimento desses sistemas é relevante pois eles permitem manter, por tempo maior, uma concentração de determinado fármaco no organismo, aumenta a atividade terapêutica e reduz a frequência de administração e os efeitos colaterais. Comparando-se a outros materiais estudados, os HDLs apresentam a habilidade de troca aniônica, boa biocompatibilidade pelas inúmeras possibilidades de composição, estrutura mais estável e carregamento de grande quantidade de fármaco (MENG et al, 2015; SANTOS,

2016). Além disso, podem ser incorporadas diversas espécies de interesse, como medicamentos aniônicos orgânicos (SANTOS, 2016; KANKALA et al, 2015), aminoácidos (SANTOS, 2016; SILVERIO et al, 2013), vitaminas (SANTOS, 2016; GASSER, 2009), DNA (SANTOS, 2016; THYVEETIL et al, 2008), que apresentam liberação lenta e controlada (SANTOS, 2016).

2.4. Modelo do pentilenotetrazol na crise convulsiva

O pentilenotetrazol (PTZ) é uma das principais substâncias que induzem convulsão que são usadas na triagem pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes, podendo ser empregada como modelo de crises generalizadas do tipo ausência ou mioclônicas como de crises tônico-clônicas (JÚNIOR, 2007).

Um modelo experimental só é eficaz quando retrata com fidelidade o fenômeno que se almeja reproduzir. Dentre os benefícios de cada modelo destacam-se o estudo com drogas anticonvulsivantes e a investigação dos diversos neurotransmissores envolvidos no processo epiléptico (OLIVEIRA, 2010; GUERREIRO, 1993).

A maior parte dos fármacos tem sido elaborado usando modelos animais. O eletrochoque máximo é o mais conhecido, feito em animais por vários métodos. Este modelo comprovou ser preditivo de compostos que são eficazes nas crises parciais e tônico-clônicas (GUERREIRO, 2006).

O mecanismo de ação do PTZ é baseado na diminuição da função GABAérgica central (BRUNO, 2002; CORDA et al., 1992) agindo através do antagonismo do receptor GABAA (BRUNO, 2002; OLSON, 1981). Alguns estudos também mostraram que o PTZ pode atuar alterando a permeabilidade da membrana celular ao potássio através de um mecanismo dependente de voltagem (BRUNO, 2002; MADEJA et al., 1996).

Os modelos experimentais de epilepsia são chamados agudos, quando estes são utilizados de forma em que o animal submetido ao modelo em questão apresenta crises convulsivas apenas durante a vigência do agente indutor. No caso do modelo agudo induzido com PTZ, a droga é aplicada no animal de forma localizada ou tópica, apenas uma vez (BRUNO, 2002).

Posteriormente a uma administração subcutânea ou intraperitoneal de PTZ em roedores, os animais exibem crises convulsivas tônico-clônicas com duração de 5 min (MUSSULINE, 2013; Brito et al., 2006). A atividade convulsiva do PTZ deve-se ao seu antagonismo não competitivo sobre os receptores GABAA, reduzindo assim a ação inibitória do GABA no SNC (MUSSULINE, 2013; RAMANJANEYULU, TICKU, 1984).

3. METODOLOGIA

3.1 Tipo de pesquisa

Foi realizado um estudo quantitativo experimental.

3.2 Local da pesquisa

O trabalho foi realizado no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

3.3 Coleta de dados

3.3.1 Animais

Foram utilizados 162 ratos wistar machos adultos, pesando entre 200 a 250g. Os animais foram obtidos do Biotério Central de Universidade Federal do Pará, e mantidos no Biotério de Experimentação do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. Este trabalho está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCECA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) conforme apresentado no **ANEXO A** (CEUA n° 3953260717).

3.3.2 Divisão dos grupos

Para a análise comportamental e bioquímica, 4 grupos foram formados no experimento, utilizando um total de 90 animais, sendo grupo PBTI e grupo PBTNI recebendo 40 mg/kg via oral (Viana, 2007), grupo com pentilenotetrazol utilizando dose 60 mg/kg via IP, e grupo controle recebendo apenas o veículo.

Grupo 1. (G1) (n=9) Recebeu dose de 60 mg/kg de pentilenotetrazol, por via IP, para caracterizar o comportamento convulsivo no decorrer do tempo de contato, dividido nos estágios apresentados no **QUADRO 2**.

Após a caracterização do estágio convulsivo, foi testada a eficiência do fenobarbital intercalado e não intercalado, levando em consideração o aprofundamento dos estágios testado previamente. As características de evolução do quadro convulsivo agudo demonstraram a ação anticonvulsivante da droga testada.

QUADRO 2. Caracterização do comportamento convulsivo no decorrer do tempo de contato, após a aplicação de 60 mg/kg de pentilenotetrazol. Cada estágio inclui os comportamentos dos estágios precedentes.

| | |
|-------------|---|
| ESTÁGIO 0 | Sem alterações comportamentais após a aplicação do PTZ. |
| ESTÁGIO I | O animal apresenta depressão respiratória, imobilidade, salivação e tremores de pinas. |
| ESTÁGIO II | O animal apresenta movimentos orofaciais, abre e fecha a boca, movimentos rápidos de vibrissas e cauda levantada. |
| ESTÁGIO III | O animal apresenta crises clônicas isoladas de um ou mais membros, principalmente dos membros anteriores. |
| ESTÁGIO IV | O animal apresenta crises clônicas generalizadas, salivação abundante, e perda transitória do reflexo de postura. |
| ESTÁGIO V | O animal apresenta crises tônico-clônicas (Grande-mal), cianose, perda do reflexo de postura e morte por parada respiratória. |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Grupo 2 (G2): este grupo recebeu fenobarbital não intercalado na dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas após o término do tratamento, em que os grupos receberam aplicação de pentilenotetrazol na dose de 60 mg/kg, e foi feita a análise do comportamento e aprofundamento nos estágios.

Grupo 3 (G3): Este grupo recebeu fenobarbital intercalado na dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas após, com a aplicação de pentilenotetrazol na dose de 60 mg/kg, onde foram feitas as análises dos estágios comportamentais dos animais submetidos à convulsão.

Grupo 4 (G4): Recebeu o veículo inerte da intercalação do fenobarbital em dose equivalente por via oral durante 4 dias, e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas após, com a aplicação de pentilenotetrazol na dose de 60 mg/kg, onde foram feitas as análises dos estágios comportamentais dos animais submetidos à convulsão

O objetivo deste teste foi avaliar a eficácia do PBTI e PBTNI, permitindo analisar se o efeito anticonvulsivante foi mantido após a retirada do medicamento, controlando a deflagração das convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol, bem como verificar se houve interferência do veículo utilizado para liberação lenta de fenobarbital.

Para aquisição de registro eletrocorticográfico foram utilizados 72 animais, divididos em 4 grupos, sendo eles: grupo controle recebendo veículo inerte da intercalação do fenobarbital em dose de 40 mg/kg por via oral durante 4 dias (n=9); grupo PTZ, recebendo dose de 60 mg/kg (n=9), grupo PBTI, recebendo dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas; e grupo PBTNI, recebendo dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas.

3.3.3 Dosagem das enzimas hepáticas

As enzimas hepáticas foram dosadas por meio da obtenção de amostra de sangue dos animais estudados, sendo analisadas no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, por meio de um aparelho de análise bioquímica da função hepática da marca Wiener lab GROUP, modelo CM 200.

3.3.4 Implante dos eletrodos

Para a comprovação da atividade cerebral, todos os animais dos grupos receberam eletrodos implantados na região de duramater (nas coordenadas esterotáxicas - 0,96 mm bregma, e ± 1 mm latero-lateral) para observação dos eletrocorticogramas, possibilitando a análise de gráficos de potência revelando a atuação das drogas durante o experimento, este procedimento mostrou-se necessário para a comprovação e observação das alterações comportamentais concomitantemente com os registros eletroencefalográficos, comum neste tipo de avaliação. O procedimento para implante dos eletrodos e os registros eletrocorticográficos foram realizados conforme descrito por Hamoy (2011, p. 55-56).

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos 3 por caixa e acondicionados no biotério de experimentação formando dois grupos de 9 animais cada grupo. No sétimo dia após a cirurgia, os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de dados, composto por um amplificador de alta impedância (Grass Technologies, P511), monitorado por um osciloscópio (Protek, 6510) (Figura 13B). Os dados foram

continuamente digitalizados em uma taxa de 1 KHz por um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX), e foram armazenados em disco rígido e processados através de um software especializado (LabVIEW express). O eletrodo de registro permaneceu localizado no lado direito do hemisfério, e do lado esquerdo o eletrodo de referência. Todo o experimento foi executado dentro da gaiola de Faraday. O registro foi feito durante o teste correlacionado com o comportamento permitindo a atividade eletrocorticográfica de cada estágio.

3.3.5 Indução da convulsão e registro

Após 10 minutos de acomodação, foi aplicado o pentilenotetrazol 60 mg/kg por via intraperitoneal, e a partir desse momento medido o tempo de latência para a ocorrência na mudança de traçado, o total de tempo para cada registro foi de 30 minutos. Para as análises dos sinais, uma ferramenta foi construída usando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para os gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida utilizando a biblioteca PyQt4.

3.4 Análise dos dados

Os valores dos resultados foram descritos como média e desvio padrão. As comparações de potência foram feitas usando o ANOVA e teste de Turkey, através do software GraphPadPrism ® 5. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Para analisar a diferença entre os experimentos, um gráfico com a média e desvio padrão da densidade de potencial espectral (PSD) de vários experimentos foi construído, cada onda do gráfico foi gerada a partir de um conjunto de testes, onde o PSD foi gerado e calculada a média e o desvio padrão de cada grupo.

4. RESULTADOS

Levando em consideração características comportamentais do quadro de convulsão agudo provocado pela aplicação de pentilenotetrazol podemos classificar 6 estágios, conforme descritos no **QUADRO 2**.

Os animais foram submetidos a análise comportamental, durante as convulsões e comparadas com o padrão de latência dos comportamentos observados para o PTZ na dose de 60 mg/kg IP. Para facilitar a formação de escores que identifique o comportamento, foram levados em consideração as latências para o aparecimento do comportamento convulsivo em graus de aprofundamentos variados:

- a) Espasmos dos membros Anteriores.
- b) Crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura.
- c) Crises clônicas generalizada com perda transitória do reflexo de postura.
- d) Crises tônico-clônicas com perda do reflexo de postura.

TABELA 1: Média para latência do comportamento de espasmos dos membros anteriores observados após o período de 12 horas de suspensão do tratamento com fenobarbital. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9).

| Tratamento | Latência (segundos) | (média ± DP) |
|------------|---------------------|----------------------------|
| PTZ | | 50,89 ± 5,925 ^a |
| PBTI | | 155,7 ± 60,21 ^b |
| PBTNI | | 148,7 ± 53,46 ^b |
| Controle | | 49,78 ± 9,217 ^a |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Após administração do fenobarbital por um período de quatro dias, foi feito procedimento de indução a convulsão, 12 horas da última dose do fenobarbital, foi observado que nessa condição a indução ao quadro convulsivo não possuiu evolução completa, atingindo o estágio II após a aplicação de 60 mg/kg i.p. de PTZ. A característica comportamental observada nos animais durante a evolução da convulsão foi o espasmo de membros anteriores. O que demonstrou que farmacologicamente o processo de absorção foi compatível entre o fenobarbital não intercalado (PBTNI) e o fenobarbital intercalado (PBTI) no controle das convulsões. Estes grupos não apresentaram diferenças estatísticas entre si, porém apresentaram diferença estatísticas entre o grupo PTZ e Controle.

A permanência do fenobarbital no organismo e a manutenção do limiar convulsivo alto foi um dado observado após 24 horas de retirada do fenobarbital, neste caso tanto o PBTI como o PBTNI tiveram sua atividade comprovada após provocarem aumento na latência para o aparecimento do comportamento observados após o tratamento para indução ao quadro convulsivo. O comportamento de espasmos de membros anteriores que pertence ao final do estágio II, não houve diferença estatística entre os grupos PBTI ($84,22 \pm 15,77$ segundos) e PBTNI ($77,89 \pm 21,69$ segundos), porém houve diferença estatística dos grupos que utilizaram fenobarbital para os grupos controle e PTZ (**TABELA 2**). Neste caso a convulsão evoluiu para os estágios subsequentes apresentando crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura que corresponde a uma característica de estágio III. Este comportamento foi observado com uma latência mais de duas vezes maior para os grupos PBTI e PBTNI não havendo diferenças estatísticas entre eles. Porém mantiveram diferença estatística para os grupos controle e PTZ (**TABELA 2**).

TABELA 2: Média de latências para comportamentos característicos da evolução das crises convulsivas 24 horas após utilização de Fenobarbital. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9).

| Comportamento | Tratamento | Latência (S) Média \pm DP |
|--|------------|-----------------------------|
| Espasmos dos membros anteriores | PTZ | $50,89 \pm 5,92^a$ |
| | PBTI | $84,22 \pm 15,77^b$ |
| | PBTNI | $77,89 \pm 21,69^b$ |
| | Controle | $46,22 \pm 6,457^a$ |
| Crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de | PTZ | $72,78 \pm 16,01^a$ |
| | PBTI | $197,2 \pm 58,59^b$ |

| | | |
|---------------------------|----------|----------------------------|
| postura | PBTNI | 199,4 ± 93,0 ^b |
| | Controle | 73,64 ± 14,28 ^a |
| Crises clônicas | PTZ | 150,1 ± 39,51 ^a |
| Generalizada com perda | PBTI | 316,4 ± 65,69 ^b |
| Transitória do reflexo de | PBTNI | 330,3 ± 78,4 ^b |
| postura | Controle | 141,6 ± 38,46 ^a |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Os animais apresentaram após 24 horas de suspensão do fenobarbital características comportamentais de estágio IV representado por crises clônicas generalizadas com perda transitória do reflexo de postura que apresentou latência para o grupo PTZ (150,1 ± 39,51 segundos) e controle com argila (141,6 ± 38,46 segundos) não demonstrando diferença estatística. Os grupos PBTI e PBTNI apresentaram latência de (316,4 ± 65,69) e (330,3 ± 78,4) segundos respectivamente, não apresentando diferença estatística entre eles, mantendo, porém, diferenças para o grupo controle, o que demonstra uma proteção para a deflagração das convulsões induzidas pelo PTZ (**TABELA 2**).

TABELA 3: Apresenta as médias de latências para crises 36 horas após utilização de Fenobarbital. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9)

| Comportamento | Tratamento | Latência (S) Média ± DP |
|--|------------|----------------------------|
| Espasmos dos membros anteriores | PTZ | 50,89 ± 5,92 ^a |
| | PBTI | 80,67 ± 6,928 ^b |
| | PBTNI | 68,44 ± 6,307 ^c |
| | Controle | 48,11 ± 5,578 ^a |
| Crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura | PTZ | 72,78 ± 16,01 ^a |
| | PBTI | 116,6 ± 17,26 ^b |
| | PBTNI | 87,89 ± 10,37 ^a |
| | Controle | 82,33 ± 13,31 ^a |
| Crises clônicas Generalizada com perda Transitória do reflexo de postura | PTZ | 150,1 ± 39,51 ^a |
| | PBTI | 213,3 ± 32,49 ^b |
| | PBTNI | 211,6 ± 39,47 ^b |
| | Controle | 153,2 ± 28,75 ^a |
| Crises Tônico clônicas | PTZ | 203,3 ± 37,23 ^a |

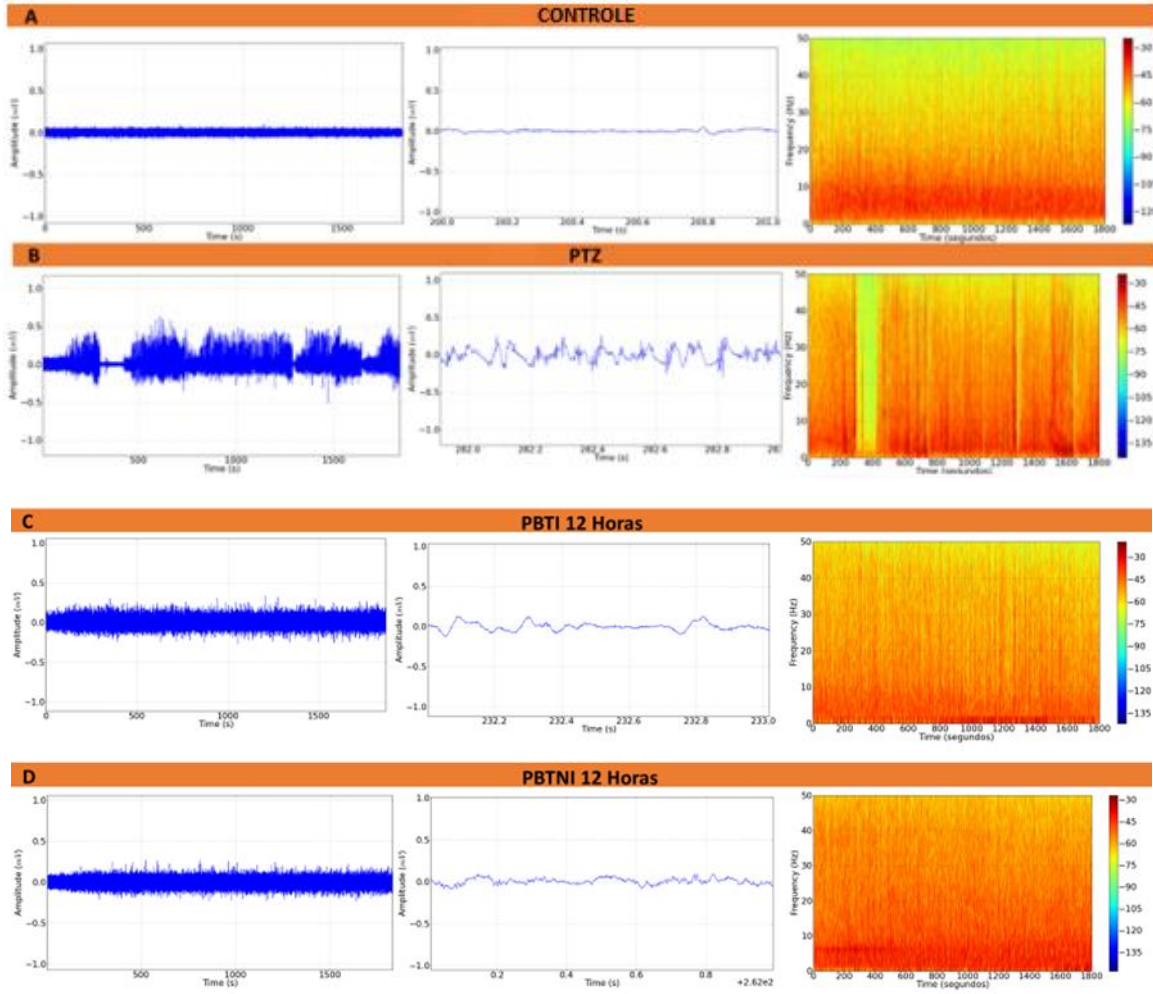
| | | |
|------------------------------------|----------|----------------------------|
| com perda do reflexo de postura | PBTI | 281,4 ± 38,25 ^b |
| | PBTNI | 227,7 ± 43,37 ^a |
| | Controle | 201,2 ± 20,80 ^a |

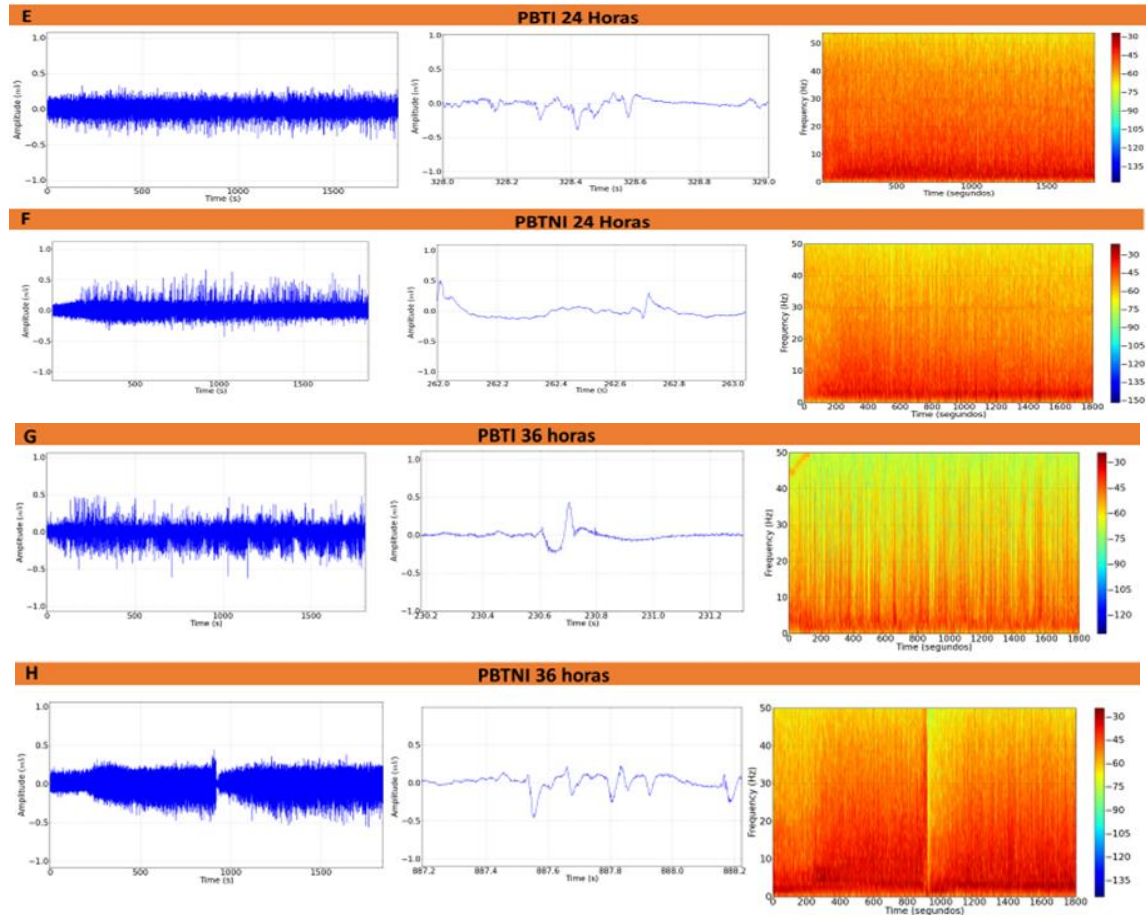
Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Com a retirada do fenobarbital por um período de 36 horas os animais apresentaram evolução do quadro convulsivo até o estágio V após a indução com o PTZ, porém os animais que receberam o fenobarbital intercalado apresentaram latências maiores para a deflagração do quadro convulsivo, o que indicou a permanência do efeito anticonvulsivante da droga, como pode ser observado na **(TABELA 3)**.

O quadro convulsivo inicia com os espasmos dos membros anteriores com tempo de latência para o aparecimento após administração do PTZ de $50,89 \pm 5,92$ segundos, não tendo diferença estatística para o controle ($48,11 \pm 5,578$ segundos). Para o PBTNI a latência para o comportamento foi de $68,44 \pm 6,307$ segundos, mantendo diferença estatística para o grupo controle. O grupo com maior latência para o aparecimento do comportamento convulsivo foi PBTI com $80,67 \pm 6,928$ segundos, que apresentou diferença estatística para os demais grupos, indicando que o processo de liberação lenta do fenobarbital teve influência sobre atuação para o comportamento de crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura onde o grupo PBTI teve média de latência mais alta, o que diferenciou estatisticamente dos demais grupos **(TABELA 3)**, corroborando com a informação supracitada.

FIGURA 2. Demonstrativo dos traçados eletrocorticográficos (ECoG) e espectogramas, com duração de 30 minutos, após administração de PTZ. Registro eletrocorticográfico basal (controle) **(A)**, registro eletrocorticográfico do controle positivo após aplicação de PTZ **(B)**, Eletrocorticograma dos animais que receberam quatro doses PBTI, com indução ao quadro convulsivo 12 horas após interrupção do tratamento **(C)**, traçado eletrocorticográfico do grupo PBTNI com indução ao quadro convulsivo 12 horas após interrupção do tratamento **(D)**, Eletrocorticograma do grupo PBTI com indução do quadro convulsivo 24 horas após a retirada do fenobarbital **(E)**, registro do grupo PBTNI com indução do quadro convulsivo 24 horas após a retirada do fenobarbital **(F)**, Registro do grupo PBTI com indução ao quadro convulsivo 36 horas após a retirada do fenobarbital **(G)** e Registro do grupo PBTNI com indução do quadro convulsivo 36 horas após a retirada do fenobarbital **(H)**. (n=9).



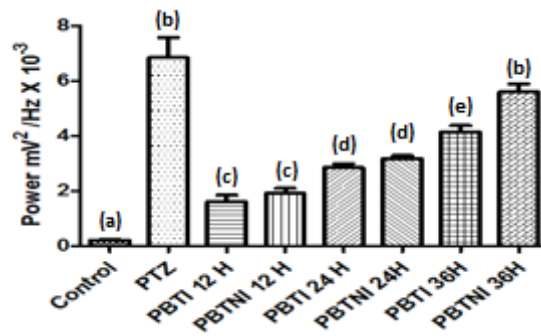


Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Para o aparecimento do comportamento de crises clônicas generalizada com perda Transitória do reflexo de postura não houve diferença estatística entre PBTI ($213,3 \pm 32,49$ segundos) e PBTNI ($211,6 \pm 39,47$ segundos), o que indica que o comportamento observado no estágio IV teve evolução semelhante para as duas formas de fenobarbital. Porém as duas preparações de fenobarbital apresentaram diferença estatística para o grupo controle e PTZ (TABELA 3).

O comportamento de crises tônico-clônicas com perda do reflexo de postura que compõe o estágio V e representa o comportamento convulsivo de maior intensidade o grupo PBTI apresentou maior latência, apresentando diferença estatística para os outros grupos (TABELA 3), demonstrando que o processo de intercalação em argila para o fenobarbital melhora sua atuação na mesma dose administrada do fenobarbital não intercalado.

FIGURA 3: Potência dos registros após a retirada do PBTI e PBTNI nos períodos de 12, 24 e 36 horas. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9)



Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Os traçados electrocorticográficos dos controles possui como característica menor amplitude abaixo de 0,1 mV, no espectrograma pode ser observado as frequências com maior intensidade de energia abaixo de 10 Hz (**FIGURA 2A**). A potência do registro basal apresentou média de $0,2116 \pm 0,08257$ mV²/ Hz x10⁻³ (**FIGURA 3**). O grupo que recebeu o PTZ apresentou alterações electrocorticográficas compatíveis com quadro convulsivo com irregularidades e amplitude de registro que atingiu 0,7 mV, apresentando salva de potenciais característica e elevação do nível de energia nas frequências até 50 Hz observada no espectrograma, correspondendo a uma mudança expressiva quando comparado ao controle (basal) (**FIGURA 2B**). O nível de potência do grupo que recebeu o PTZ apresentou maior elevação com média de $6,844 \pm 2,195$ mV²/ Hz x 10⁻³ demonstrando diferença estatística para o grupo controle (**FIGURA 3**).

O grupo que foi tratado com o fenobarbital intercalado (PBTI 12) e não intercalado (PBTNI 12) apresentaram características de traçado electrocorticográficos muito semelhantes após a indução das convulsões com PTZ 12 horas posterior a interrupção do tratamento com fenobarbital (**FIGURA 2 C e D**). A análise de potência entre os grupos demonstrou que o PBTI 12 apresentou média $1,613 \pm 0,709$ mV²/ Hz x 10⁻³ e o grupo PBTNI 12 com média de $1,91 \pm 0,5688$ mV²/ Hz x 10⁻³ não apresentaram diferença estatística de acordo com os valores. Porém os grupos PBTI12 e PBTNI12 apresentaram diferença estatística em relação ao grupo controle e ao grupo PTZ (**FIGURA 3**).

Os grupos que receberam aplicação de PTZ 24 horas após a retirada do tratamento com fenobarbital intercalado (PBTI 24) apresentou o registro cortical com disparos abaixo de 0,5 mV e maiores intensidade de energia observado no espectrograma abaixo dos 30 Hz (**FIGURA 2 E**), quando relacionado a potência do registro apresentou média de $2,852 \pm 0,4075$ mV²/ Hz x 10⁻³. Para o grupo que recebi o fenobarbital não intercalado PBTNI 24 foi observado semelhança no registro após a utilização do PTZ para a indução das convulsões

(FIGURA 2F). O nível de potência observado durante o registro foi de $3,18 \pm 0,3058$ mV2/ Hz x 10-3. Desta forma quando comparados os grupos PBTI 24 e PBTNI 24 em relação a potência do registro não apresentaram diferenças estatística significativa. Da mesma forma não mantiveram diferença estatística para os grupos PBTI 12 e PBTNI 12, porém mantiveram diferenças estatística significativas para os grupos controle e PTZ.

Nos testes feitos após 36 horas da retirada do tratamento com o fenobarbital os grupos PBTI 36 e PBTNI 36 apresentaram maiores oscilações no traçado o que indica diminuição na quantidade de droga que protege contra as convulsões induzidas pelo PTZ (FIGURA 2 G e H). Para o grupo PBTI 36 a potência apresentou média de $4,144 \pm 0,7084$ mV2/ Hz x 10-3 que apresentou diferença estatística para o grupo PBTNI 36 que apresentou média de $5,594 \pm 0,8784$ mV2/ Hz x 10-3, demonstrando que o processo de liberação lenta do fenobarbital intercalado promoveu maior proteção para os animais testados. Este dado é relevante a partir da constatação que em relação à potência o grupo PBTNI36 não apresenta diferença estatística para o grupo PTZ.

TABELA 4: Atividade das enzimas hepáticas após a utilização de PBTI e PBTNI. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9).

| Enzimas Hepáticas | Controle | PBTI | PBTNI |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| AST (mg/dL) | 96,1 ($\pm 11,8$) ^a | 108,0 ($\pm 5,6$) ^a | 115,8 ($\pm 7,5$) ^b |
| ALT (mg/dL) | 53,00 ($\pm 13,0$) | 54,08 ($\pm 4,0$) | 58,56 ($\pm 5,6$) |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Os testes para avaliação das enzimas hepáticas Aspartato aminotransferase (AST) e Alanina aminotransferase (ALT), indicam dano na membrana do hepatócito, devido ao aumento da permeabilidade. Houve aumento significativo da AST para o grupo PBTNI em relação ao controle que pode indicar dano hepático.

5 DISCUSSÃO

No centenário da descoberta das propriedades antiepilépticas do fenobarbital, temos mais de 20 drogas disponíveis para tratamento de epilepsia; contudo, nenhum fármaco mudou dramaticamente o prognóstico desta condição, em longo prazo. A cascata de eventos que desencadeia a epilepsia, provavelmente, varia muito de indivíduo para indivíduo. Uma vez que a epileptogênese seja melhor compreendida, o tratamento poderá ser direcionado aos seus mecanismos específicos e então poderemos dispor de tratamentos capazes de modificar a história natural da doença. Desta forma utilização de fenobarbital intercalado para liberação lenta pode ser observado como uma possibilidade de melhor controle do episódio epilético e menores efeitos colaterais. Após a comprovação da intercalação em HDL na proporção de

0,032g por grama de material, o que possibilitou o teste e comprovação comportamental e eletroencefalográfica.

A intercalação de espécies orgânicas em HDL tem recebido atenção às diversas aplicações possíveis para esses materiais híbridos orgânicos-inorgânicos. Os compostos intercalados em HDL sofrem processo de liberação sustentada, decorrente da dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma reação de troca iônica no corpo (DEL HOYO, 2007). Adicionalmente, o confinamento de substâncias em estruturas lamelares pode aumentar seu tempo de ação no corpo de modo a manter as especificações, física, química, terapêutica e toxicológicas do princípio ativo do composto durante o período de armazenamento, além de promover a estabilidade da substância e direcionar os sistemas híbridos para alvos específicos (tecidos) e/ou regular sua liberação no organismo (KURA et al. 2014) Esses dados corroboram com os apresentados no trabalho pois o fenobarbital intercalado teve maior tempo de controle das convulsões induzidas por PTZ , quando comparado ao fenobarbital comercial.

Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para uso como suporte para o armazenamento e liberação sustentada de fenobarbital. As propriedades dos HDL também, permite intercala-los com trocadores iônicos, catalisadores, precursores ou suporte para catalisadores, adsorventes, na síntese de matérias cerâmicas avançadas (CAVANI, TRIFIRO, VACCARI, 1991). O HDL pode ser utilizado para liberação lenta de anti-inflamatórios não esteróidais, uma das drogas já utilizada é a metformina para o controle da glicemia em diabéticos (AMBROGI et al, 2001, 2003; BARAHUIE et al, 2014; TRONTO et al, 2001). O pentilenotetrazol (PTZ) é um componente convulsivo capaz de gerar tanto crises agudas, quanto crônicas (MUSSOLINI, 2013). Ela é uma das principais substancias causadoras de convulsões que são utilizadas na escolha pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes. A criação de barbitúricos no tratamento das crises convulsivas veio a partir de estudos com o PTZ (JÚNIOR et al, 2007). Desta forma, a utilização do modelo convulsivo do PTZ levou em consideração o tempo de ocorrência para o comportamento padronizado pelo grupo controle e a confirmação eletroencefalográfica do fenômeno subjacentes ao estado convulsivo e podemos demonstrar a eficácia do fenobarbital intercalado com HDL.

A intercalação de espécies orgânicas em HDL tem ganhado atenção expressiva devido às inúmeras aplicações viáveis para esses materiais híbridos orgânico-inorgânicos. Esses compostos também vêm sendo usado há algum tempo como excipientes farmacêuticos como é o caso da metformina de liberação lenta para tratamento de diabetes (CUNHA et al., 2010).

Atualmente, atenta-se para um número cada vez maior de artigos científicos e de patentes que focam a intercalação de produtos biologicamente ativos em HDL, como uma tática para aumentar a estabilidade das substâncias, para aplicação em terapias modernas (CUNHA et al., 2010). No presente trabalho os HDL foram os materiais de escolha para serem intercalados ao fenobarbital, justamente em função de suas características inovadoras. O controle de doenças crônicas com menos oscilações nas concentrações plasmáticas pode favorecer o tratamento da epilepsia com fenobarbital intercalado.

O fenobarbital apresenta um histórico de mais de cem anos de uso clínico o que lhe proporciona um grau incomparável de conhecimento e segurança sobre sua eficácia e tolerabilidade (YANCUBIAN, CONTRERAS-CAICEDO, RÍOS-POHL, 1999; MEDEIROS, 2014). Dados todos esses fatores foi a droga anticonvulsivante usada nesse estudo.

O estudo sob análise revela que em relação traçados eletrocorticográficos (ECoG) e espectogramas, com duração de 30 minutos, após administração de PTZ, houve alterações estatísticas significativas entre o PBTI (**FIGURA 02 G**) e PBTNI (**FIGURA 02 H**) após 36 horas do uso das mesmas. Por meio desses traçados ficou claro que o PBTI oferece um maior tempo de proteção contra convulsões comparando-se ao PBTNI quando se leva em consideração um tempo mínimo de 36 horas após a suspensão da droga. Também é possível comprovar que ambas as composições obtiveram resultados satisfatórios em relação ao grupo basal representado no eletroencefalograma (**FIGURA 02 A**).

As enzimas hepáticas ALT (Alanina aminotransferase) e AST (Aspartato aminotransferase) são utilizadas para avaliar a existência de dano hepático (BATISTA, 2016; MINCIS, 2006). Hoje sabe-se que a grande parte das drogas utilizadas para o tratamento da epilepsia podem induzir alguma alteração nos valores dessas enzimas, como o fenobarbital, ácido valpróico, fenitoína, felbamato, carbamazepina, entre outros (MARANHÃO; GOMES; CARVALHO, 2011).

O fenobarbital é um antiepiléptico muito utilizado, porém com efeitos colaterais importantes, sendo a insuficiência hepática o mais grave deles, podendo ocorrer apenas aumento das enzimas hepáticas, ou até óbito, (ANTONIUK, 1996). A hepatotoxicidade induzida pelos antiepilépticos pode ocorrer tanto como parte de uma reação idiossincrásica generalizada, que ocorre em função do acúmulo de intermediários tóxicos produzidos durante a bioativação hepática ou como um evento isolado, sendo sua prevalência cerca de 9% entre os pacientes tratados com fenitoína, carbamazepina e fenobarbital (OLIVEIRA, 2011).

O fenobarbital, a droga utilizada nesse estudo, também apresenta como efeitos colaterais comuns distúrbios hepatobiliares, como aumento da gama-glutamiltransferase,

aumento das transaminases, aumento da fosfatase alcalina no sangue e até hepatite. Normalmente a hepatotoxicidade só se manifesta se a concentração sérica é mantida acima do limite máximo por períodos extensos (BITTAR, 2018).

Nos resultados do presente estudo, a utilização de fenobarbital promoveu um aumento nos valores das transaminases hepáticas, corroborando os resultados encontrados em outros estudos realizados em animais (BITTAR, 2018; TIPOLD, 2014).

A utilização de fenobarbital não intercalado e intercalado não aumentaram a enzima ALT, em relação ao grupo controle, havendo manutenção da enzima próximo aos padrões de normalidade. Porém, ao se analisar a enzima AST, a utilização do fenobarbital não intercalado induziu um aumento relevante de AST em comparação ao grupo controle, o que pode sugerir um certo comprometimento hepático. O fenobarbital intercalado não apresentou diferença para o grupo controle. Para este dado o fato de a droga ser liberada de forma lenta no organismo, evitando absorção rápida com aumento gradativo no sangue pode estar relacionado ao resultado encontrado. A liberação controlada provoca aumento na segurança da droga levando a menor indução enzimática, efeito colateral importante do fenobarbital (CUNHA et al, 2010).

6 CONCLUSÃO

- Ficou demonstrado que o fenobarbital pode ser incluído em HDL e aumentar sua permanência no organismo podendo controlar melhor os quadros convulsivos.
- O modelo experimental de convulsão induzido pelo PTZ, utilizando o PBTI e o PBTNI para o controle das crises convulsivas foi bem-sucedido, tendo com isso alcançado o objetivo de demonstrar que existe um tempo maior de permanência no efeito anticonvulsivante do PBTI em relação ao PBTNI demonstrado através do comportamento e de registros eletroencefalográficos.

- Ambas as drogas, PBTI e PBTNI, exercem proteção contra as crises convulsivas induzidas pelo PTZ, no entanto após 36 horas do uso, o PBTNI mostrou efeito mais eficaz pelo fato de o mesmo apresentar um maior tempo de permanência no organismo.
- Ambas as drogas, PBTI e PBTNI, provocam um certo aumento das enzimas hepáticas. O PBTNI, porém, provoca um aumento de AST consideravelmente maior que o PBTI durante o período de tratamento de 4 dias, demonstrando uma redução da toxicidade hepática com o uso de PBTI.
- Este estudo oferece subsídios para posteriores e maiores explicações sobre o uso do Fenobarbital intercalado para o controle das crises convulsivas e seus benefícios, sobre ter no mercado uma droga anticonvulsivante mais eficaz, o que poderá favorecer o tratamento de milhares de pessoas epiléticas proporcionando melhor qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

ABEND, N. S. et al. Status epilepticus and refractory status epilepticus management. **Semin Pediatr Neurol.** 2014; 21(4):263-74. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.spn.2014.12.006>.

ABEND, N. S., LODDENKEMPER, T. Pediatric status epilepticus management. **Curr Opin Pediatr.** 2014; 26(6):668-74.doi: 10.1097/MOP.0000000000000154.

ABEND, N. S., GUTIERREZ-COLINA, A. M., DLUGOS, D. J. Medical treatment of pediatric status epilepticus. **Semin Pediatr Neurol**. 2010; 17(3):169-75.

ABEND, N. S., et al. Anticonvulsant medications in the pediatric emergency room and intensive care unit. **Pediatric Emergency Care**. 2008; 24(10):705-18.

AGARWAL, M., FOX, S. M. Pediatric seizure res. **Emerg Med Clin North Am**. 2013; 31(3):733-54. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.emc.2013.04.001>.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. **Febrile seizures**. 2015. Available from: <https://www.healthychildren.org/English/health-issues/conditions/head-neck-nervous-system/Pages/Febrile-Seizures.aspx>.

AMBROGI, V. et al. Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with antiinflammatory agents- I. Intercalation and in vitro release of ibuprofen. **International journal of pharmaceuticals**. 2001.

AMBROGI, V. et al. Effect of hydrotalcite-like compounds on the aqueous solubility of some poorly water-soluble drugs. **Jornal of pharmaceutical Sciences**, 2003.

ANVISA. Fenobarbital Medicamento genérico, Lei n° 9.787, de 1999. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9918512013&pIdAnexo=1877001. Acesso em: 08 out.2018.

ANTONIUK, S. A. et al. Insuficiência Aguda Hepática associada ao ácido valpróico na infância. **Arquivo Neuropsiquiátrico**, 1996, Curitiba-PR. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/anp/v54n4/15.pdf>. Acesso em: 28 jan.2019.

BATISTA, C. H. Indicadores de lesão e função hepática. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal. **Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016. p. 10. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2016/07/seminario_Chester.pdf. Acesso em: 28 jan.2019.

BASU, D. et al. Advances in layered double hydroxide (LDH)-based elastomer composites, **Progress in Polymer Science**, v.39, p.594–626, 2014.

BERKOVIC, S. F. et al. The epilepsies: specific syndromes or a neurobiological continuum? In: Wolf P. Epileptic seizures and syndromes. **London: John Libbey & Company Ltd.**; 1994. p.25-37.

BERKOVIC, S. F. et al. Concepts of absence epilepsies: discrete syndromes or biological continuum? **Neurology** 1987;37:993-1000.

BITTAR, G. F. et al. Avaliação laboratorial e nível sérico do fenobarbital administrado por diferentes vias em cão. **Acta Scientiae Veterinariae**. 2018. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/download/84786/49801>. Acesso em: 28 jan.2019.

BLUMSTEIN, M. D., FRIEDMAN, M. J. Childhood seizures. **Emerg Med Clin North Am.** 2007; 25(4):1061-86.

BRAVO-SUÁREZ, J. J.; PÁEZ-MOZO, E. A.; OYAMA, S. T. Review of the synthesis of layered double hydroxides: a thermodynamic approach. **Quimica Nova**, v.27, No.4, p.601-614, 2004.

BRITO, A. R., VASCONCELOS, M. M., ALMEIDA, S. S. A. Convulsões. **Revista Ped. SOPERJ**, v. 17, supl. 1, p. 56-62, Rio de Janeiro, dez. 2017. Disponível em: http://revistadepediatriasoperj.org.br/Novo/revista/detalhe_artigo.asp?id=1036. Acesso em: 15 abr.2019.

BRITO, V. B. et al. Diphenyl diselenide and 2,3-dimercaptopropanol increase the PTZ-induced chemical seizure and mortality in mice. **Brain. Res Bull.** v. 68, p. 414-418. 2006.

BROPHY, G. M. et al. Guidelines for the evaluation and management of status epilepticus. **Neurocrit Care.** 2012; 17(1):3-23. CAPLAN, E. et al. Recognition and management of seizures in children in emergency departments. **Emerg Nurse.** 2016; 24(5):30-8. doi: 10.7748/en.2016.e1594.

BRUNO, A. N., **Efeitos de crises crônicas e agudas induzidas por pentilenotetrazol sobre a hidrólise de nucleotídeos púricos em soro de ratos adultos.** 2002. 89 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

CAPOVILLA, G. et al. Recommendations for the management of "febrile seizures": Ad hoc Task Force of LICE Guidelines Commission. **Epilepsia.** 2009; 50(suppl. 1):2-6. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01963.x.

CARVALHO, V. N., SOUSA, A. M. M. H. Conduta no primeiro episódio de crise convulsiva. **Jornal de Pediatria**, Vol. 78, Supl. 1, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jped/v78s1/v78n7a04.pdf>. Acesso em: 15 abr.2019.

CASELLA, E. B., MANGIA, C. M. F. Abordagem da crise convulsiva aguda e estado de mal epilético em crianças. **Jornal de Pediatria**, Vol. 75, Supl. 2, 1999. Disponível em: <http://www.saudedireta.com.br/docsupload/1340281502port.pdf>. Acesso em: 15 abr.2019.

CAVANI, F.; TRIFIRO, F.; VACCARI, A. Hydrotalcite-Type Anionic Clays: Preparation, Properties And Applications. **Catalysis Today**, vol. 1, pag. 173 – 301, 1991.

CHAU P. L. New insights into the molecular mechanisms of general anaesthetics. **J. Pharmacol.** v. 2 p. 288-307, 2010.

CHEN, S. et al. Studies on adsorption of phenol and 4-nitrophenol on MgAl-mixed oxide derived from MgAl-layered double hydroxide. **Separation and Purification Technology**, v.67, p.194–200, 2009.

CHOY, J. H. et al. Clay minerals and layered double hydroxides for novel biological applications. **Appl. Clay Sci.** 2007, v. 36, p. 122.

CORDA, M. C. et al. Decrease in GABAergic function inhibitors. **Pharmacol.** p 262: 792 – 800, 1992.

CORNEJO, J. et al. Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. **Clay Minerals**, v.43, p.155–175, 2008.

CREPALDI, E. L.; VALIM, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: síntese, estrutura, propriedades e aplicações. **Química Nova**, V. 21, n. 3, p. 300-311,1998.

COMMISSION ON EPIDEMIOLOGY AND PROGNOSIS. International League Against Epilepsy. **Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. Epilepsia** 1993;34:592-6.

COZANITIS, D. A. One hundred years of barbiturates and their saint. **J R Soc Med.** v. 12 p. 594-598, 2004.

CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. C.; CONSTANTINO, V. R. L. Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. **Química Nova**, V. 33, n. 1, p.159-171, 2010.

DEL HOYO, C. Layered double hydroxides and human health: An overview. **Appl. Clay Sci.** 2007, v. 36, p. 103.

DEVENYI, P.; WILSON, M. Barbiturate abuse and addiction and their relationship to alcohol and alcoholism. **J. Can Med Assoc.** v. 6, p. 215-218, 1971.

DULAC, O.; LEPPIK, I. E. Initiating and discontinuing treatment. In: Engel Jr. J & Pedley TA, editores. *Epilepsy: a comprehensive textbook*. 1ª ed. **New York: Lippincott-Raven Publishers**; 1997. p.1237-46.

EXTREMERA, R. et al. Removal of acid orange 10 by calcined Mg/Al layered double hydroxides from water and recovery of the adsorbed dye. **Chemical Engineering Journal**, v.213, p.392– 400, 2012.

FALCO-WALTER, J. J; BLECK, T. Epilepticus. **J Clin Med.** v.5, p.25, 2016.

FAVANO, A. et al. BPR- Guia de Remédios. 10 ed. BPR- Consultoria, Projetos e Comércio Ltda., 2011, p.405.

FETVEIT, A. Assessment of febrile seizures in children. **Eur J Pediatr.** 2008; 167(1):17-27. doi: 10.1007/s00431-007-0577-x.

FISCHER, R. S. et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Epilepsia.** 2017; 58(4):531-42. doi: 10.1111/epi.13671.

FREILICH, E. R., ZELLEKE, T., GAILLARD, W. D. Identification and evaluation of the child in status epilepticus. **Semin Pediatr Neurol.** 2010; 17(3):144-9.

GAO, X. et al. In vitro controlled release of vitamin C from Ca/Al layered double hydroxide drug delivery system. **Materials Science and Engineering C**, v.39, p.56–60, 2014.

GASSER, M. S. Inorganic layered double hydroxides as ascorbic acid (vitamin C) delivery system-Intercalation and their controlled release properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 73, n. 1, p. 103-109, 2009.

GOODMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

GUARAGNA, J. B. A. et al. **Manejo das crises convulsivas na emergência pediátrica**. 2018. Disponível em: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/04/883018/40-crisis-convulsivas.pdf>. Acesso em: 15 abr.2019.

GUERREIRO, C. A. M. História do Surgimento e Desenvolvimento das Drogas Antiepilépticas. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology, (S. L.)**, v. 12, n.1, p. 18-21, Dez. 2006.

GUPTA, A. Febrile seizures. **Continuum (Minneap Minn)**. 2016; 22(1 Epilepsy):51-9.

HADDAD, S. H.; ARABI, Y. M. Critical care management of severe traumatic brain injury in adults. **J Scand Trauma Resusc Emerg Med**. v. 20, p. 12, 2012.

HAMOY, Moisés. **Caracterização comportamental e eletroencefalográfica das convulsões induzidas pelo cananiol e acetato de cananiol extraídos das folhas de Clibadium sylvestre, um modelo de convulsão generalizada experimental em ratos (Wistar)**. 2011. 148 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, 2011. Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular.

HAMPERS, L. C.; SPINA, L. A. Evaluation and management of pediatric febrile seizures in the emergency department. **Emerg Med Clin N Am**. 2011; 29(1):83-93. doi: 10.1016/j.emc.2010.08.008.

HOCKER, S.; CLARK, S.; BRITTON, J. Parenteral phenobarbital in status epilepticus revisited: Mayo Clinic experience. **Epilepsia**. v. 2, p.193-197, 2018.

ICHIKURA, K.; OKUMURA, Y.; TAKEUCHI, T. Associations of Adverse Clinical Course and Ingested Substances among Patients with Deliberate Drug Poisoning: A Cohort Study from an Intensive Care Unit in Japan. **PLoS ONE**. v. 8, 2016.

JÚNIOR, L. J. Q. et al. Modelos animais para avaliação de drogas anticonvulsivantes: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmacologia, (S.L.)**, v. 88, n.4, p. 163-66, Mar. 2007.

KANKALA, R. K. et al. Multi-laminated metal hydroxide nanocontainers for oralspecific delivery for bioavailability improvement and treatment of inflammatory paw edema in mice. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 458, p. 217-228, 2015.

KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 13 ed. Porto Alegre: AMGH, 2017, 1216 p.

KHAIR, A. M., ELMAGRABI, D. Febrile seizures and febrile seizure syndromes: an updated overview of old and current knowledge. **Neurology Research International**. 2015; article ID 849341:7 pages. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/849341>.

KHAN, R. et al. Low-temperature synthesis of ZnO quantum dots for photocatalytic degradation of methyl orange dye under UV irradiation. **Ceramics International**, V. 40, Issue 9, Part B, p. 14827-14831, 2014b.

KURA, A. U. et al. Layered double hydroxide nanocomposite for drug delivery systems; bio-distribution, toxicity and drug activity enhancement. **Chemistry Central Journal**, v. 8. N. 1, p 47, 2014.

KUWAHARA, Y. et al. Waste-Slag Hydrocalumite and Derivatives as Heterogeneous Base Catalysts. **Chemistry & Sustainability Energy & Materials**, p.1 – 11, 2012.

LAWTON, B., DEUBLE, N. Seizures in the paediatric emergency department. **J Paediatr Child Health**. 2016; 52(2):147-50. doi: 10.1111/jpc.12979.

LEWIS, C. B.; ADAMS, N. Phenobarbital. **StatPearls**. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532277/>. Acesso em 14 abr.2019.

LI, J. et al. Enhancing medical compliance of patients with convulsive epilepsy in rural community: A randomized intervention trial. **PubMed**. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24117425>. Acesso em 17 de abril de 2019.

LIANG, X. et al. Sorption of metal cations on layered double hydroxides. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Engineering Aspects**, v.433, p.122-131, 2013.

LÖSCHER W.; ROGAWSKI M. A. How theories evolved concerning the mechanism of action of barbiturates. **PubMed**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23205959>. Acesso em: 22 abr.2019.

MADEJA, M. et al. Mechanism of action of epileptogenic drug pentylenetetrazol on a cloned neuronal potassium channel, **Brain** v. 722 p. 59-70, 1996.

MARANHÃO, M. V. M.; GOMES, E. A.; CARVALHO, P. E. Epilepsia e Anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, vol. 61, n. 2, Campinas, mar./apr. 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-70942011000200013. Acesso em: 08 out.2018.

MENG, Z et al. Structure, molecular simulation, and release of a spirin from intercalated Zn–Al-layered double hydroxides. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 135, p. 339-345, 2015.

MEDEIROS, P. A. D. **Estudo clínico- laboratorial do uso do fenobarbital como anticonvulsivantes entre pacientes do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC)**. 2014. 85 f. Dissertação (Mestrado em saúde pública)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

MILAGRES, J. L. **Preparo e avaliação do hidróxido duplo lamelar de cálcio e alumínio na remoção de cobre(II), níquel(II), zinco(II) e cromo(VI) de solução aquosa**. Dissertação de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015. Disponível em:

<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7625/texto%20completo.pdf?sequence=1>. Acesso em: 16 abr.2016.

MILLS, S. J. et al. Nomenclature of the hydrotalcite supergroup: natural layered double hydroxides. **Mineralogical Magazine**, v.76, No.5, p.1289–1336, 2012.

MILLS, S. J. et al. Contribution to the crystallography of hydrotalcites the crystal structures of woodallite and takovite. **Journal of Geosciences**, v.58, p.273-279, 2012.

MINCIS, M.; MINCIS, R. **Enzimas hepáticas: aspectos de interesse prático**. Prática Clínica. Grupo Editorial Moereira Jr, JAN/2006. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3250. Acesso em: 28 jan.2019.

MINCIS, M.; MINCIS, R. **Esteatose e esteato-hepatite não alcoólicas**. Prática Clínica. Grupo Editorial Moereira Jr, ABR/2006. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3467. Acesso em: 28 jan.2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Epilepsia**. Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas. Portaria SAS/MS no 1.319, de 25 de novembro de 2013. Disponível em: portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/abril/02/pcdt-epilepsia-livro-2013.pdf. Acesso em: 05 mai.2019.

MIRANDA, L. D. L. et al. Preparation and evaluation of hydrotalcite-iron oxide magnetic organocomposite intercalated with surfactants for cationic methylene blue dye removal. **Chemical Engineering Journal**, v.254, p.88–97, 2014.

MUSSOLINI, B. H. M. **Caracterização comportamental do modelo de convulsões induzidas por pentilenotetrazol em zebrafish adulto**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

NAKAYAMA, H. Induration at Injection or Infusion Site May Reduce Bioavailability of Parenteral Phenobarbital Administration. **PubMed**. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28328763>. Acesso em: 22 abr.2019.

NOLAN, J. et al. Phenobarbitone versus phenytoin monotherapy for partial onset seizures and generalised onset tonicclonic seizures. **Cochrane Database of Systematic Reviews** [Internet]. 2013; (1). Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD002217.pub2/abstract>.

OLIVEIRA, A. C. F. et al. Hepatotoxicidade e Síndrome DRESS induzida por anticonvulsivantes - Relato de dois casos e revisão da literatura. **GED gastroenterol. endosc.dig.** 2011. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0101-7772/2011/v30n4/a3601.pdf>. Acesso em: 29 jan.2019.

OLIVEIRA, E. P., **Estudo crítico dos modelos experimentais em epilepsia espontânea do tipo ausência**. 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Programa de Fisiopatologia Experimental) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, M. C. B., et al. Caracterizações do fenobarbital: uma breve revisão de literatura sobre seus efeitos. **Revista Saúde em Foco**. 10 ed. pag. 920 – 927, 2018.

OLSON, R.W. The GABA postsynaptic membrane receptor-ionophore complex. Site of action convulsant and anticonvulsant drugs. v. 39 p. 261-279, 1981.

OLUWABUSI, T., SOOD, S. K. Update on the management of simple febrile seizures: emphasis on minimal intervention. **Curr Opin Pediatr.** 2012; 24(2):259-65. doi: 10.1097/MOP.0b013e3283506765.

OGA, S. et al. **Fundamentos de Toxicologia.** 3 ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo, 2008. p. 375-387.

PACIFICI, G. M. Clinical Pharmacology of Phenobarbital in Neonates: Effects, Metabolism and Pharmacokinetics. **Current Pediatric Reviews.** vol. 12. n. 1, pag. 48 -54, 2016.

PARIDA, K. M.; SAHOO, M.; SINGHA, S. Synthesis and characterization of a Fe(III)-Schiff base complex in a Zn-Al LDH host for cyclohexane oxidation. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical,** V. 329, ed.1-2, p. 7-12, 2010.

PICON, P. X., MAROSTICA, P. J., BARROS, E. **Pediatria consulta rápida.** Porto Alegre: Artmed; 2010.

PIVA, J. P., GARCIA, P. C. **Medicina Intensiva em pediatria.** 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2015.

PLANK, J.; DAI, Z.; ANDRES, P. R. reparation and characterization of new Ca– Al– polycarboxylate layered double hydroxides. **Materials Letters,** v.60, p.3614–3617, 2006.

PORTELA, J. L., PIVA, J. P. Midazolam versus diazepam para tratamento de estado de mal epiléptico em emergência pediátrica. **Sci Med.** 2011;21(4):184-90.

RAMANJANEYULU, R.; TICKU, M. K. Interactions 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.

RIVES, V.; del ARCO, M.; MARTIN, C. ntercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review. **Applied Clay Science,** v.88– 89, p.239–269, 2014.

ROBERTS, I. Sydenham E. Barbiturates for acute traumatic brain injury. **Rev. Cochrane Database Syst** v. 12, 2012.

SABERS, A. Pharmacokinetic interactions between contraceptives and antiepileptic drugs. Seizure. **PubMed.** 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18206393>. Acesso em: 22 abr.2019.

SACHDEVA, A.; CHOUDHARY, M.; CHANDRA, M.; Alcohol Withdrawal Syndrome: Benzodiazepines and Beyond. **J Clin Diagn** v. 9, 2015.

SCHACHTER, S. C. Antiseizure drugs: Mechanism of action, pharmacology, and adverse effects. **UpToDate.** 2018. Disponível em: <http://www.uptodate.com/online>. Acesso em 07 de out. 2018.

SANOFI. Gardenal, Responsável técnica Silvia Regina Brollo. Suzano – SP: **Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda.**

SANTOS, R. M. M. **Materiais derivados de hidróxidos duplos lamelares: síntese, caracterização e aplicação em adsorção e processos avançados de oxidação.** Dissertação de Mestrado de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/132959/santos_rmm_me_araiq_int.pdf?sequence=5. Acesso em: 15 abr.2019.

SANVICENS, N.; MARCO, M. P. Multifunctional nanoparticles – properties and prospects for their use in human medicine. **Trends. Biotechnol.** 2008, v. 26, p. 425. SASIDARAN, K.,

SASIDARAN, K.; SINGHI, S.; SINGHI, P. Management of acute seizure and status epilepticus in pediatric emergency. **Indian J Pediatr.** 2012;79(4):510-7. doi:10.1007/s12098-011-0604-9.

SAYER W. J. Hazards of barbiturates in the treatment of asthma, bronchitis, and obstructive pulmonary disease. **J. Med. West.** v. 6, p. 492,1975.

SKIBISKI, J.; ABDIJADID, S. Barbiturates. **StatPearls.** Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539731/#article-18133.s1>. Acesso em 14 abr. 2019.

SINGHI, S., SINGHI, P. Management of acute seizure and status epilepticus in pediatric emergency. **Indian J Pediatr.** 2012; 79(4):510-7. doi:10.1007/s12098-011-0604-9.

SILVA, V. et al. Hidróxidos duplos lamelares como matrizes para fertilizantes de liberação lenta de nitrato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, V. 38, p. 272-277, 2014.

SILVA, L. H. H. L. et al. Educação em saúde sobre crise convulsiva: relato de experiência. **XXII Enfermaio. II Mostra do internato em enfermagem.** UECE, Ceará, 2018. Disponível em: http://www.uece.br/eventos/enfermaio/anais/trabalhos_completos/405-39653-23042018-121350.pdf. Acesso em: 15 abr.2019.

SILVERIO, F. et al. Sorption of aspartic and glutamic aminoacids on calcined hydrotalcite. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, 2013. doi:10.1186/2193-1801-2-211.

SOKOLOVA, V.; EPPLE, M. Inorganic Nanoparticles as Carriers of Nucleic Acids into Cells. **Angew. Chem., Int. Ed.** 2008, v. 47, p. 1382.

SOUSA, P. V. S. **Preparo e avaliação do hidróxido duplo lamelar MgZnAl-Fe calcinado no processo de adsorção - fotodegradação do corante alaranjado de metila.** Dissertação de PósGraduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7625/texto%20completo.pdf?sequence=1>. Acesso em: 15 abr.2019.

SU, Y. Phenobarbital Versus Valproate for Generalized Convulsive Status Epilepticus in Adults: A Prospective Randomized Controlled Trial in China. **CNS Drugs.** v. 12 p. 1201-1207, 2016.

SUBCOMMITTEE ON FEBRILE SEIZURES. American Academy of Pediatrics. **Neurodiagnostic evaluation of the child with a simple febrile seizure**. Pediatrics. 2011 Feb;127(2):389-94.

SUDDOCK, J. T.; CAIN, M. D. Barbiturate Toxicity. StatPearls. **PubMed**. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29763050>. Acesso em 17 abr.2019.

TEUTO. **Fenobarbital**. Medicamento genérico Lei nº 9.787, de 1999. 2016. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=12038192016&pIdAnexo=3068713. Acesso em: 05 mai.2019.

THEISS, F. L. et al. A review of the removal of anions and oxyanions of the halogen elements from aqueous solution by layered double hydroxides. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.417, p.356–368, 2014.

THYVEETIL, M. A. et al. Computer simulation study of the structural stability and materials properties of DNA-intercalated layered double hydroxides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 14, p. 4742-4756, 2008.

TIPOLD, A. et al. Clinical efficacy and safety of imepitoin in comparison with phenobarbital for the control of idiopathic epilepsy in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic**. 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvp.12151>. Acesso em: 28 jan.2019.

TOLEDO, T. V.; BELLATO, C. R.; do ROSÁRIO, R. H.; MARQUES NETO, J. O. Adsorção de arsênio(V) pelo composto magnético hidrotalcita - óxido de ferro. **Química Nova**, v.34, No.4, p.561-567, 2011.

TRURMAN, D. J. et al. ILAE Commission on Epidemiology. Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. **Epilepsia**; 52 Suppl 7:pg. 226, 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. TELESSAÚDERS. **Resumo Clínico - Crise epiléptica e epilepsia**. Porto Alegre, 2016. Disponível em: https://www.ufrgs.br/telessauders/documentos/protocolos_resumos/neurologia_resumo_criseepileptica_epilepsia_TSRS.pdf. Acesso em: 07 out.2018.

VALENTE, J. S. et al. Calcined layered double hydroxides Mg–Me–Al (Me: Cu, Fe, Ni, Zn) as bifunctional catalysts. **Catalysis Today**, V. 150, Issues 3–4, p. 340-345, 2010.

XU, Z. P. et al. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. **Chem. Eng. Sci.** 2006, v. 61, p. 1027.

WILENSKY, A. J. et al. Kinetics of phenobarbital in normal subjects and epileptic patients. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** v.23 p. 87-92, 1982.

WILEY, J.; SONS Neonatal Formulary. 6 ed., **West Sussex: Limited European**. 2012.

YANCUBIAN, E. M. T; CONTRERAS-CAIDEDO, G; RÍOS-POHL. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo, Lemos, 1999. 254 p.

YOUNG, T. E.; MANGUM B.; NEOFA X. **A Manual of Drugs used in neonatal care.** CNS Drugs. Ed. Thomson Reuters, 2010.

APÊNDICE A – ARTIGO

A UTILIZAÇÃO PRÉ-CLÍNICA DO FENOBARBITAL INTERCALADO PARA O CONTROLE DO QUADRO CONVULSIVO THE PRE-CLINICAL USE OF THE INTERCALATED PHENOBARBITAL FOR THE CONTROL OF THE CONVULSIVE FRAME

Moisés Hamoy¹
Docente da Universidade Federal do Pará

¹ Email: hamoyufpa@gmail.com

Beatriz de Andrade Marques²
Acadêmico da Universidade Federal do Pará
Rafaela Laranjeira Silva³
Acadêmica da Universidade Federal do Pará

RESUMO

INTRODUÇÃO: As convulsões geralmente normalmente são eventos assustadores para quem os presencia e representa uma causa importante de visita à emergência pediátrica. O fenobarbital consiste em um medicamento barbitúrico que apresenta ação no sistema nervoso central, usado para prevenir o aparecimento de convulsões em indivíduos com epilepsia ou crises convulsivas de outras origens. Diversos trabalhos demonstram alta eficiência dos HDLs em sistemas de liberação controlada de fármacos fazendo com que eles sejam um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para ser utilizado como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada. **OBJETIVOS:** Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia do fenobarbital de liberação lenta no controle das convulsões deflagradas pelo pentilenotetrazol, verificando o tempo de permanência no efeito anticonvulsivante através do comportamento e de registros eletroencefalográficos. **METODOLOGIA:** Foi realizado um estudo quantitativo experimental no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Foram utilizados 162 ratos wistar machos adultos, pesando entre 200 a 250g, divididos em 2 grupos, sendo um para análise comportamental (n=90) e bioquímica e outro para aquisição de registro eletrocorticográfico (n=72). As enzimas hepáticas foram dosadas por meio da obtenção de amostra de sangue dos animais estudados, sendo analisadas no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, por meio de um aparelho de análise bioquímica da função hepática da marca Wiener lab GROUP, modelo CM 200. O procedimento para implante dos eletrodos e os registros eletrocorticográficos foram realizados conforme descrito por Hamoy (2011, p. 55-56). Os valores dos resultados foram descritos como média e desvio padrão. As comparações de potência serão feitas usando o ANOVA e teste de Turkey, através do software GraphPadPrism ® 5. **RESULTADOS:** Com a retirada do fenobarbital por um período de 36 horas os animais apresentaram evolução do quadro convulsivo até o estágio V após a indução com o pentilenotetrazol, porém os animais que receberam o fenobarbital intercalado apresentaram latências maiores para a deflagração do quadro convulsivo, o que indicou a permanência do efeito anticonvulsivante da droga. A utilização de fenobarbital não intercalado e intercalado não aumentaram a enzima ALT, em relação ao grupo controle, havendo manutenção da enzima próximo aos padrões de normalidade, diferentemente do que foi observado ao se analisar a enzima AST, em que a utilização do fenobarbital não intercalado induziu um aumento relevante de AST em comparação ao grupo controle, o que pode sugerir um certo comprometimento hepático. **CONCLUSÃO:** Ambas as drogas, fenobarbital intercalado e fenobarbital não intercalado, exercem segurança contra as crises convulsivas induzidas pelo PTZ no período de 12, 24 e 36 horas. Porém após 36 horas de uso do PBTI, foi constatado efeito protetor superior do mesmo pelo fato deste composto apresentar um maior tempo de permanência no organismo. **PALAVRAS-CHAVES:** Convulsões, Fenobarbital intercalado, Fenobarbital não intercalado.

ABSTRACT

² Email: beatrizandmarques@gmail.com

³ Email: rafa.medufpa@gmail.com

INTRODUCTION: Convulsions are usually frightening events for those who are present and are an important cause of pediatric emergency visits. Phenobarbital consists of a barbiturate drug that acts on the central nervous system, used to prevent the onset of seizures in individuals with epilepsy or seizures of other origins. Several works demonstrate high efficiency of HDLs in controlled drug release systems making them one of the inorganic materials pointed out as promising to be used as a support for the storage and sustained release of the intercalated substance. **OBJECTIVES:** This study aims to evaluate the efficacy of slow release phenobarbital in the control of convulsions triggered by pentilenotetrazol, verifying the time of permanence in the anticonvulsant effect through behavior and electroencephalographic records. **METHODS:** A quantitative experimental study was carried out at the Laboratory of Pharmacology and Toxicology of Natural Products of the Biological Sciences Institute of the Federal University of Pará. A total of 162 adult male Wistar rats weighing between 200 and 250g were divided into two groups, one for behavioral analysis (n = 90) and biochemistry and another for the acquisition of electrocorticographic record (n = 72). Hepatic enzymes were measured by obtaining a blood sample from the animals studied and analyzed in the Laboratory of Clinical Analysis of the Biological Sciences Institute of the Federal University of Pará by means of a biochemical analysis of liver function of the Wiener lab GROUP, model CM 200. The procedure for electrode implant and electrocorticographic recordings were performed as described by Hamoy (2018, p. 55-56). The values of the results were described as mean and standard deviation. Power comparisons will be made using ANOVA and Turkey test using GraphPadPrism ® 5 software. **RESULTS:** With the withdrawal of phenobarbital for a period of 36 hours, the animals evolved from the convulsive stage to stage V after induction with pentilenotetrazole, but the animals that received intercalated phenobarbital presented higher latencies for the triggering of the convulsive condition, which indicated the permanence of the anticonvulsive effect of the drug. The use of non-intercalated and intercalated phenobarbital did not increase the ALT enzyme in relation to the control group, maintaining the enzyme close to the normality standards, unlike what was observed when analyzing the AST enzyme, in which the use of non-intercalated phenobarbital induced a significant increase in AST compared to the control group, which may suggest a certain hepatic impairment. **CONCLUSION:** Both drugs, intercalated phenobarbital and non-intercalated phenobarbital, exert safety against PTZ-induced seizures in 12, 24 and 36 hours. However, after 36 hours of PBTI use, a higher protective effect was observed because this compound had a longer residence time in the organism. **KEYWORDS:** Convulsions, intercalated phenobarbital, non-intercalated phenobarbital.

1 INTRODUÇÃO

As convulsões geralmente normalmente são eventos assustadores para quem os presencia e representa uma causa importante de visita à emergência pediátrica. Uma crise epiléptica constitui um sinal de anormalidade na função do cérebro, sendo caracterizada por descargas elétricas anormais e excessivas de um grupo de neurônios que provocam manifestações clínicas súbitas (BRITO et al, 2017; SASIDARAN et al, 2012), tais como alteração ou perda da consciência, uma atividade motora anormal, distúrbios de comportamento, disfunção autonômica e sintomas sensoriais/sensitivos (BRITO et al, 2017; BLUMSTEIN, FRIEDMAN, 2007). As crises epilépticas com manifestações motoras correspondem às convulsões, já as crises epiléticas não convulsivas são representadas pelas

crises de ausência, assim como aquelas com sintomas exclusivamente sensitivos, visuais ou auditivos (BRITO et al, 2017).

O fenobarbital consiste em um barbitúrico com propriedades anticonvulsivantes, em função de sua capacidade de elevar o limiar de convulsão. Este é um medicamento que apresenta ação no sistema nervoso central, usado para prevenir o aparecimento de convulsões em indivíduos com epilepsia ou crises convulsivas de outras origens (TEUTO, 2016). Possui um largo espectro de ação, tendo efetividade similar à de outros fármacos anticonvulsivantes. Seu uso é seguro e está disponível tanto em apresentações orais e como parenterais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

O mecanismo de ação mais importante dessa droga consiste no prolongamento da abertura dos canais de cloro, dos receptores GABAA e consequente hiperpolarização da membrana pós-sináptica. O fenobarbital pode também bloquear os canais de sódio e potássio, reduzir o influxo de cálcio pré-sináptico e, possivelmente, reduzir as correntes mediadas pelo glutamato. O fenobarbital é ainda amplamente utilizado na prática clínica, em razão de apresentar eficácia equivalente à de fenitoína no tratamento em monoterapia tanto de crises focais como nas generalizadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013; NOLAN et al, 2013). Está indicado no tratamento de tanto de crises focais como generalizadas de pacientes de qualquer idade, incluindo recém-nascidos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

O desenvolvimento de materiais híbridos representa um campo de pesquisa que vem demonstrando um crescimento considerável nos últimos anos, especialmente pelo fato de harmonizar o conhecimento tradicional com as novas abordagens e as tecnologias modernas. Essa amplificação visa atender à crescente demanda por novos materiais multifuncionais, com variadas aplicações em Física, Química, Biologia, Agricultura e Medicina. Particularmente, tem merecido destaque a grande quantidade de trabalhos que abordam utilização de nanopartículas como cápsulas de armazenamento ou carregadores de espécies de interesse biológico e terapêutico (CUNHA et al, 2010; XU et al, 2006; SANVICENS, MARCO, 2008; SOKOLOVA, EPPLE, 2008).

Inúmeros sistemas para liberação controlada de drogas têm sido arquitetados e descritos, comparando suas vantagens e desvantagens, e podem ser classificados em quatro principais grupos: carregadores virais, compostos catiônicos orgânicos, proteínas recombinantes e nanopartículas inorgânicas. Como exemplos recentes tem-se: pontos quânticos (*quantum dots*) ou nanocompósitos magnético-fluorescentes; géis poliméricos; nanotubos de carbono ou sílica funcionalizados; cápsulas multilamelares de polieletrólitos; nanopartículas de ouro e hidróxidos duplos lamelares (HDLs) (CUNHA et al, 2010).

O termo “argilas amônicas” é usado para intitular os hidróxidos duplos lamelares, naturais ou sintéticos, contendo espécies aniônicas no domínio interlamelar. Esta designação é devida a um paralelo com o termo “argilas catiônicas”, utilizado para aqueles materiais que são constituídos de camadas de aluminossilicatos carregadas negativamente, com cátions no espaço interlamelar para compensar estas cargas. Nos últimos anos o termo Hidróxido Duplo Lamelar (HDL) tem sido mais utilizado e refere-se a características estruturais, destacando a presença de dois cátions metálicos na lamela destes compostos (SANTOS, 2016).

Diversos trabalhos demonstram alta eficiência dos HDLs em sistemas de liberação controlada de fármacos (SANTOS, 2016). As propriedades dos HDLs (como o caráter antiácido) podem ser combinadas com as propriedades do composto intercalado, tendo como resultado um híbrido no qual as estabilidades química, térmica e/ou fotoquímica, entre outras, são sensivelmente aumentadas em relação à do fármaco livre. Além disso, o material intercalado poderá sofrer um processo de liberação prolongada, decorrente da dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma reação de troca aniônica (CUNHA et al, 2010; CHOY et al, 2008; DEL HOYO, 2008). Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para ser utilizado como suporte para o armazenamento e a liberação sustentada da substância intercalada, que pode ser um tanto um fármaco como os anti-inflamatórios não-esteroidais, drogas anticancerígenas, um regulador de crescimento vegetal, porfirinas para uso em terapia fotodinâmica, aminoácidos, herbicidas, como a molécula de DNA em procedimentos de terapia gênica (CUNHA et al, 2010).

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia do fenobarbital de liberação lenta no controle das convulsões deflagradas pelo pentilenotetrazol (PTZ), verificando o tempo de permanência no efeito anticonvulsivante através do comportamento e de registros eletroencefalográficos, bem como caracterizar o quadro de convulsão agudo provocado pela aplicação de pentilenotetrazol, levando em conta padrões de comportamento e do registro eletroencefalográfico, para criação de escores que facilitará a análise com o fenobarbital de liberação lenta; criar dispositivos para análise dos dados eletroencefalográficos que possibilite associar o comportamento observado e as alterações eletroencefalográficas; quantificar as alterações eletroencefalográficas observada após a aplicações de pentilenotetrazol e verificar a sua intensidade após a aplicação do fenobarbital de liberação lenta e comparar com o fenobarbital não intercalado (PBTNI) já utilizado para controle da convulsão, verificando a permanência do seu efeito em 12, 24 e 36 horas após a última administração; e verificar a função hepática dos animais após a utilização do fenobarbital intercalado (PBTI).

2 METODOLOGIA

Foi realizado um estudo quantitativo experimental, no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Foram utilizados 162 ratos wistar machos adultos, pesando entre 200 a 250g. Os animais foram obtidos do Biotério Central de Universidade Federal do Pará, e mantidos no Biotério de Experimentação do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. Este trabalho está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCECA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) conforme apresentado no **ANEXO A** (CEUA n° 3953260717).

Para a análise comportamental e bioquímica, 4 grupos foram formados no experimento, utilizando um total de 90 animais, sendo grupo PBTI e grupo PBTNI recebendo 40 mg/kg via oral (Viana, 2007), grupo com pentilenotetrazol utilizando dose 60 mg/kg via IP, e grupo controle recebendo apenas o veículo.

Grupo 1. (G1) (n=9) Recebeu dose de 60 mg/kg de pentilenotetrazol, por via IP, para caracterizar o comportamento convulsivo no decorrer do tempo de contato, dividido nos estágios apresentados no **QUADRO 2**.

Após a caracterização do estágio convulsivo, foi testada a eficiência do fenobarbital intercalado e não intercalado, levando em consideração o aprofundamento dos estágios testado previamente. As características de evolução do quadro convulsivo agudo demonstraram a ação anticonvulsivante da droga testada.

QUADRO 2. Caracterização do comportamento convulsivo no decorrer do tempo de contato, após a aplicação de 60 mg/kg de pentilenotetrazol. Cada estágio inclui os comportamentos dos estágios precedentes.

| | |
|-------------|---|
| ESTÁGIO 0 | Sem alterações comportamentais após a aplicação do PTZ. |
| ESTÁGIO I | O animal apresenta depressão respiratória, imobilidade, salivação e tremores de pinas. |
| ESTÁGIO II | O animal apresenta movimentos orofaciais, abre e fecha a boca, movimentos rápidos de vibrissas e cauda levantada. |
| ESTÁGIO III | O animal apresenta crises clônicas isoladas de um ou mais membros, principalmente dos membros anteriores. |

| | |
|------------|---|
| ESTÁGIO IV | O animal apresenta crises clônicas generalizadas, salivação abundante, e perda transitória do reflexo de postura. |
| ESTÁGIO V | O animal apresenta crises tônico-clônicas (Grande-mal), cianose, perda do reflexo de postura e morte por parada respiratória. |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Grupo 2 (G2): este grupo recebeu fenobarbital não intercalado na dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas após o término do tratamento, onde os grupos receberam aplicação de pentilenotetrazol na dose de 60 mg/kg, onde foi feita a análise do comportamento e aprofundamento nos estágios.

Grupo 3 (G3): Este grupo recebeu fenobarbital intercalado na dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas após, com a aplicação de pentilenotetrazol na dose de 60 mg/kg, onde foram feitas as análises dos estágios comportamentais dos animais submetidos à convulsão.

Grupo 4 (G4): Recebeu o veículo inerte da intercalação do fenobarbital em dose equivalente por via oral durante 4 dias, e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas após, com a aplicação de pentilenotetrazol na dose de 60 mg/kg, onde foram feitas as análises dos estágios comportamentais dos animais submetidos à convulsão

O objetivo deste teste foi avaliar a eficácia do PBTI e PBTNI, permitindo analisar se o efeito anticonvulsivante foi mantido após a retirada do medicamento, controlando a deflagração das convulsões induzidas pelo pentilenotetrazol, bem como verificar se há interferência do veículo utilizado para liberação lenta de fenobarbital.

Para aquisição de registro eletrocorticográfico foram utilizados 72 animais, divididos em 4 grupos, sendo eles: grupo controle recebendo veículo inerte da intercalação do fenobarbital em dose de 40 mg/kg por via oral durante 4 dias (n=9); grupo PTZ, recebendo dose de 60 mg/kg (n=9), grupo PBTI, recebendo dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas; e grupo PBTNI, recebendo dose de 40 mg/kg por via oral durante quatro dias e os testes foram feitos em 12 (n=9), 24 (n=9) e 36 (n=9) horas.

As enzimas hepáticas foram dosadas por meio da obtenção de amostra de sangue dos animais estudados, sendo analisadas no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, por meio de um aparelho de análise bioquímica da função hepática da marca Wiener lab GROUP, modelo CM 200.

Para a comprovação da atividade cerebral, todos os animais dos grupos receberam eletrodos implantados na região de duramater (nas coordenadas esterotáticas - 0,96 mm bregma, e ± 1 mm latero-lateral) para observação dos eletrocorticogramas, possibilitando a análise de gráficos de potência revelando a atuação das drogas durante o experimento, este procedimento mostrou-se necessário para a comprovação e observação das alterações comportamentais concomitantemente com os registros eletroencefalográficos, comum neste tipo de avaliação. O procedimento para implante dos eletrodos e os registros eletrocorticográficos foram realizados conforme descrito por Hamoy (2011, p. 55-56).

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos 3 por caixa e acondicionados no biotério de experimentação formando dois grupos de 9 animais cada grupo. No sétimo dia após a cirurgia, os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de dados, composto por um amplificador de alta impedância (Grass Technologies, P511), monitorado por um osciloscópio (Protek, 6510) (Figura 13B). Os dados foram continuamente digitalizados em uma taxa de 1 KHz por um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX), e foram armazenados em disco rígido e processados através de um software especializado (LabVIEW express). O eletrodo de registro permaneceu localizado no lado direito do hemisfério, e do lado esquerdo o eletrodo de referência. Todo o experimento foi executado dentro da gaiola de Faraday. O registro foi feito durante o teste correlacionado com o comportamento permitindo a atividade eletrocorticográfica de cada estágio.

Após 10 minutos de acomodação, foi aplicado o pentilenotetrazol 60 mg/kg por via intraperitoneal, e a partir desse momento medido o tempo de latência para a ocorrência na mudança de traçado, o total de tempo para cada registro que será de 30 minutos. Para as análises dos sinais, uma ferramenta foi construída usando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para os gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida utilizando a biblioteca PyQt4.

Os valores dos resultados foram descritos como média e desvio padrão. As comparações de potência serão feitas usando o ANOVA e teste de Turkey, através do software GraphPadPrism ® 5. Valores de $p < 0,05$ serão considerados estatisticamente significativos. Para analisar a diferença entre os experimentos, um gráfico com a média e desvio padrão da densidade de potencial espectral (PSD) de vários experimentos foi construído, cada onda do gráfico foi gerada a partir de um conjunto de testes, onde o PSD foi gerado e calculada a média e o desvio padrão de cada grupo.

3 RESULTADOS

Levando em consideração características comportamentais do quadro de convulsão agudo provocado pela aplicação de pentilenotetrazol podemos classificar 6 estágios, conforme descritos no **QUADRO 2**.

Os animais foram submetidos a análise comportamental, durante as convulsões e comparadas com o padrão de latência dos comportamentos observados para o PTZ na dose de 60 mg/kg i.p. Para facilitar a formação de escores que identifique o comportamento, serão levados em consideração as latências para o aparecimento do comportamento convulsivo em graus de aprofundamentos variados:

- e) Espasmos dos membros Anteriores.
- f) Crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura.
- g) Crises clônicas generalizada com perda transitória do reflexo de postura.
- h) Crises tônico-clônicas com perda do reflexo de postura.

TABELA 1: Média para latência do comportamento de espasmos dos membros anteriores observados após o período de 12 horas de suspensão do tratamento com fenobarbital. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9).

| Tratamento | Latência (segundos) | (média ± DP) |
|------------|---------------------|----------------------------|
| | PTZ | 50,89 ± 5,925 ^a |
| | PBTI | 155,7 ± 60,21 ^b |
| | PBTNI | 148,7 ± 53,46 ^b |
| | Controle | 49,78 ± 9,217 ^a |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Após administração do fenobarbital por um período de quatro dias, foi feito procedimento de indução a convulsão, 12 horas da última dose do fenobarbital, foi observado que nessa condição a indução ao quadro convulsivo não possuiu evolução completa, atingindo o estágio II após a aplicação de 60 mg/kg i.p. de PTZ. A característica comportamental observada nos animais durante a evolução da convulsão foi o espasmo de membros anteriores. O que demonstrou que farmacologicamente o processo de absorção foi compatível entre o fenobarbital não intercalado (PBTNI) e o fenobarbital intercalado (PBTI) no controle das convulsões. Estes grupos não apresentaram diferenças estatísticas entre si, porém apresentaram diferença estatísticas entre o grupo PTZ e Controle.

A permanência do fenobarbital no organismo e a manutenção do limiar convulsivo alto foi um dado observado após 24 horas de retirada do fenobarbital, neste caso tanto o PBTI como o PBTNI tiveram sua atividade comprovada após provocarem aumento na latência para o aparecimento do comportamento observados após o tratamento para indução ao quadro convulsivo. O comportamento de espasmos de membros anteriores que pertence ao final do estágio II, não houve diferença estatística entre os grupos PBTI ($84,22 \pm 15,77$ segundos) e PBTNI ($77,89 \pm 21,69$ segundos), porém houve diferença estatística dos grupos que utilizaram fenobarbital para os grupos controle e PTZ (TABELA 2). Neste caso a convulsão evoluiu para os estágios subsequentes apresentando crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura que corresponde a uma característica de estágio III. Este comportamento foi observado com uma latência mais de duas vezes maior para os grupos PBTI e PBTNI não havendo diferenças estatísticas entre eles. Porém mantiveram diferença estatística para os grupos controle e PTZ (TABELA 2).

TABELA 2: Média de latências para comportamentos característicos da evolução das crises convulsivas 24 horas após utilização de Fenobarbital. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9).

| Comportamento | Tratamento | Latência (S) Média \pm DP |
|--|------------|-----------------------------|
| Espasmos dos membros anteriores | PTZ | $50,89 \pm 5,92^a$ |
| | PBTI | $84,22 \pm 15,77^b$ |
| | PBTNI | $77,89 \pm 21,69^b$ |
| | Controle | $46,22 \pm 6,457^a$ |
| Crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura | PTZ | $72,78 \pm 16,01^a$ |
| | PBTI | $197,2 \pm 58,59^b$ |
| | PBTNI | $199,4 \pm 93,0^b$ |
| | Controle | $73,64 \pm 14,28^a$ |
| Crises clônicas Generalizada com perda Transitória do reflexo de postura | PTZ | $150,1 \pm 39,51^a$ |
| | PBTI | $316,4 \pm 65,69^b$ |
| | PBTNI | $330,3 \pm 78,4^b$ |
| | Controle | $141,6 \pm 38,46^a$ |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Os animais apresentaram após 24 horas de suspensão do fenobarbital características comportamentais de estágio IV representado por crises clônicas generalizadas com perda

transitória do reflexo de postura que apresentou latência para o grupo PTZ ($150,1 \pm 39,51$ segundos) e controle com argila ($141,6 \pm 38,46$ segundos) não demonstrando diferença estatística. Os grupos PBTI e PBTNI apresentaram latência de ($316,4 \pm 65,69$) e ($330,3 \pm 78,4$) segundos respectivamente, não apresentando diferença estatística entre eles, mantendo, porém, diferenças para o grupo controle, o que demonstra uma proteção para a deflagração das convulsões induzidas pelo PTZ (**TABELA 2**).

Com a retirada do fenobarbital por um período de 36 horas os animais apresentaram evolução do quadro convulsivo até o estágio V após a indução com o PTZ, porém os animais que receberam o fenobarbital intercalado apresentaram latências maiores para a deflagração do quadro convulsivo, o que indicou a permanência do efeito anticonvulsivante da droga, como pode ser observado na (**TABELA 3**).

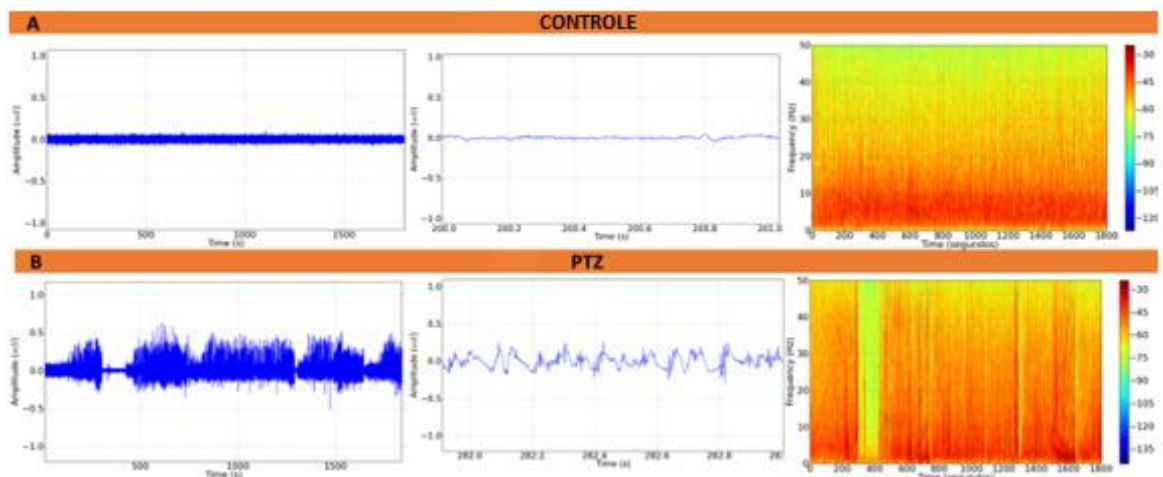
TABELA 3: Apresenta as médias de latências para crises 36 horas após utilização de Fenobarbital. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9)

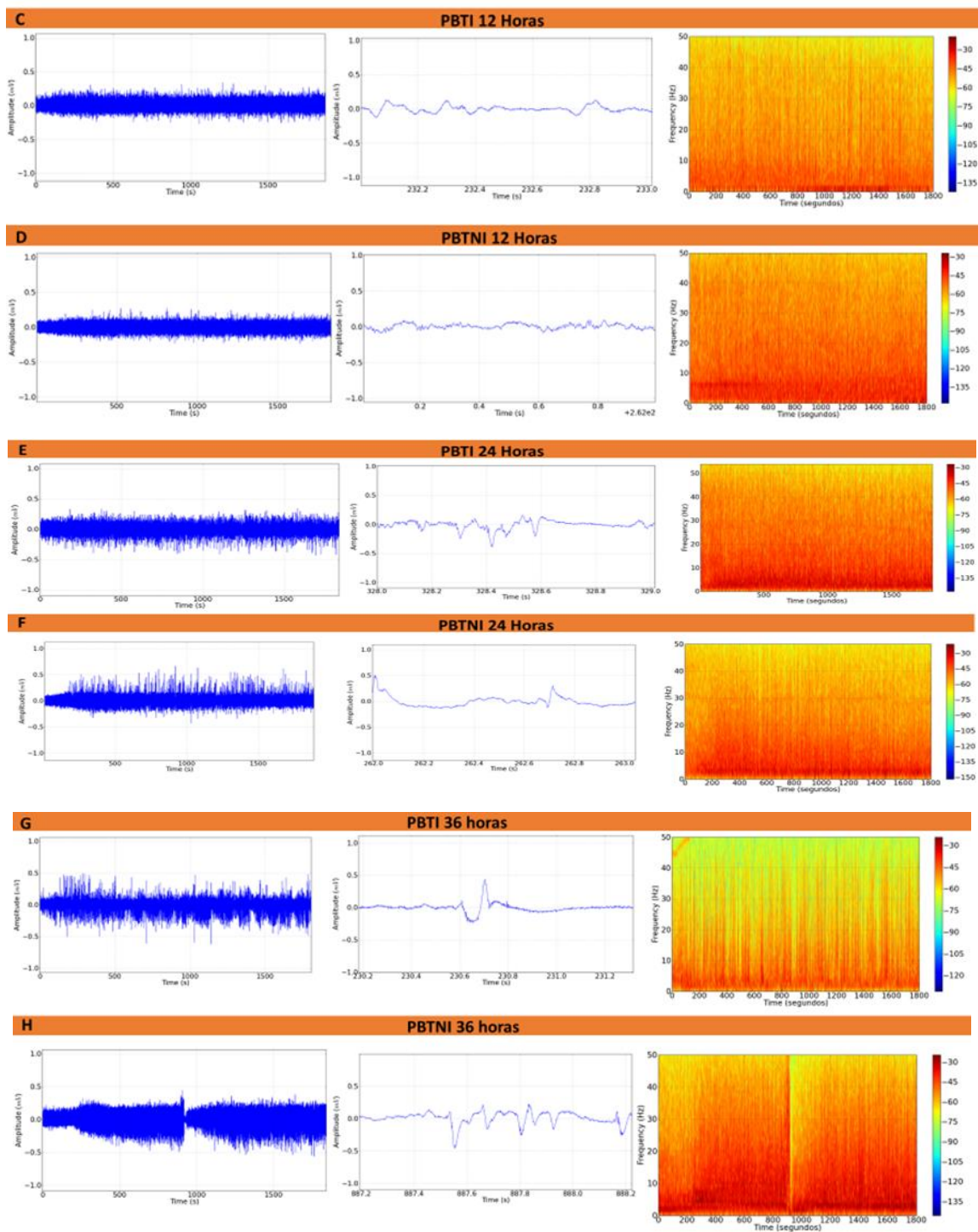
| Comportamento | Tratamento | Latência (S) Média \pm DP |
|--|------------|-----------------------------|
| Espasmos dos membros anteriores | PTZ | $50,89 \pm 5,92^a$ |
| | PBTI | $80,67 \pm 6,928^b$ |
| | PBTNI | $68,44 \pm 6,307^c$ |
| | Controle | $48,11 \pm 5,578^a$ |
| Crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura | PTZ | $72,78 \pm 16,01^a$ |
| | PBTI | $116,6 \pm 17,26^b$ |
| | PBTNI | $87,89 \pm 10,37^a$ |
| | Controle | $82,33 \pm 13,31^a$ |
| Crises clônicas Generalizada com perda Transitória do reflexo de postura | PTZ | $150,1 \pm 39,51^a$ |
| | PBTI | $213,3 \pm 32,49^b$ |
| | PBTNI | $211,6 \pm 39,47^b$ |
| | Controle | $153,2 \pm 28,75^a$ |
| Crises Tônico clônicas com perda do reflexo de postura | PTZ | $203,3 \pm 37,23^a$ |
| | PBTI | $281,4 \pm 38,25^b$ |
| | PBTNI | $227,7 \pm 43,37^a$ |
| | Controle | $201,2 \pm 20,80^a$ |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

O quadro convulsivo inicia com os espasmos dos membros anteriores com tempo de latência para o aparecimento após administração do PTZ de $50,89 \pm 5,92$ segundos, não tendo diferença estatística para o controle ($48,11 \pm 5,578$ segundos). Para o PBTNI a latência para o comportamento foi de $68,44 \pm 6,307$ segundos, mantendo diferença estatística para o grupo controle. O grupo com maior latência para o aparecimento do comportamento convulsivo foi PBTI com $80,67 \pm 6,928$ segundos, que apresentou diferença estatística para os demais grupos, indicando que o processo de liberação lenta do fenobarbital teve influência sobre atuação para o comportamento de crises clônicas isoladas sem perda do reflexo de postura onde o grupo PBTI teve média de latência mais alta, o que diferenciou estatisticamente dos demais grupos (TABELA 3), corroborando com a informação supracitada.

FIGURA 1. Demonstrativo dos traçados electrocorticográficos (ECoG) e espectogramas, com duração de 30 minutos, após administração de PTZ. Registro electrocorticográfico basal (controle) (A), registro electrocorticográfico do controle positivo após aplicação de PTZ (B), Electrocorticograma dos animais que receberam quatro doses PBTI, com indução ao quadro convulsivo 12 horas após interrupção do tratamento (C), traçado electrocorticográfico do grupo PBTNI com indução ao quadro convulsivo 12 horas após interrupção do tratamento (D), Electrocorticograma do grupo PBTI com indução do quadro convulsivo 24 horas após a retirada do fenobarbital (E), registro do grupo PBTNI com indução do quadro convulsivo 24 horas após a retirada do fenobarbital (F), Registro do grupo PBTI com indução ao quadro convulsivo 36 horas após a retirada do fenobarbital (G) e Registro do grupo PBTNI com indução do quadro convulsivo 36 horas após a retirada do fenobarbital (H). (n=9)





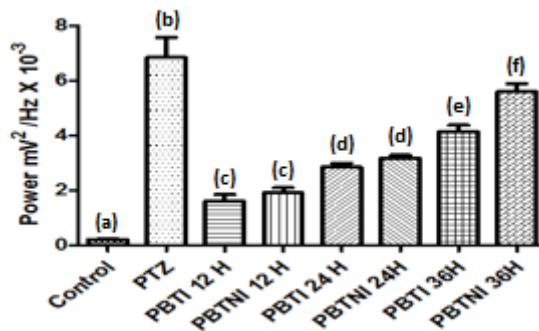
Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Para o aparecimento do comportamento de crises clônicas generalizada com perda Transitória do reflexo de postura não houve diferença estatística entre PBTI ($213,3 \pm 32,49$ segundos) e PBTNI ($211,6 \pm 39,47$ segundos), o que indica que o comportamento observado no estágio IV teve evolução semelhante para as duas formas de fenobarbital. Porém as duas

preparações de fenobarbital apresentaram diferença estatística para o grupo controle e PTZ (**TABELA 3**).

O comportamento de crises tônico-clônicas com perda do reflexo de postura que compõe o estágio V e representa o comportamento convulsivo de maior intensidade o grupo PBTI apresentou maior latência, apresentando diferença estatística para os outros grupos (**TABELA 3**), demonstrando que o processo de intercalação em argila para o fenobarbital melhora sua atuação na mesma dose administrada do fenobarbital não intercalado.

FIGURA 2: Potência dos registros após a retirada do PBTI e PBTNI nos períodos de 12, 24 e 36 horas. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9)



Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Os traçados electrocorticográficos dos controles possui como característica menor amplitude abaixo de 0,1 mV, no espectograma pode ser observado as frequências com maior intensidade de energia abaixo de 10 Hz (**FIGURA 1A**). A potência do registro basal apresentou média de $0,2116 \pm 0,08257$ mV²/ Hz x 10⁻³ (**FIGURA 2**). O grupo que recebeu o PTZ apresentou alterações electrocorticográficas compatíveis com quadro convulsivo com irregularidades e amplitude de registro que atingiu 0,7 mV, apresentando salva de potenciais característica e elevação do nível de energia nas frequências até 50 Hz observada no espectograma, correspondendo a uma mudança expressiva quando comparado ao controle (basal) (**FIGURA 1B**). O nível de potência do grupo que recebeu o PTZ apresentou maior elevação com média de $6,844 \pm 2,195$ mV²/ Hz x 10⁻³ demonstrando diferença estatística para o grupo controle (**FIGURA 2**).

O grupo que foi tratado com o fenobarbital intercalado (PBTI 12) e não intercalado (PBTNI 12) apresentaram características de traçado electrocorticográficos muito semelhantes após a indução das convulsões com PTZ 12 horas posterior a interrupção do tratamento com fenobarbital (**FIGURA 1 C e D**). A análise de potência entre os grupos demonstrou que o

PBTI 12 apresentou média $1,613 \pm 0,709$ mV²/ Hz x 10⁻³ e o grupo PBTNI 12 com média de $1,91 \pm 0,5688$ mV²/ Hz x 10⁻³ não apresentaram diferença estatística de acordo com os valores. Porém os grupos PBTI12 e PBTNI12 apresentaram diferença estatística em relação ao grupo controle e ao grupo PTZ (**FIGURA 2**).

Os grupos que receberam aplicação de PTZ 24 horas após a retirada do tratamento com fenobarbital intercalado (PBTI 24) apresentou o registro cortical com disparos abaixo de 0,5 mV e maiores intensidade de energia observado no espectograma abaixo dos 30 Hz (**FIGURA 1E**), quando relacionado a potência do registro apresentou média de $2,852 \pm 0,4075$ mV²/ Hz x 10⁻³. Para o grupo que recebeu o fenobarbital não intercalado PBTNI 24 foi observado semelhança no registro após a utilização do PTZ para a indução das convulsões (**FIGURA 1F**). O nível de potência observado durante o registro foi de $3,18 \pm 0,3058$ mV²/ Hz x 10⁻³. Desta forma quando comparados os grupos PBTI 24 e PBTNI 24 em relação a potência do registro não apresentaram diferenças estatística significativa. Da mesma forma não mantiveram diferença estatística para os grupos PBTI 12 e PBTNI 12, porém mantiveram diferenças estatística significativas para os grupos controle e PTZ.

Nos testes feitos após 36 horas da retirada do tratamento com o fenobarbital os grupos PBTI 36 e PBTNI 36 apresentaram maiores oscilações no traçado o que indica diminuição na quantidade de droga que protege contra as convulsões induzidas pelo PTZ (**FIGURA 1 G e H**). Para o grupo PBTI 36 a potência apresentou média de $4,144 \pm 0,7084$ mV²/ Hz x 10⁻³ que apresentou diferença estatística para o grupo PBTNI 36 que apresentou média de $5,594 \pm 0,8784$ mV²/ Hz x 10⁻³, demonstrando que o processo de liberação lenta do fenobarbital intercalado promoveu maior proteção para os animais testados. Este dado é relevante a partir da constatação que em relação à potência o grupo PBTNI36 não apresenta diferença estatística para o grupo PTZ.

TABELA 4: Atividade das enzimas hepáticas após a utilização de PBTI e PBTNI. Grupos marcados com letras diferentes possuem diferença estatística e grupos marcados com letras iguais não possuem diferenças estatísticas. (n=9).

| Enzimas Hepáticas | Controle | PBTI | PBTNI |
|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| AST (mg/dL) | 96,1 ($\pm 11,8$) ^a | 108,0 ($\pm 5,6$) ^a | 115,8 ($\pm 7,5$) ^b |
| ALT (mg/dL) | 53,00 ($\pm 13,0$) | 54,08 ($\pm 4,0$) | 58,56 ($\pm 5,6$) |

Fonte: Elaborado pelos autores do trabalho (2019)

Os testes para avaliação das enzimas hepáticas Aspartato aminotransferase (AST) e Alanina aminotransferase (ALT), indicam dano na membrana do hepatócito, devido ao aumento da permeabilidade. Houve aumento significativo da AST para o grupo PBTNI em relação ao controle que pode indicar dano hepático.

4 DISCUSSÃO

No centenário da descoberta das propriedades antiepilépticas do fenobarbital, temos mais de 20 drogas disponíveis para tratamento de epilepsia; contudo, nenhum fármaco mudou dramaticamente o prognóstico desta condição, em longo prazo. A cascata de eventos que desencadeia a epilepsia, provavelmente, varia muito de indivíduo para indivíduo. Uma vez que a epileptogênese seja melhor compreendida, o tratamento poderá ser direcionado aos seus mecanismos específicos e então poderemos dispor de tratamentos capazes de modificar a história natural da doença. Desta forma utilização de fenobarbital intercalado para liberação lenta pode ser observado como uma possibilidade de melhor controle do episódio epilético e menores efeitos colaterais. Após a comprovação da intercalação em HDL na proporção de 0,032g por grama de material, o que possibilitou o teste e comprovação comportamental e eletroencefalográfica.

A intercalação de espécies orgânicas em HDL tem recebido atenção às diversas aplicações possíveis para esses materiais híbridos orgânicos-inorgânicos. Os compostos intercalados em HDL sofrem processo de liberação sustentada, decorrente da dissolução da matriz lamelar em função do ataque ácido ou de uma reação de troca iônica no corpo (DEL HOYO, 2007). Adicionalmente, o confinamento de substâncias em estruturas lamelares pode aumentar seu tempo de ação no corpo de modo a manter as especificações, física, química, terapêutica e toxicológicas do princípio ativo do composto durante o período de armazenamento, além de promover a estabilidade da substância e direcionar os sistemas híbridos para alvos específicos (tecidos) e/ou regular sua liberação no organismo (KURA et al. 2014) Esses dados corroboram com os apresentados no trabalho pois o fenobarbital intercalado teve maior tempo de controle das convulsões induzidas por PTZ , quando comparado ao fenobarbital comercial.

Essas propriedades permitem que o HDL seja um dos materiais inorgânicos apontado como promissor para uso como suporte para o armazenamento e liberação sustentada de fenobarbital. As propriedades dos HDL também, permite intercala-los com trocadores iônicos, catalisadores, precursores ou suporte para catalisadores, adsorventes, na síntese de matérias cerâmicos avançados (CAVANI, TRIFIRO, VACCARI, 1991). O HDL pode ser utilizado

para liberação lenta de anti-inflamatórios não esteróidais, uma das drogas já utilizada é a metformina para o controle da glicemia em diabéticos (AMBROGI et al, 2001, 2003; BARAHUIE et al, 2014; TRONTO et al, 2001). O pentilenotetrazol (PTZ) é um componente convulsivo capaz de gerar tanto crises agudas, quanto crônicas (MUSSOLINI, 2013). Ela é uma das principais substâncias causadoras de convulsões que são utilizadas na escolha pré-clínica de novos fármacos anticonvulsivantes. A criação de barbitúricos no tratamento das crises convulsivas veio a partir de estudos com o PTZ (JÚNIOR et al, 2007). Desta forma, a utilização do modelo convulsivo do PTZ levou em consideração o tempo de ocorrência para o comportamento padronizado pelo grupo controle e a confirmação eletroencefalográfica do fenômeno subjacentes ao estado convulsivo e podemos demonstrar a eficácia do fenobarbital intercalado com HDL.

A intercalação de espécies orgânicas em HDL tem ganhado atenção expressiva devido às inúmeras aplicações viáveis para esses materiais híbridos orgânico-inorgânicos. Esses compostos também vêm sendo usado há algum tempo como excipientes farmacêuticos como é o caso da metformina de liberação lenta para tratamento de diabetes (CUNHA et al., 2010). Atualmente, atenta-se para um número cada vez maior de artigos científicos e de patentes que focam a intercalação de produtos biologicamente ativos em HDL, como uma tática para aumentar a estabilidade das substâncias, para aplicação em terapias modernas (CUNHA et al., 2010). No presente trabalho os HDL foram os materiais de escolha para serem intercalados ao fenobarbital, justamente em função de suas características inovadoras. O controle de doenças crônicas com menos oscilações nas concentrações plasmáticas pode favorecer o tratamento da epilepsia com fenobarbital intercalado.

O fenobarbital apresenta um histórico de mais de cem anos de uso clínico o que lhe proporciona um grau incomparável de conhecimento e segurança sobre sua eficácia e tolerabilidade (YANCUBIAN, CONTRERAS-CAICEDO, RÍOS-POHL, 1999; MEDEIROS, 2014). Dados todos esses fatores foi a droga anticonvulsivante usada nesse estudo.

O estudo sob análise revela que em relação traçados eletrocorticográficos (ECoG) e espectogramas, com duração de 30 minutos, após administração de PTZ, houve alterações estatísticas significativas entre o PBTI (**FIGURA 1G**) e PBTNI (**FIGURA 1H**) após 36 horas do uso das mesmas. Por meio desses traçados ficou claro que o PBTI oferece um maior tempo de proteção contra convulsões comparando-se ao PBTNI quando se leva em consideração um tempo mínimo de 36 horas após a indução da crise. Também é possível comprovar que ambas as composições obtiveram resultados satisfatórios em relação ao grupo basal representado no eletroencefalograma (**FIGURA 1A**).

As enzimas hepáticas ALT (Alanina aminotransferase) e AST (Aspartato aminotransferase) são utilizadas para avaliar a existência de dano hepático (BATISTA, 2016; MINCIS, 2006). Hoje sabe-se que a grande parte das drogas utilizadas para o tratamento da epilepsia podem induzir alguma alteração nos valores dessas enzimas, como o fenobarbital, ácido valpróico, fenitoína, felbamato, carbamazepina, entre outros. (MARANHÃO; GOMES; CARVALHO, 2011).

O fenobarbital é um antiepiléptico muito utilizado, porém com efeitos colaterais importantes, sendo a insuficiência hepática o mais grave deles, podendo ocorrer apenas aumento das enzimas hepáticas, ou até óbito, (ANTONIUK, 1996). A hepatotoxicidade induzida pelos antiepilépticos pode ocorrer tanto como parte de uma reação idiossincrásica generalizada, que ocorre em função do acúmulo de intermediários tóxicos produzidos durante a bioativação hepática ou como um evento isolado, sendo sua prevalência cerca de 9% entre os pacientes tratados com fenitoína, carbamazepina e fenobarbital. (OLIVEIRA, 2011)

O fenobarbital, a droga utilizada nesse estudo, também apresenta como efeitos colaterais comuns distúrbios hepatobiliares, como aumento da gama-glutamiltransferase, aumento das transaminases, aumento da fosfatase alcalina no sangue e até hepatite. Normalmente a hepatotoxicidade só se manifesta se a concentração sérica é mantida acima do limite máximo por períodos extensos. (BITTAR, 2018).

Nos resultados do presente estudo, a utilização de fenobarbital promoveu um aumento nos valores das transaminases hepáticas, corroborando os resultados encontrados em outros estudos realizados em animais. (BITTAR, 2018; TIPOLD, 2014).

A utilização de fenobarbital não intercalado e intercalado não aumentaram a enzima ALT, em relação ao grupo controle, havendo manutenção da enzima próximo aos padrões de normalidade. Porém, ao se analisar a enzima AST, a utilização do fenobarbital não intercalado induziu um aumento relevante de AST em comparação ao grupo controle, o que pode sugerir um certo comprometimento hepático. O fenobarbital intercalado não apresentou diferença para o grupo controle. Para este dado o fato de a droga ser liberada de forma lenta no organismo, evitando absorção rápida com aumento gradativo no sangue pode estar relacionado ao resultado encontrado. A liberação controlada provoca aumento na segurança da droga levando a menor indução enzimática, efeito colateral importante do fenobarbital (CUNHA et al, 2010).

5 CONCLUSÃO

Ficou demonstrado que o fenobarbital pode ser incluído em HDL e aumentar sua permanência no organismo podendo controlar melhor os quadros convulsivos.

O modelo experimental de convulsão induzido pelo PTZ, utilizando o PBTI e o PBTNI para o controle das crises convulsivas foi bem sucedido, tendo com isso alcançado o objetivo de demonstrar que existe um tempo maior de permanência no efeito anticonvulsivante do PBTI em relação ao PBTNI demonstrado através do comportamento e de registros eletroencefalográficos.

Ambas as drogas, PBTI e PBTNI, exercem proteção contra as crises convulsivas induzidas pelo PTZ, no entanto após 36 horas de uso o PBNT mostrou efeito mais eficaz pelo fato de o mesmo apresentar um maior tempo de permanência no organismo. Ambas as drogas, PBTI e PBTNI, provocam um certo aumento das enzimas hepáticas. O PTBNI, porém, provoca um aumento de AST consideravelmente maior que o PBTI durante o período de tratamento de 4 dias, diminuindo sua toxicidade hepática.

Este estudo oferece indícios para posteriores e maiores explicações sobre o uso do Fenobarbital intercalado para o controle das crises convulsivas e seus benefícios. Ter no mercado uma droga anticonvulsivante mais eficaz, o que poderá favorecer o tratamento de milhares de pessoas epiléticas proporcionando melhor qualidade de vida.

REFERÊNCIAS

ABEND, N. S. et al. Status epilepticus and refractory status epilepticus management. **Semin Pediatr Neurol**. 2014; 21(4):263-74. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.spen.2014.12.006>.

ABEND, N. S., LODDENKEMPER, T. Pediatric status epilepticus management. **Curr Opin Pediatr**. 2014; 26(6):668-74.doi: 10.1097/MOP.000000000000154.

ABEND, N. S., GUTIERREZ-COLINA, A. M., DLUGOS, D. J. Medical treatment of pediatric status epilepticus. **Semin Pediatr Neurol**. 2010; 17(3):169-75.

ABEND, N. S., et al. Anticonvulsant medications in the pediatric emergency room and intensive care unit. **Pediatric Emergency Care**. 2008; 24(10):705-18.

AGARWAL, M., FOX, S. M. Pediatric seizure res. **Emerg Med Clin North Am**. 2013; 31(3):733-54. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.emc.2013.04.001>.

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. **Febrile seizures**. 2015. Available from: <https://www.healthychildren.org/English/health-issues/conditions/head-neck-nervous-system/Pages/Febrile-Seizures.aspx>.

AMBROGI, V. et al. Intercalation compounds of hydrotalcite-like anionic clays with antiinflammatory agentes- I. Intercalation and in vitro release of ibuprofen. **International journal of pharmaceutics**. 2001.

AMBROGI, V. et al. Effect of hydrotalcite-like compounds on the aqueous solubility of some poorly water-soluble drugs. **Jornal of pharmaceutical Sciences**, 2003.

ANVISA. Fenobarbital Medicamento genérico, Lei nº 9.787, de 1999. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=9918512013&pIdAnexo=1877001. Acesso em: 08 out.2018.

ANTONIUK, S. A. et al. Insuficiência Aguda Hepática associada ao ácido valpróico na infância. **Arquivo Neuropsiquiátrico**, 1996, Curitiba-PR. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/anp/v54n4/15.pdf>. Acesso em: 28 jan.2019.

BATISTA, C. H. Indicadores de lesão e função hepática. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal. **Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016. p. 10. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2016/07/seminario_Chester.pdf. Acesso em: 28 jan.2019.

BASU, D. et al. Advances in layered double hydroxide (LDH)-based elastomer composites, **Progress in Polymer Science**, v.39, p.594–626, 2014.

BERKOVIC, S. F. et al. The epilepsies: specific syndromes or a neurobiological continuum? In: Wolf P. Epileptic seizures and syndromes. **London: John Libbey & Company Ltd.**; 1994. p.25-37.

BERKOVIC, S. F. et al. Concepts of absence epilepsies: discrete syndromes or biological continuum? **Neurology** 1987;37:993-1000.

BITTAR, G. F. et al. Avaliação laboratorial e nível sérico do fenobarbital administrado por diferentes vias em cão. **Acta Scientiae Veterinariae**. 2018. Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/download/84786/49801>. Acesso em: 28 jan.2019.

BLUMSTEIN, M. D., FRIEDMAN, M. J. Childhood seizures. **Emerg Med Clin North Am**. 2007; 25(4):1061-86.

BRAVO-SUÁREZ, J. J.; PÁEZ-MOZO, E. A.; OYAMA, S. T. Review of the synthesis of layered double hydroxides: a thermodynamic approach. **Quimica Nova**, v.27, No.4, p.601-614, 2004.

BRITO, A. R., VASCONCELOS, M. M., ALMEIDA, S. S. A. Convulsões. **Revista Ped. SOPERJ**, v. 17, supl. 1, p. 56-62, Rio de Janeiro, dez. 2017. Disponível em: http://revistadepediatriasoperj.org.br/Novo/revista/detalhe_artigo.asp?id=1036. Acesso em: 15 abr.2019.

BRITO, V. B. et al. Diphenyl diselenide and 2,3-dimercaptopropanol increase the PTZ-induced chemical seizure and mortality in mice. **Brain. Res Bull**. v. 68, p. 414-418. 2006.

BROPHY, G. M. et al. Guidelines for the evaluation and management of status epilepticus. **Neurocrit Care**. 2012; 17(1):3-23. CAPLAN, E. et al. Recognition and management of seizures in children in emergency departments. **Emerg Nurse**. 2016; 24(5):30-8. doi: 10.7748/en.2016.e1594.

BRUNO, A. N., **Efeitos de crises crônicas e agudas induzidas por pentilenotetrazol sobre a hidrólise de nucleotídeos púricos em soro de ratos adultos**. 2002. 89 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

CAPOVILLA, G. et al. Recommendations for the management of "febrile seizures": Ad hoc Task Force of LICE Guidelines Commission. **Epilepsia**. 2009; 50(suppl. 1):2-6. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01963.x.

CARVALHO, V. N., SOUSA, A. M. M. H. Conduta no primeiro episódio de crise convulsiva. **Jornal de Pediatria**, Vol. 78, Supl. 1, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jped/v78s1/v78n7a04.pdf>. Acesso em: 15 abr.2019.

CASELLA, E. B., MANGIA, C. M. F. Abordagem da crise convulsiva aguda e estado de mal epilético em crianças. **Jornal de Pediatria**, Vol. 75, Supl. 2, 1999. Disponível em: <http://www.saudedireta.com.br/docsupload/1340281502port.pdf>. Acesso em: 15 abr.2019.

CAVANI, F.; TRIFIRO, F.; VACCARI, A. Hydrotalcite-Type Anionic Clays: Preparation, Properties And Applications. **Catalysis Today**, vol. 1, pag. 173 – 301, 1991.

CHAU P. L. New insights into the molecular mechanisms of general anaesthetics. **J. Pharmacol.** v. 2 p. 288-307, 2010.

CHEN, S. et al. Studies on adsorption of phenol and 4-nitrophenol on MgAl-mixed oxide derived from MgAl-layered double hydroxide. **Separation and Purification Technology**, v.67, p.194–200, 2009.

CHOY, J. H. et al. Clay minerals and layered double hydroxides for novel biological applications. **Appl. Clay Sci.** 2007, v. 36, p. 122.

CORDA, M. C. et al. Decrease in GABAergic function inhibitors. **Pharmacol.** p 262: 792 – 800, 1992.

CORNEJO, J. et al. Interactions of pesticides with clays and layered double hydroxides: a review. **Clay Minerals**, v.43, p.155–175, 2008.

CREPALDI, E. L.; VALIM, J. B. Hidróxidos duplos lamelares: síntese, estrutura, propriedades e aplicações. **Química Nova**, V. 21, n. 3, p. 300-311,1998.

COMMISSION ON EPIDEMIOLOGY AND PROGNOSIS. International League Against Epilepsy. **Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. Epilepsia** 1993;34:592-6.

COZANITIS, D. A. One hundred years of barbiturates and their saint. **J R Soc Med.** v. 12 p. 594-598, 2004.

CUNHA, V. R. R.; FERREIRA, A. M. C.; CONSTANTINO, V. R. L. Hidróxidos duplos lamelares: nanopartículas inorgânicas para armazenamento e liberação de espécies de interesse biológico e terapêutico. **Química Nova**, V. 33, n. 1, p.159-171, 2010.

DEL HOYO, C. Layered double hydroxides and human health: An overview. **Appl. Clay Sci.** 2007, v. 36, p. 103.

DEVENYI, P.; WILSON, M. Barbiturate abuse and addiction and their relationship to alcohol and alcoholism. **J. Can Med Assoc.** v. 6, p. 215-218, 1971.

DULAC, O.; LEPPIK, I. E. Initiating and discontinuing treatment. In: Engel Jr. J & Pedley TA, editores. *Epilepsy: a comprehensive textbook*. 1ª ed. **New York: Lippincott-Raven Publishers**; 1997. p.1237-46.

EXTREMERA, R. et al. Removal of acid orange 10 by calcined Mg/Al layered double hydroxides from water and recovery of the adsorbed dye. **Chemical Engineering Journal**, v.213, p.392– 400, 2012.

FALCO-WALTER, J. J; BLECK, T. Epilepticus. **J Clin Med.** v.5, p.25, 2016.

FAVANO, A. et al. BPR- Guia de Remédios. 10 ed. BPR- Consultoria, Projetos e Comércio Ltda., 2011, p.405.

FETVEIT, A. Assessment of febrile seizures in children. **Eur J Pediatr.** 2008; 167(1):17-27. doi: 10.1007/s00431-007-0577-x.

FISCHER, R. S. et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Epilepsia.** 2017; 58(4):531-42. doi: 10.1111/epi.13671.

FREILICH, E. R., ZELLEKE, T., GAILLARD, W. D. Identification and evaluation of the child in status epilepticus. **Semin Pediatr Neurol.** 2010; 17(3):144-9.

GAO, X. et al. In vitro controlled release of vitamin C from Ca/Al layered double hydroxide drug delivery system. **Materials Science and Engineering C**, v.39, p.56–60, 2014.

GASSER, M. S. Inorganic layered double hydroxides as ascorbic acid (vitamin C) delivery system-Intercalation and their controlled release properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 73, n. 1, p. 103-109, 2009.

GOODMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

GUARAGNA, J. B. A. et al. **Manejo das crises convulsivas na emergência pediátrica**. 2018. Disponível em: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/04/883018/40-crisis-convulsivas.pdf>. Acesso em: 15 abr.2019.

GUERREIRO, C. A. M. História do Surgimento e Desenvolvimento das Drogas Antiepilépticas. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology, (S. L.)**, v. 12, n.1, p. 18-21, Dez. 2006.

GUPTA, A. Febrile seizures. **Continuum (Minneapolis, Minn)**. 2016; 22(1 Epilepsy):51-9.

HADDAD, S. H.; ARABI, Y. M. Critical care management of severe traumatic brain injury in adults. **J Scand Trauma Resusc Emerg Med**. v. 20, p. 12, 2012.

HAMOY, Moisés. **Caracterização comportamental e eletroencefalográfica das convulsões induzidas pelo cunaniol e acetato de cunaniol extraídos das folhas de *Clibadium sylvestre*, um modelo de convulsão generalizada experimental em ratos (Wistar)**. 2011. 148 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém, 2011. Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular.

HAMPERS, L. C.; SPINA, L. A. Evaluation and management of pediatric febrile seizures in the emergency department. **Emerg Med Clin N Am**. 2011; 29(1):83-93. doi: 10.1016/j.emc.2010.08.008.

HOCKER, S.; CLARK, S.; BRITTON, J. Parenteral phenobarbital in status epilepticus revisited: Mayo Clinic experience. **Epilepsia**. v. 2, p.193-197, 2018.

ICHIKURA, K.; OKUMURA, Y.; TAKEUCHI, T. Associations of Adverse Clinical Course and Ingested Substances among Patients with Deliberate Drug Poisoning: A Cohort Study from an Intensive Care Unit in Japan. **PLoS ONE**. v. 8, 2016.

JÚNIOR, L. J. Q. et al. Modelos animais para avaliação de drogas anticonvulsivantes: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmacologia, (S.L.)**, v. 88, n.4, p. 163-66, Mar. 2007.

KANKALA, R. K. et al. Multi-laminated metal hydroxide nanocontainers for oral specific delivery for bioavailability improvement and treatment of inflammatory paw edema in mice. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 458, p. 217-228, 2015.

KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 13 ed. Porto Alegre: AMGH, 2017, 1216 p.

KHAIR, A. M., ELMAGRABI, D. Febrile seizures and febrile seizure syndromes: an updated overview of old and current knowledge. **Neurology Research International**. 2015; article ID 849341:7 pages. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/849341>.

KHAN, R. et al. Low-temperature synthesis of ZnO quantum dots for photocatalytic degradation of methyl orange dye under UV irradiation. **Ceramics International**, V. 40, Issue 9, Part B, p. 14827-14831, 2014b.

KURA, A. U. et al. Layered double hydroxide nanocomposite for drug delivery systems; bio-distribution, toxicity and drug activity enhancement. **Chemistry Central Journal**, v. 8. N. 1, p 47, 2014.

KUWAHARA, Y. et al. Waste-Slag Hydrocalumite and Derivatives as Heterogeneous Base Catalysts. **Chemistry & Sustainability Energy & Materials**, p.1 – 11, 2012.

LAWTON, B., DEUBLE, N. Seizures in the paediatric emergency department. **J Paediatr Child Health**. 2016; 52(2):147-50. doi: 10.1111/jpc.12979.

LEWIS, C. B.; ADAMS, N. Phenobarbital. **StatPearls**. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532277/>. Acesso em 14 abr.2019.

LI, J. et al. Enhancing medical compliance of patients with convulsive epilepsy in rural community: A randomized intervention trial. **PubMed**. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24117425>. Acesso em 17 de abril de 2019.

LIANG, X. et al. Sorption of metal cations on layered double hydroxides. **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Engineering Aspects**, v.433, p.122-131, 2013.

LÖSCHER W.; ROGAWSKI M. A. How theories evolved concerning the mechanism of action of barbiturates. **PubMed**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23205959>. Acesso em: 22 abr.2019.

MADEJA, M. et al. Mechanism of action of epileptogenic drug pentylenetetrazol on a cloned neuronal potassium channel, **Brain** v. 722 p. 59-70, 1996.

MARANHÃO, M. V. M.; GOMES, E. A.; CARVALHO, P. E. Epilepsia e Anestesia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, vol. 61, n. 2, Campinas, mar./apr. 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-70942011000200013. Acesso em: 08 out.2018.

MENG, Z et al. Structure, molecular simulation, and release of a spirin from intercalated Zn–Al-layered double hydroxides. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 135, p. 339-345, 2015.

MEDEIROS, P. A. D. **Estudo clínico- laboratorial do uso do fenobarbital como anticonvulsivantes entre pacientes do Hospital Universitário Alcides Carneiro (HUAC)**. 2014. 85 f. Dissertação (Mestrado em saúde pública)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

MILAGRES, J. L. **Preparo e avaliação do hidróxido duplo lamelar de cálcio e alumínio na remoção de cobre(II), níquel(II), zinco(II) e cromo(VI) de solução aquosa**. Dissertação de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7625/texto%20completo.pdf?sequence=1>. Acesso em: 16 abr.2016.

MILLS, S. J. et al. Nomenclature of the hydrotalcite supergroup: natural layered double hydroxides. **Mineralogical Magazine**, v.76, No.5, p.1289–1336, 2012.

MILLS, S. J. et al. Contribution to the crystallography of hydrotalcites the crystal structures of woodallite and takovite. **Journal of Geosciences**, v.58, p.273-279, 2012.

MINCIS, M.; MINCIS, R. **Enzimas hepáticas: aspectos de interesse prático**. Prática Clínica. Grupo Editorial Moereira Jr, JAN/2006. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3250. Acesso em: 28 jan.2019.

MINCIS, M.; MINCIS, R. **Esteatose e esteato-hepatite não alcoólicas**. Prática Clínica. Grupo Editorial Moereira Jr, ABR/2006. Disponível em: http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3467. Acesso em: 28 jan.2019.

MIRANDA, L. D. L. et al. Preparation and evaluation of hydrotalcite-iron oxide magnetic organocomposite intercalated with surfactants for cationic methylene blue dye removal. **Chemical Engineering Journal**, v.254, p.88–97, 2014.

MUSSOLINI, B. H. M. **Caracterização comportamental do modelo de convulsões induzidas por pentilenotetrazol em zebrafish adulto**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

NAKAYAMA, H. Induration at Injection or Infusion Site May Reduce Bioavailability of Parenteral Phenobarbital Administration. **PubMed**. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28328763>. Acesso em: 22 abr.2019.

NOLAN, J. et al. Phenobarbitone versus phenytoin monotherapy for partial onset seizures and generalised onset tonicclonic seizures. **Cochrane Database of Systematic Reviews** [Internet]. 2013; (1). Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD002217.pub2/abstract>.

OLIVEIRA, A. C. F. et al. Hepatotoxicidade e Síndrome DRESS induzida por anticonvulsivantes - Relato de dois casos e revisão da literatura. **GED gastroenterol. endosc.dig**. 2011. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0101-7772/2011/v30n4/a3601.pdf>. Acesso em: 29 jan.2019.

OLIVEIRA, E. P., **Estudo crítico dos modelos experimentais em epilepsia espontânea do tipo ausência**. 2010. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Programa de Fisiopatologia Experimental) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

OLIVEIRA, M. C. B., et al. Caracterizações do fenobarbital: uma breve revisão de literatura sobre seus efeitos. **Revista Saúde em Foco**. 10 ed. pag. 920 – 927, 2018.

OLSON, R.W. The GABA postsynaptic membrane receptor-ionophore complex. Site of action convulsant and anticonvulsant drugs. v. 39 p. 261-279, 1981.

OLUWABUSI, T., SOOD, S. K. Update on the management of simple febrile seizures: emphasis on minimal intervention. **Curr Opin Pediatr**. 2012; 24(2):259-65. doi: 10.1097/MOP.0b013e3283506765.

OGA, S. et al. **Fundamentos de Toxicologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo, 2008. p. 375-387.

PACIFICI, G. M. Clinical Pharmacology of Phenobarbital in Neonates: Effects, Metabolism and Pharmacokinetics. **Current Pediatric Reviews**. vol. 12. n. 1, pag. 48 -54, 2016.

PARIDA, K. M.; SAHOO, M.; SINGHA, S. Synthesis and characterization of a Fe(III)-Schiff base complex in a Zn-Al LDH host for cyclohexane oxidation. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, V. 329, ed.1-2, p. 7-12, 2010.

PICON, P. X., MAROSTICA, P. J., BARROS, E. **Pediatria consulta rápida**. Porto Alegre: Artmed; 2010.

PIVA, J. P., GARCIA, P. C. **Medicina Intensiva em pediatria**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2015.

PLANK, J.; DAI, Z.; ANDRES, P. R. reparation and characterization of new Ca– Al– polycarboxylate layered double hydroxides. **Materials Letters**, v.60, p.3614–3617, 2006.

PORTELA, J. L., PIVA, J. P. Midazolam versus diazepam para tratamento de estado de mal epilético em emergência pediátrica. **Sci Med**. 2011;21(4):184-90.

RAMANJANEYULU, R.; TICKU, M. K. Interactions 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.

RIVES, V.; del ARCO, M.; MARTIN, C. ntercalation of drugs in layered double hydroxides and their controlled release: A review. **Applied Clay Science**, v.88– 89, p.239–269, 2014.

ROBERTS, I. Sydenham E. Barbiturates for acute traumatic brain injury. **Rev. Cochrane Database Syst** v. 12, 2012.

SABERS, A. Pharmacokinetic interactions between contraceptives and antiepileptic drugs. Seizure. **PubMed**. 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18206393>. Acesso em: 22 abr.2019.

SACHDEVA, A.; CHOUDHARY, M.; CHANDRA, M.; Alcohol Withdrawal Syndrome: Benzodiazepines and Beyond. **J Clin Diagn** v. 9, 2015.

SCHACHTER, S. C. Antiseizure drugs: Mechanism of action, pharmacology, and adverse effects. **UpToDate**. 2018. Disponível em: <http://www.uptodate.com/online>. Acesso em 07 de out. 2018.

SANOFI. Gardenal, Responsável técnica Silvia Regina Brollo. Suzano – SP: **Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda**.

SANTOS, R. M. M. **Materiais derivados de hidróxidos duplos lamelares: síntese, caracterização e aplicação em adsorção e processos avançados de oxidação**. Dissertação de Mestrado de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/132959/santos_rmm_me_araiq_int.pdf?sequence=5. Acesso em: 15 abr.2019.

SANVICENS, N.; MARCO, M. P. Multifunctional nanoparticles – properties and prospects for their use in human medicine. **Trends. Biotechnol**. 2008, v. 26, p. 425. SASIDARAN, K.,

SAYER W. J. Hazards of barbiturates in the treatment of asthma, bronchitis, and obstructive pulmonary disease. **J. Med. West**. v. 6, p. 492,1975.

SKIBISKI, J.; ABDIJADID, S. Barbiturates. **StatPearls**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539731/#article-18133.s1>. Acesso em 14 abr. 2019.

SINGHI, S., SINGHI, P. Management of acute seizure and status epilepticus in pediatric emergency. **Indian J Pediatr.** 2012; 79(4):510-7. doi:10.1007/s12098-011-0604-9.

SILVA, V. et al. Hidróxidos duplos lamelares como matrizes para fertilizantes de liberação lenta de nitrato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, V. 38, p. 272-277, 2014.

SILVA, L. H. H. L. et al. Educação em saúde sobre crise convulsiva: relato de experiência. **XXII Enfermaio. II Mostra do internato em enfermagem.** UECE, Ceará, 2018. Disponível em: http://www.uece.br/eventos/enfermaio/anais/trabalhos_completos/405-39653-23042018-121350.pdf. Acesso em: 15 abr.2019.

SILVERIO, F. et al. Sorption of aspartic and glutamic aminoacids on calcined hydrotalcite. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, 2013. doi:10.1186/2193-1801-2-211.

SOKOLOVA, V.; EPPLE, M. Inorganic Nanoparticles as Carriers of Nucleic Acids into Cells. **Angew. Chem., Int. Ed.** 2008, v. 47, p. 1382.

SOUSA, P. V. S. **Preparo e avaliação do hidróxido duplo lamelar MgZnAl-Fe calcinado no processo de adsorção - fotodegradação do corante alaranjado de metila.** Dissertação de PósGraduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/7625/texto%20completo.pdf?sequence=1>. Acesso em: 15 abr.2019.

SU, Y. Phenobarbital Versus Valproate for Generalized Convulsive Status Epilepticus in Adults: A Prospective Randomized Controlled Trial in China. **CNS Drugs.** v. 12 p. 1201-1207, 2016.

SUBCOMMITTEE ON FEBRILE SEIZURES. American Academy of Pediatrics. **Neurodiagnostic evaluation of the child with a simple febrile seizure.** Pediatrics. 2011 Feb;127(2):389-94.

SUDDOCK, J. T.; CAIN, M. D. Barbiturate Toxicity. StatPearls. **PubMed.** 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29763050>. Acesso em 17 abr.2019.

THEISS, F. L. et al. A review of the removal of anions and oxyanions of the halogen elements from aqueous solution by layered double hydroxides. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.417, p.356–368, 2014.

THYVEETIL, M. A. et al. Computer simulation study of the structural stability and materials properties of DNA-intercalated layered double hydroxides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, n. 14, p. 4742-4756, 2008.

TIPOLD, A. et al. Clinical efficacy and safety of imepitoin in comparison with phenobarbital for the control of idiopathic epilepsy in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic.** 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvp.12151>. Acesso em: 28 jan.2019.

TOLEDO, T. V.; BELLATO, C. R.; do ROSÁRIO, R. H.; MARQUES NETO, J. O. Adsorção de arsênio(V) pelo compósito magnético hidrotalcita - óxido de ferro. **Química Nova**, v.34, No.4, p.561-567, 2011.

TRURMAN, D. J. et al. ILAE Commission on Epidemiology. Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. **Epilepsia**; 52 Suppl 7:pg. 226, 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. TELESSAÚDERS. **Resumo Clínico - Crise epiléptica e epilepsia**. Porto Alegre, 2016. Disponível em: https://www.ufrgs.br/telessauders/documentos/protocolos_resumos/neurologia_resumo_crise_epileptica_epilepsia_TSRS.pdf. Acesso em: 07 out.2018.

VALENTE, J. S. et al. Calcined layered double hydroxides Mg–Me–Al (Me: Cu, Fe, Ni, Zn) as bifunctional catalysts. **Catalysis Today**, V. 150, Issues 3–4, p. 340-345, 2010.

XU, Z. P. et al. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. **Chem. Eng. Sci.** 2006, v. 61, p. 1027.

WILENSKY, A. J. et al. Kinetics of phenobarbital in normal subjects and epileptic patients. **Eur. J. Clin. Pharmacol.** v.23 p. 87-92, 1982.

WILEY, J.; SONS Neonatal Formulary. 6 ed., **West Sussex: Limited European**. 2012.

YANCUBIAN, E. M. T; CONTRERAS-CAIDEDO, G; RÍOS-POHL. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo, Lemos, 1999. 254 p.

YOUNG, T. E.; MANGUM B.; NEOFA X. **A Manual of Drugs used in neonatal care**. CNS Drugs. Ed. Thomson Reuters, 2010.

ANEXO A – FOLHA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



UFPA
Universidade Federal do Pará

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Utilização pré-clínica do fenobarbital intercalado para o controle de quadros convulsivos e epilepsia.", protocolada sob o CEUA nº 3953260717 (ID 000696), sob a responsabilidade de **Moisés Hamoy - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino** - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA) na reunião de 18/01/2018.

We certify that the proposal "Preclinical use of intercalated phenobarbital for the control of seizures and epilepsy.", utilizing 90 Heterogenics rats (90 males), protocol number **CEUA 3953260717 (ID 000696)**, under the responsibility of **Moisés Hamoy - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings)**, for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was approved by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Para (CEUA/UFPA) in the meeting of 01/18/2018.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 09/2017 a 09/2019 Área: Instituto de Ciências Biológicas

Origem: Laboratório de Farmacologia e toxicologia de produtos naturais

Espécie: Ratos heterogênicos

sexo: Machos

idade: 4 a 5 meses

N: 90

Linhagem: Wistar

Peso: 260 a 320 g

Local do experimento: Laboratório de Farmacologia e toxicologia de Produtos naturais

Belém, 16 de agosto de 2018

M^a Vivina B. Monteiro

Profa. Dra. Maria Vivina Barros Monteiro

Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará

Vanessa Joia de Mello

Profa. Dra. Vanessa Joia de Mello

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal do Pará