

Sistemas de Neurotransmissão Envolvidos no Modelo de Epilepsia: Uma Revisão de Literatura

Neurotransmitter Systems Involved in Epilepsy Model: A Literature Review

Rivelilson Mendes de Freitas¹

RESUMO

Introdução. Os modelos de epilepsia do lobo temporal semelhante a de humanos podem ser utilizados para estudar as mudanças neuroquímicas relatadas durante o desenvolvimento, e na propagação e/ou manutenção das convulsões, e também pode ser útil para caracterizar prontamente os mecanismos fisiopatológicos da epilepsia. **Objetivo.** O objetivo deste trabalho foi levantar dados na literatura sobre os sistemas de neurotransmissão envolvidos nas convulsões induzidas por pilocarpina. **Método.** Foi realizada uma revisão literária através do MEDLINE e PUBMED utilizando-se as seguintes palavras-chave: pilocarpine, neurotransmitter systems, psychotropic drugs, monoamines e amino acids. **Resultados.** Foram selecionados artigos publicados entre 1973 e 2009, que relacionavam pilocarpina e sistemas de neurotransmissão com convulsões em modelos experimentais. **Conclusão.** A literatura registra a participação de diferentes sistemas de neurotransmissão nas convulsões induzidas pela pilocarpina, no entanto, ainda é necessário a investigação das alterações nestes para o pronto esclarecimento da fisiopatologia das convulsões límbicas.

Unitermos. Pilocarpina, Convulsões, Neurotransmissores, Psicofármacos, Monoaminas, Aminoácidos.

Citação. Freitas RM. Sistemas de Neurotransmissão Envolvidos no Modelo de Epilepsia: Uma Revisão de Literatura.

ABSTRACT

Introduction. The model of temporal lobe epilepsy similar to humans can be used to study the neurochemical changes reported during the development and spread and/or maintenance of convulsions, and can also be useful to quickly characterize the mechanisms involved in epilepsy. **Objective.** The objective was to raise data in the literature on the systems of neurotransmission involved in seizures induced by pilocarpine. **Method.** A review was conducted through MEDLINE and literary PUBMED using the following keywords: pilocarpine, neurotransmitter systems, psychotropic drugs, monoamines and amino acids. **Results.** We selected articles published between 1973 and 2009, that pilocarpine and related systems with convulsions neurotransmission in experimental models. **Conclusion.** The literature show different systems involved in neurotransmission of pilocarpine convulsions, although, it is necessary new investigations to clarify the pathophysiology of the limbic convulsions.

Keywords. Pilocarpine, Convulsions, Neurotransmitters, Psychotropics, Monoamines, Amino Acids.

Citation. Freitas RM. Neurotransmitter Systems Involved in Epilepsy Model: A Literature Review.

Endereço para correspondência:

Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
Centro de Ciências da Saúde
Campus Ministro Petrônio Portela
CEP 64049-550, Teresina-PI, Brasil.
E-mail: rivelilson@pq.cnpq.br

Trabalho realizado no Laboratório de Pesquisa em Neuroquímica Experimental do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Teresina-PI, Brasil.

1. Farmacêutico, Doutor em Farmacologia, Professor Adjunto do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Piauí – UFPI, Teresina-PI, Brasil.

Revisão

Recebido em: 02/03/09

Aceito em: 02/02/10

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

Os sistemas de neurotransmissão envolvidos no modelo experimental de epilepsia induzido pela pilocarpina, ainda não estão completamente definidos. Os diferentes modelos de convulsão em animais são bastante utilizados para estudar a fisiopatologia do processo convulsivo, uma vez que reproduz alterações comportamentais, eletroencefalográficas e neuroquímicas que são semelhantes à epilepsia do lobo temporal em humanos¹. O modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina é utilizado para estudar o envolvimento dos diferentes sistemas de neurotransmissores como moduladores da epileptogênese, e ainda permite investigar as alterações comportamentais, histopatológicas, e outros parâmetros neuroquímicos relacionados com a atividade epiléptica^{2,3}.

No modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina, pode-se observar perda neuronal de algumas áreas cerebrais, a saber: hipocampo, corpo estriado, amígdala, córtex piriforme, córtex entorrinal, área septal, tálamo e substância nigra, sugerindo o envolvimento dessas diferentes áreas durante o estabelecimento do processo epiléptico^{4,5}. Entre as áreas em que ocorre dano neuronal, o estriado e o córtex fronto-parietal, podem estar relacionadas de forma importante com os mecanismos de neurotransmissão de propagação e/ou manutenção (epileptogênese) das convulsões límbicas⁶.

Em geral, as convulsões induzidas pela pilocarpina parecem depender da ativação do receptor muscarínico, da alteração da atividade enzimática de sistemas antioxidantes⁷, do metabolismo dos fosfolipídios⁶, como também da participação de outros sistemas de neurotransmissão: noradrenérgico⁸, dopaminérgico⁹, serotoninérgico¹⁰, GABAérgico¹¹ e glutamatérgico¹².

A epilepsia do lobo temporal é a forma mais comum de epilepsia. É caracterizada por convulsões recorrentes espontâneas que são, muitas vezes, bloqueadas por tratamentos com drogas antiepilépticas, e pode estar associada à esclerose do hipocampo¹³. As convulsões podem ser caracterizadas como manifesta-

ções clínicas resultantes de descargas neuronais anormais, produzindo uma superexcitação dos neurônios, podendo ocorrer também através da quebra do equilíbrio entre os mecanismos de neurotransmissão inibitórios e excitatórios¹⁴. Os mecanismos de ativação, propagação e manutenção da convulsão são amplamente estudados e pouco conhecidos. Muitos estudos foram e ainda estão sendo realizados utilizando o modelo de pilocarpina, no intuito de esclarecer os mecanismos cerebrais e o papel destes sistemas moduladores das convulsões¹⁵⁻¹⁸.

Os efeitos em longo prazo da epilepsia através da administração da pilocarpina foram caracterizadas em três fases distintas. A primeira fase ou período agudo, tem de 1 a 2 dias de duração e corresponde ao modelo de convulsões límbicas repetidas e do estado de mal epiléptico; a segunda fase, ou período silencioso, é caracterizado pelo progressivo retorno ao EEG e comportamento normal sem convulsão, compreendendo cerca de 4 a 44 dias, com uma média de 15 dias de duração nos animais. Por fim, a terceira fase identificada corresponde ao período das convulsões recorrentes espontâneas. Essa fase começa entre 5 e 45 dias depois da administração da pilocarpina e permanece durante toda a vida do animal².

O objetivo do trabalho foi levantar os dados na literatura pertinentes ao modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina sobre os sistemas de neurotransmissão envolvidos nas convulsões límbicas induzidas pela pilocarpina, dando ênfase as alterações e a ação de drogas psicotrópicas na neurotransmissão inibitória e excitatória que participam da gênese destas convulsões.

MÉTODO

Foi realizada uma revisão de literatura através do MEDLINE e PUBMED, utilizando-se as seguintes palavras-chave: pilocarpina, convulsões, sistemas de neurotransmissão, drogas psicotrópicas, monoaminas e aminoácidos. Foram selecionados artigos publicados entre 1973 e 2009, que relacionavam pilocarpina com convulsões em modelos experimentais de epilepsia.

Sistemas de neurotransmissão e o seu envolvimento no modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina

Os sistemas de neurotransmissão envolvidos com a ativação, propagação e/ou manutenção das convulsões límbicas induzidas pela pilocarpina são complexos, e diversas vias de neurotransmissão inibitórias e excitatórias cerebral estão implicadas^{10,11}, inclusive receptores inibitórios GABAérgicos e glutamatérgicos excitatórios no hipocampo, corpo estriado e córtex frontal de ratos adultos¹⁹. Drogas que atuam no sistema nervoso central têm demonstrado a capacidade de modular as convulsões atenuando e/ou potencializando o estado epiléptico induzido pela pilocarpina.

Neurotransmissão colinérgica e o processo convulsivo induzido pela pilocarpina

A neurotransmissão colinérgica parece estar implicada na instalação das crises convulsivas induzidas pela pilocarpina. Foi demonstrado que a administração periférica de altas doses de agonistas colinérgicos muscarínicos produz convulsões em roedores^{3,20}. O início das convulsões pode ser bloqueado pela atropina e atenuado pela inibição da atividade colinérgica endógena^{3,21}.

O processo convulsivo decorrente do tratamento com pilocarpina, em doses convulsivas, parece depender da ativação dos receptores muscarínicos, podendo envolver o metabolismo dos fosfoinositídeos e é capaz de produzir lesões cerebrais e alterações comportamentais⁶. A pilocarpina também altera os níveis do neurotransmissor colinérgico e pode produzir alterações em outros sistemas de neurotransmissores [noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (5-HT), glutamato e ácido γ -amino-butírico (GABA)], embora pouco se saiba sobre estas alterações.

As primeiras hipóteses atribuíam as propriedades convulsivas da pilocarpina em roedor e subsequente desenvolvimento do estado epiléptico, acompanhado por lesão cerebral que são semelhantes, em muitos aspectos, às lesões observadas em cérebro de pacientes epilépticos²⁰. Esses efeitos foram atribuídos à estimulação do sistema colinérgico, principalmente dos recep-

tores do subtipo M_1 ⁶.

A atropina, uma droga antagonista dos receptores M_1 , bloqueia o aparecimento dos sinais colinérgicos periféricos, os movimentos estereotipados e os tremores observados nas convulsões induzidas pela pilocarpina, bem como impede o desenvolvimento das convulsões e bloqueia a progressão destas para o estado epiléptico^{6,22}.

O carbonato de lítio é a droga de escolha para estabilizar o humor durante o tratamento do distúrbio bipolar²³. Embora o lítio influencie vários aspectos da neuroquímica cerebral, o mecanismo que fundamenta suas propriedades terapêuticas e efeitos colaterais, permanece, até então, indefinido. O lítio exerce ação modulatória sobre a atividade colinérgica²³, e quando associado com a pilocarpina induz a instalação de convulsões que evoluem para o estado epiléptico em ratos²⁴.

O pré-tratamento com lítio potencializa a atividade convulsiva de agentes colinérgicos⁴, e em doses baixas e não tóxicas, diminui o limiar das convulsões provocadas pela pilocarpina²⁵, produzindo um aumento do número de animais que convulsionam, reduzindo a latência para a instalação da primeira convulsão (LPC) e a latência para o desenvolvimento do estado epiléptico (LEP)⁵.

Nem o lítio, nem a pilocarpina em baixas doses, quando administrados sozinhos, provocam convulsões. Estes achados estão em concordância com os de Jope et al.(1986)²³, no estudo da caracterização do estado epiléptico induzido pela associação lítio-pilocarpina. Porém, o tratamento crônico com lítio durante 7 dias induz o estado epiléptico em animais²¹. Esses resultados comprovam a interação entre o lítio e a pilocarpina, uma vez que os dois isolados não provocam convulsões, mas quando é feita a associação lítio-pilocarpina o processo convulsivo é desencadeado pela estimulação do sistema colinérgico muscarínico.

A literatura sugere que o levetiracetam produz um aumento no tempo de instalação da primeira convulsão e reduz a taxa de mortalidade dos animais durante as crises convulsivas. Esses efeitos podem ser decorrentes do aumento da densidade máxima dos re-

ceptores colinérgicos muscarínicos do subtipo M2 verificado no hipocampo de camundongos pré-tratados com levetiracetam durante as convulsões induzidas pela pilocarpina²⁶.

Confirmando o envolvimento do sistema colinérgico durante a instalação das convulsões límbicas, foi verificado um número reduzido de transportadores vesiculares de acetilcolina em animais que apresentam maior susceptibilidade ao estado epiléptico induzido pela pilocarpina²⁷.

Neurotransmissão noradrenérgica e o processo convulsivo induzido pela pilocarpina

A neurotransmissão noradrenérgica parece estar relacionada à gênese das convulsões induzidas pela pilocarpina. Estudos demonstram que a pilocarpina reduz os níveis de noradrenalina no *locus ceruleus*²⁸. Os efeitos da pilocarpina sobre o sistema noradrenérgico hipocampal são semelhantes independente da fase da convulsão estudada. No modelo de epilepsia induzido por pilocarpina, foi verificada uma diminuição nos níveis de noradrenalina durante as fases aguda, silenciosa e crônica¹⁰.

Por meio do estudo da expressão das convulsões motoras, foi visto que a concentração da noradrenalina no *locus ceruleus* está reduzida durante a fase aguda das convulsões²⁸. Foi verificado também, o efeito da pilocarpina sobre esse neurotransmissor em animais não convulsivos e verificado uma redução no nível da noradrenalina durante essa fase. Outro estudo mostrou que há uma diminuição na concentração e um aumento da taxa de metabolização da noradrenalina, sugerindo que a liberação de noradrenalina no hipocampo pode estar diminuída durante o estado epiléptico e o período crônico das convulsões induzidas pela pilocarpina⁸. Durante o período silencioso e após a convulsão parcial foi verificada somente uma redução na concentração da noradrenalina, não sendo visto nenhuma alteração na taxa de metabolização⁸.

A revisão de literatura sugere efeitos contrários aos verificados no *locus ceruleus*, portanto, durante as convulsões e estado epiléptico, as alterações nos ní-

veis dos neurotransmissores nas áreas cerebrais podem ocorrer de forma diferente²⁸. As diferenças observadas no efeito da pilocarpina sobre os níveis de noradrenalina podem ser explicadas pelas características particulares das inervações do sistema noradrenérgico em cada uma de suas regiões²⁸. Com relação à neurotransmissão noradrenérgica, resolvemos testar a ação da metilnoradrenalina, uma droga agonista do receptor adrenérgico α_2 , esta droga reduziu o número de animais que convulsionam e que apresentam estado epiléptico. Acreditamos, assim, que a metilnoradrenalina através da estimulação do receptor noradrenérgico α_2 , produz um aumento na redução da liberação das terminações nervosas noradrenérgicas e colinérgicas durante as convulsões induzidas pela pilocarpina. Outro estudo, mostrou que o bloqueio dos receptor adrenérgico α_1 protege os animais contra o dano neuronal induzido pelas crises epiléticas²⁹.

Confirmando esta estreita relação entre sistema noradrenérgico e convulsão, também foi observada previamente uma concentração diminuída de noradrenalina no hipocampo e no córtex frontal de animais após convulsões e estado epiléptico induzidos pela pilocarpina¹⁹.

Neurotransmissão dopaminérgica e o processo convulsivo induzido pela pilocarpina

A neurotransmissão dopaminérgica parece estar bem implicada na propagação e manutenção das crises convulsivas induzidas pela pilocarpina. A pilocarpina em altas doses, afeta a taxa de metabolização das monoaminas sugerindo um importante papel desses neurotransmissores nas convulsões⁸. Os efeitos da pilocarpina sobre o sistema dopaminérgico são opostos de acordo com o tipo de receptor³⁰, os receptores D₁ e D₂ medeiam efeitos pró-convulsivantes e anticonvulsivantes em ratos tratados com pilocarpina, respectivamente³¹⁻³³.

A administração de pilocarpina produz um aumento na atividade motora e uma concomitante diminuição na dopamina estriatal. O sistema dopaminérgico é, particularmente, interessante, no que se refere

aos seus efeitos no processo convulsivo, já que a ativação dos receptores D_1 e D_2 produz respostas opostas para a atividade epilética. O limiar das convulsões é inversamente proporcional ao conteúdo nigroestriatal de dopamina. A depleção da dopamina aumenta a resistência às convulsões^{30,34}. Altos níveis de dopamina no cérebro podem induzir convulsões em diferentes espécies de animais³⁵. Dados da literatura mostram efeitos contrários, uma vez que foi vista uma redução na concentração de dopamina cerebral no foco epilético e no fluido cerebrospinal de pacientes epiléticos³⁶. Esses achados sugerem que a resistência de um animal para desencadear convulsão depende marcadamente do balanço da atividade dopaminérgica no cérebro.

Estudos realizados para caracterizar os efeitos dos agonistas dopaminérgicos sobre os receptores D_1 e D_2 , mostraram que o tratamento com SKF38393 (agonista dopaminérgico) aumenta a atividade dopaminérgica D_1 , provavelmente através de uma ação direta ou indireta sobre as proteínas G acopladas ao receptor, podendo refletir alterações no processo de acoplamento e/ou na capacidade das proteínas G, uma vez ativadas, estimulam a adenilil ciclase e aumentam o nível de AMPc intracelular. O sistema dopaminérgico parece exercer um papel regulatório na atividade epileptogênica cerebral³⁷.

O mecanismo de ação e a área cerebral afetada pela dopamina para controlar a propagação das convulsões ainda não foram determinados, mas acredita-se que receptores D_1 localizados em várias estruturas cerebrais podem controlar a propagação da atividade convulsiva. A dopamina exerce seus efeitos no cérebro, principalmente, através dos receptores D_1 e D_2 ³⁸. Esses dois subtipos de receptores interagem cooperativamente para controlar o comportamento motor normal, mas a maneira pela qual influenciam na propagação das convulsões ainda não foi estabelecida³⁹. A estimulação de receptores dopaminérgicos do tipo D_1 parece potencializar, enquanto, que o bloqueio desses receptores previne as convulsões induzidas pela pilocarpina. O inverso parece ocorrer com os receptores D_2 ³⁰.

Já com relação à neurotransmissão dopaminérgica,

drogas antagonistas do receptor dopaminérgico D_2 aumentam o número de animais que convulsionam e que apresentam estado epilético, reduz a LPC bem como também diminui a LEP, enquanto que, o antagonista D_1 (SCH 23390) produz efeito contrário (proteção) aumentando a LPC e a LEP, como também diminui o número de animais que convulsionam e que evoluem para o estado epilético, aumentando, portanto, a sobrevivência dos animais³⁰. O envolvimento dos receptores dopaminérgicos com funções opostas nas convulsões já foram observados nas convulsões induzidas pelo modelo lítio-pilocarpina de forma semelhante ao observado no modelo de epilepsia induzido por pilocarpina³⁰.

Neurotransmissão serotoninérgica e o processo convulsivo induzido pela pilocarpina

A neurotransmissão serotoninérgica parece estar relacionada na manutenção das convulsões induzidas pela pilocarpina. Confirmando nossos resultados sobre o envolvimento do sistema serotoninérgico durante a instalação das convulsões límbicas, foi verificado que a diminuição dos níveis de serotonina nos núcleos da rafe de animais adultos durante a fase crônica das convulsões apresentam maior susceptibilidade ao estado epilético induzido pela pilocarpina⁴⁰.

O processo convulsivo decorrente do tratamento com pilocarpina parece interagir com o sistema serotoninérgico, uma vez que, a ativação do receptor serotoninérgico do tipo 5-HT_{1A} pode inibir a estimulação colinérgica, sendo, assim, um mecanismo compensatório para inibir ou cessar as convulsões, já os receptores 5-HT₂-símile quando estimulados, atuam propagando e estimulando a atividade epilética em diferentes áreas cerebrais⁴¹.

A pilocarpina também altera os níveis do neurotransmissor serotoninérgico. Associado às convulsões induzidas por pilocarpina foi observado um aumento na concentração da 5-HT durante as convulsões²⁸. Dados recentes reforçam a interação entre a pilocarpina e os sistemas de neurotransmissores cerebrais. Estudos farmacológicos demonstram que convulsões induzi-

das pela pilocarpina são inibidas por antagonistas do receptor $5HT_2$ ²³, agonistas do receptor $GABA_A$ ⁴², antagonistas do receptor NMDA^{43,44} e bloqueadores de canal de sódio e cálcio⁴⁵.

As convulsões induzidas pela pilocarpina têm sido relacionado a um estímulo primário na neurotransmissão serotoninérgica²³. Considerando este aspecto, as convulsões induzidas por pilocarpina produzem um aumento da concentração 5-HT no hipocampo, induzindo uma atividade pró-convulsiva. O envolvimento da 5-HT nas convulsões foi evidenciado, visto que a fluoxetina, um inibidor da recaptação de 5-HT, potencializa as convulsões induzidas pela pilocarpina. Reduz a LPC e a LEP, aumenta a incidência das convulsões e estado epiléptico. Altas doses de fluoxetina estão associadas a efeitos epileptogênicos em humanos sem história prévia de distúrbios convulsivos em modelos animais experimentais^{45,46}. De fato, esta droga mesmo em baixa dose causa um aumento no índice de convulsões induzidas pela pilocarpina, mostrando um efeito pró-convulsivo. Em relação ao tratamento da epilepsia os resultados não se mostram promissores e estudos clínicos devem ser realizados, a fim de reduzir os efeitos adversos das drogas antiepilépticas.

Um outro ponto importante a ressaltar é que há relatos de casos do uso inadequado e até mesmo de forma abusiva de fluoxetina o que pode facilitar o desenvolvimento de convulsões⁴⁷. Face ao descrito, é importante considerar que o uso da fluoxetina pode contribuir para possíveis manifestações dos efeitos neurotóxicos da atividade epiléptica. Assim, deve-se controlar o uso de inibidores da recaptação de 5-HT em pacientes com história prévia de convulsões.

A amitriptilina é um antidepressivo tricíclico que vem sendo estudado por reduzir os sintomas depressivos em pacientes epilépticos⁴⁸. O mecanismo de ação da amitriptilina envolve a inibição não seletiva da captação de noradrenalina e 5-HT, sendo mais ativa, entretanto na inibição da captação de noradrenalina⁴⁴. Recentemente, foi publicado os efeitos na concentração de monoaminas e sugerida uma diminuição nos níveis de noradrenalina no hipocampo, corpo estriado

e córtex frontal após convulsão induzida pela pilocarpina. Pode-se especular desta forma, que altos níveis de noradrenalina, juntamente com 5-HT, não contribuem para os efeitos neurotóxicos da pilocarpina, visto que a 5-HT apresentou aumento no hipocampo, enquanto que, para na concentração da monoamina noradrenérgica houve uma redução, sugerindo que outros mecanismos de neurotransmissão devem estar envolvidos na instalação do processo convulsivo.

A amitriptilina causa um aumento significativo na sobrevivência e uma redução no número de animais convulsivos, sugerindo que uma diminuição de noradrenalina protege os animais contra as convulsões²³. Parece que apenas altos níveis destas monoaminas estão relacionados à potencialização das convulsões. Desta forma mecanismos noradrenérgicos podem estar envolvidos na regulação das convulsões induzidas por pilocarpina⁴⁹.

A clorpromazina é um agente antipsicótico, muitas vezes utilizado associado a outras medicações anticonvulsivantes em pacientes epilépticos. A clorpromazina atua através do bloqueio dos receptores $5-HT_2$ e em D_2 de forma menos intensa⁵⁰. A clorpromazina reduz o número de convulsões e estado epiléptico, como também decresce a taxa de mortalidade. A clorpromazina aumenta a latência das convulsões e do estado epiléptico. A literatura relata que o bloqueio dos receptores $5-HT_2$ reduz a propagação e a manutenção das convulsões e estado epiléptico, enquanto que, o bloqueio do receptor $5-HT_{1A}$ facilita o desenvolvimento das convulsões induzidas pela pilocarpina⁵¹.

Neurotransmissão GABAérgica e o processo convulsivo induzido pela pilocarpina

O SNC contém, de forma peculiar, altas concentrações de certos aminoácidos, notadamente o ácido glutâmico e o $GABA$ ⁵². O processo convulsivo decorrente do tratamento de ratos com pilocarpina, parece interagir com o sistema GABAérgico, uma vez que a ativação do receptor GABAérgico do tipo $GABA_A$ pode estar diminuída em decorrência do aumento da concentração do cálcio intracelular induzida pelos

receptores glutamatérgicos do tipo NMDA, que pode ser essencial para a instalação e propagação da atividade epiléptica⁵³. A pilocarpina também altera os níveis do neurotransmissor do sistema GABAérgico. Associado às convulsões induzidas por pilocarpina, ocorre o aumento na concentração do GABA após o estado epiléptico e uma diminuição após 24 h da fase aguda das convulsões²⁸.

Durante as convulsões induzidas pela pilocarpina, também ocorre mudanças na concentração de outros aminoácidos (glutamato (GLU), taurina (TAU), glutamina (GLN), aspartato (ASP) e glicina (GLI)), sendo importante um estudo mais detalhado para uma melhor compreensão da participação desses aminoácidos no processo convulsivo em função do tempo^{13,18}. Estes dados sugerem um importante papel dos receptores GABAérgicos nas convulsões induzidas pela pilocarpina, uma vez que a densidade máxima dos receptores GABAérgicos encontra-se diminuída¹⁹.

Dados recentes indicam que a inibição mediada pelo GABA pode inibir as convulsões. Estudos de *binding* em neurônios hipocâmpais, estriatais e corticais mostraram que a pilocarpina reduz a densidade máxima dos receptores GABAérgicos¹⁹, sugerindo que o efeito anticonvulsivante de drogas GABAérgicas pode ser mediado também através de canais de sódio voltagem-dependente, uma vez que drogas gabaérgicas produzem redução no número de convulsões, estado epiléptico e na taxa de mortalidade⁴⁹. Drogas com ação na neurotransmissão GABAérgica inibem as convulsões induzidas pela pilocarpina. Estudos farmacológicos anteriores mostram uma proteção das convulsões induzidas pela pilocarpina após o tratamento com diazepam, reforçando a hipótese da interação entre os sistemas GABAérgicos e colinérgicos¹⁶.

O diazepam e o clonazepam são drogas benzodiazepínicas usadas para o tratamento do estado epiléptico em humanos⁴⁴. Não interferem na incidência de nenhum dos parâmetros comportamentais observados em ratos, sugerindo que o sistema GABAérgico não interage nos efeitos periféricos mediados pela pilocarpina. Por sua vez, o diazepam mostrou-se bastante eficaz

na redução do número de animais que convulsionam, que evoluem para o estado epiléptico e diminuiu o número de mortes. Também aumenta a LPC e a LEP. Já o clonazepam foi mais eficiente como anticonvulsivante em comparação ao diazepam. Provavelmente devido a sua maior seletividade como droga anticonvulsivante⁴⁴.

O corpo estriado é a principal estrutura controladora dos gânglios da base⁵⁴. Projeções neuronais estriatais nos gânglios da base são eficientemente controladas pelo sistema GABAérgico, e o aumento do GABA impede a ação de agonista colinérgico⁵⁵. O controle do sistema gabaérgico através do sistema colinérgico pode ser essencial para modular condições fisiológicas⁵⁶, sugerindo que a quebra deste equilíbrio pode gerar processos neurodegenerativos. O aumento na liberação do GABA estriatal pode evitar as situações patológicas mediadas pela estimulação colinérgica muscarínica⁵⁴.

Estudos demonstraram a eficácia anticonvulsivante da gabapentina em animais resistentes a fenitoína no modelo de *kindling*. A gabapentina foi descrita como um análogo estrutural do GABA. Ela não é capaz de inibir ou reduzir os sinais colinérgicos periféricos, movimentos estereotipados e tremores, entretanto, aumenta a LPC, a LEP e reduz as convulsões, estado epiléptico e a taxa de mortalidade⁴⁹. Outra droga GABAérgica, a vigabatrina, é uma das novas drogas anti-epilépticas usadas em pacientes epilépticos refratários aos outros anticonvulsivantes. Muitos desses medicamentos estão sendo submetidos a testes clínicos para serem plenamente avaliados. A vigabatrina é um análogo do GABA com uma substituição de gama-vinil e que foi elaborado como inibidor da enzima responsável pelo metabolismo de GABA, a GABA-transaminase. É extremamente específica para a enzima e funciona formando uma ligação covalente irreversível⁴⁹.

A literatura registra que drogas GABAérgicas agem através do aumento do conteúdo do GABA cerebral e também através da liberação evocada por estimulação, sugerindo que a inibição da GABA-transaminase pode facilitar a liberação e exacerbar a transmissão inibitória⁵⁷. Em um estudo com crianças epilépticas foi

verificado que a gabapentina foi capaz de impedir o desenvolvimento do estado epiléptico em todas crianças e ainda aumentou o intervalo do período das crises em todas as crianças, entretanto, durante o tratamento com vigabatrina, esta impediu o desenvolvimento do estado epiléptico em apenas uma das crianças acompanhadas no estudo⁵⁸.

A ação de drogas que interferem na neurotransmissão GABAérgica no modelo de convulsão induzida por lítio-pilocarpina também foi testada, e verificou-se uma proteção contra o dano neuronal, entretanto, não se identificou propriedades antiepilépticas, provavelmente esse modelo induz alterações no sistema colinérgico de forma diferente do modelo de epilepsia induzido apenas pela pilocarpina, já que a mesma apresentou propriedades anticonvulsivantes significativas neste último modelo⁵⁴.

Neurotransmissão glutamatérgica e o processo convulsivo induzido por pilocarpina

O processo convulsivo decorrente do tratamento com pilocarpina, parece interagir de forma indireta com o sistema glutamatérgico, uma vez que, ocorre um aumento da ativação do receptor glutamatérgico do tipo NMDA durante as convulsões, culminando em um aumento da concentração do cálcio intracelular e na diminuição da resposta dos receptores GABA_A que se tornam incapazes de inibir o aparecimento das convulsões⁵².

A pilocarpina pode ser capaz de alterar os níveis de glutamato. Associado às convulsões e ao estado epiléptico induzidos pela pilocarpina, foi detectado uma diminuição na concentração do glutamato²⁸. Por outro lado, foi observado um aumento em seu nível após os períodos silencioso e crônico das convulsões induzidas pela pilocarpina²⁸. O glutamato pode produzir lesões em corpos celulares neuronais, concomitante com a preservação dos axônios das proximidades, esses efeitos podem depender da existência de receptores pós-sinápticos para o glutamato, mas os neurônios não são todos igualmente sensíveis à ação neurotóxica²⁸.

O sistema glutamatérgico foi também implica-

do nas propriedades aditivas da pilocarpina e parece ter um importante papel nos efeitos neurotóxicos da droga. O aumento da estimulação dos receptores glutamatérgicos NMDA induz convulsões e dano neuronal⁵⁹. Dentre os diferentes receptores glutamatérgicos, o receptor NMDA, está envolvido de maneira importante com os sistemas cardiovascular, respiratório e neuronal⁶⁰, todos os quais estando seriamente comprometidos durante as convulsões induzidas pela pilocarpina. O NMDA reduz a latência das convulsões, aumenta o número de animais que convulsionam e a taxa de mortalidade⁴⁹. Sabe-se que o receptor NMDA contém vários antagonistas e sítios modulatórios que podem funcionar como alvos para farmacoterapia⁶¹. Por esta complexidade do receptor, outras drogas modulatórias poderiam ser testadas, no intuito de reduzir os danos causados pelo sistema glutamatérgico ao paciente epiléptico.

Considerando estes dados, a cetamina, um anestésico dissociativo que afeta a atividade glutamatérgica por bloqueio do receptor NMDA⁶², foi testado nas convulsões induzidas pelo soman²². A cetamina tem afinidade similar pelo receptor NMDA, por sítios de ligação D₂, com menor afinidade para os sítios 5-HT². A cetamina reduz a percentagem de convulsão, estado epiléptico e a letalidade induzida pela pilocarpina. Esta droga na dose (0,5 mg/kg) aumenta a LPC e a LEP em animais tratados com pilocarpina⁶³. Dados anteriores²² mostram que a cetamina associada à atropina também antagoniza as convulsões induzidas pelo soman.

Reforçando a hipótese do envolvimento da neurotransmissão glutamatérgica nas convulsões límbicas⁶⁴, foi demonstrado que o MPEP (cloridrato de 2-metil-6-fenil-etinil-piridina), um antagonista dos receptores glutamatérgicos metabotrópicos (mGLUR5), produz um aumento da LPC e da taxa de sobrevivência dos animais às crises convulsivas produzidas pela pilocarpina. Da mesma forma, outra droga antagonista riluzole, testada no modelo de epilepsia induzida pela pilocarpina, reduz a atividade epiléptica e protege os animais contra o dano neuronal mediado pelo sistema glutamatérgico⁶⁵.

Por fim, em nossos experimentos verificamos um aumento da densidade máxima dos receptores glutamatérgicos no hipocampo, corpo estriado e córtex frontal de ratos adultos durante a fase aguda das convulsões induzidas pela pilocarpina. Corroborando com os nossos achados, um recente estudo mostrou a eficácia anticonvulsivante do extrato de *Bacopa monnieri*, através da redução da densidade máxima desses receptores no hipocampo de ratos no modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina⁶⁶.

CONCLUSÃO

É importante considerar que a literatura registra a participação de diferentes sistemas de neurotransmissão nas convulsões induzidas pela pilocarpina, no entanto, ainda é necessário a investigação das alterações nestes para o pronto esclarecimento da fisiopatologia das convulsões límbicas. As alterações produzidas por drogas psicoativas utilizadas no tratamento da epilepsia e das psicopatologias associadas, não estão ausentes de efeitos adversos, havendo a necessidade da realização de estudos clínicos e experimentais, a fim de minimizar ou abolir esses efeitos prejudiciais aos pacientes epiléticos. Sendo, assim, o modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina, fornece ainda várias possibilidades de futuras pesquisas em animais na tentativa de estabelecer os mecanismos fisiopatológicos das convulsões límbicas em humanos, no intuito também de descobrir drogas antiepilépticas mais eficazes e seguras para uso clínico em humanos.

REFERÊNCIAS

1. Ben-Ari Y, Tremblay E, Ottersen OP. Injections of kainic acid into the amygdaloid complex of the rat: an electrographic, clinical and histological study in relation to the pathology of epilepsy. *Neuroscience* 1980;5:515-28.
2. Cavalheiro EA, Leite JB, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L. Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia* 1991;32:778-82.
3. Marinho MMF, Sousa FCF, Bruin VMS, Aguiar LMV, Pinho RSN, Viana GSB. Inhibitory action of a calcium channel blocker (nimodipine) on

- seizures and brain damage induced by pilocarpine and lithium-pilocarpine in rats. *Neurosci Lett* 1997;235:13-6.
4. Honchar MP, Olney JW, Sherman WR. Systemic cholinergic agents induce seizures and brain damage in lithium-treated rats. *Science* 1983;220:323-5.
5. Clifford DB, Olney JW, Maniotis A, Collins RC, Zorumski CF. The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. *Neuroscience* 1987;23:953-68.
6. Marinho MMF, Sousa FCF, Bruin VMS, Vale MR, Viana GSB. Effects of lithium, alone or associated with pilocarpine, on muscarinic and dopaminergic receptors and on phosphoinositide metabolism in rat hippocampus and striatum. *Neurochem Int* 1998;33:299-306.
7. Naffah-Mazzacoratti MG, Cavalheiro EA, Ferreira EC, Abdalla DSP, Amado D, Bellissimo MI. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities and the hydroperoxide concentration are modified in the hippocampus of epileptic rats. *Epilepsy Res* 2001;46:121-8.
8. Cavalheiro EA, Fernandes MJ, Turski L, Naffah-Mazzacoratti MG. Spontaneous recurrent seizures in rats: amino acid and monoamine determination in the hippocampus. *Epilepsia* 1994;35:1-11.
9. Barone P, Parashos SA, Palma V, Marin C, Campanella G, Chase TN. Dopamine D1 receptor modulation of pilocarpine-induced convulsions. *Neuroscience* 1990;34:209-17.
10. Cavalheiro EA, Priel MR, Santos NF. Developmental aspects of the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res* 1996;26:115-21.
11. Loup F, Fritschy JM, Kiener T, Bouillere V. GABAergic neurons and GABA_A-receptors in temporal lobe epilepsy. *Neurochem Int* 1999;34:435-45.
12. Massieu L, Rivera A, Tapia R. Convulsions and inhibition of glutamate decarboxylase by pyridoxal phosphate-g-glutamyl hydrazone in the developing rat. *Neurochem Res* 1994;19:183-7.
13. Michotte Y, Khan GM, Smolders I, Ebinger G. Anticonvulsant effect and neurotransmitter modulation of focal and systemic 2-chloroadenosine against the development of pilocarpine-induced seizures. *Neuropharmacol* 2000;39:2418-32.
14. Zouhar A, Mares P, Liskova-Bernasova K, Mudrochova M. Motor and electrocorticographic epileptic activity induced by bicuculline in developing rats. *Epilepsia* 1989;30:501-10.
15. Starr MS, Starr BS. Paradoxical facilitation of pilocarpine-induced seizures in the mouse by MK-801 and the nitric oxide synthesis inhibitor L-NAME. *Pharm Biochem Behav* 1993;45:321-5.
16. Cavalheiro EA, Guedes RCA. Blockade of spreading depression in chronic epileptic rats: reversion by diazepam. *Epilepsy Res* 1997;27:33-40.
17. Fujikawa DG. The temporal evolution of neuronal damage from pilocarpine-induced status epilepticus. *Brain Res* 1996;725:11-22.
18. De Lorenzo RJ, Churn SB, Kochan LD. Chronic inhibition of Ca²⁺/Calmodulin Kinase II activity in the pilocarpine model of epilepsy. *Brain Res* 2000;875:66-77.
19. Freitas RM, Sousa FCF, Vasconcelos SMM, Viana GSB, Fonteles MMF. Pilocarpine-induced seizures in adult rats: lipid peroxidation level, nitrite formation, GABAergic and glutamatergic receptor alterations in the hippocampus, striatum and frontal cortex. *Pharm Biochem Behav* 2004;78:327-32.
20. Turski WA, Cavalheiro EA, Schwartz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: a behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav Brain Res* 1983;9:315-35.
21. Morrisett RA, Jope RS, Snead OC. Effects of drugs on the initiation and maintenance of status epilepticus induced by administration of pilocarpine

- to lithium-pretreated rats. *Experimental Neurology* 1987;97:193-200.
22. Dorandeu F, Carpentier P, Baubichon D, Four E, Bernabé D, Burckhart MF, et al. Efficacy of the ketamine-atropine combination in the delayed treatment of soman-induced status epilepticus. *Brain Res* 2005;1051:164-75.
23. Jope RS, Williams MB. Modulation by inositol of cholinergic- and serotonergic-induced seizures in lithium-treated rats. *Brain Res* 1995;685:169-78.
24. Ormandy GC, Song L, Jope RS. Analysis of the convulsant-potentiating effects of lithium in rats. *Exper Neurol* 1991;111:356-61.
25. Savolainen KM, Hirvonen MR. Second messengers in cholinergic-induced convulsions and neuronal injury. *Toxicol Lett* 1992;64:437-45.
26. Oliveira AA, Nogueira CRA, Nascimento VS, Aguiar LMV, Freitas RM, Sousa FCF, et al. Evaluation of levetiracetam effects on pilocarpine-induced seizures: cholinergic muscarinic system involvement. *Neurosci Lett* 2005;385:184-8.
27. Guindine PA, Rezende GH, Queiroz CM, Mello LE, Prado VF, Prado MA, et al. Vesicular acetylcholine transporter knock-down mice are more susceptible to pilocarpine induced status epilepticus. *Neurosci Lett* 2008;436:201-4.
28. El-Etri MM, Ennis M, Jiang M, Shipley MT. Pilocarpine-induced convulsions in rats: evidence for muscarinic receptor-mediated activation of locus coeruleus and norepinephrine release in cholinolytic seizure development. *Exper Neurol* 1993;121:24-39.
29. Pizzanelli C, Lazzeri G, Fulceri F, Giorgi FS, Pasquali L, Cifelli G, et al. Lack of alpha 1b-adrenergic receptor protects against epileptic seizures. *Epilepsia* 2009;50:59-64.
30. Barone P, Palma V, DeBartolomeis A, Tedeschi E, Muscettola G, Campanella G. Dopamine D1 and D2 receptors mediate opposite functions in seizures induced by lithium-pilocarpine. *Eur J Pharmacol* 1991;195:157-62.
31. Al-Tajir G, Starr MS, Starr BS. Proconvulsant effect of SKF 38393 mediated by nigral D1 receptors. *Eur J Pharmacol* 1990;162:245-251.
32. Al-Tajir G, Chandler CJ, Starr BS, Starr MS. Opposite effect of stimulation of D1 and D2 dopamine receptors on the expression of motor seizures in mouse and rat. *Neuropharmacology* 1990;29:657-61.
33. Al-Tajir G, Starr MS, Chandler CJ, Starr BS. Opposing effects of dopamine D1 and D2 receptor stimulation on the propagation of motor seizures in mice and rats. *British J Pharmacol* 1990;99:261-5.
34. Stephen TM, Corcoran ME. Catecholamines and convulsions. *Brain Res* 1979;170:497-507.
35. King GA, Burnham WM. Effects of d-amphetamine and apomorphine in a new animal model of petit mal epilepsy. *Psychopharmacology* 1980;69:281-5.
36. Hiramatsu M, Fujimoto N, Mori A. Catecholamine level in cerebrospinal fluid of epileptics. *Neurochem Res* 1982;7:1299-305.
37. Turski L, Ikonomidou C, Turski WA, Bortolotto ZA, Cavalheiro EA. Cholinergic mechanisms and epileptogenesis. The seizures induced by pilocarpine: a novel experimental model of intractable epilepsy. *Synapse* 1989;3:154-71.
38. Segarra AC, Mejías-Aponte CA, Jiménez-Rivera CA. Sex differences in models of temporal lobe epilepsy: role of testosterone. *Brain Res* 2002;944:210-8.
39. Waddington JL, O'boyle KM. Drugs acting on brain dopamine receptors: a conceptual re-evaluation five years after the first selective D1 antagonist. *Clin Pharmacol Ther* 1989;43:1-52.
40. Trindade-Filho EM, Castro-Neto EF, Carvalho AR, Lima E, Scorza FA, Amado D, et al. Serotonin depletion effects on the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res* 2008;82:194-9.
41. Peroutka SJ. 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes. *Annu Rev Neurosci* 1988;7:45-8.
42. Gasior M, Ungard JT, Witkin JM. Chlormethiazole: effectiveness against toxic effects of cocaine in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2000;295:153-61.
43. Griffith JW, Peterson SL, Purvis RS. Differential neuroprotective effects of the NMDA receptor-associated glycine site partial agonists 1-aminocyclopropanecarboxylic acid (ACPC) and D-cycloserine in lithium-pilocarpine status epilepticus. *Neurotoxicology* 2004;25:835-47.
44. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Farmacologia*. 7^a. ed. Elsevier, Rio de Janeiro, Elsevier, 2006, 263p.
45. Ware MR, Stewart RB. Seizures associated with fluoxetine therapy. *Annals Pharmacotherapy* 1989;23:428-33.
46. Ferrero AJ, Cereseto M, Reinés A, Bonavita CD, Sifonios LL, Rubio MC, et al. Chronic treatment with fluoxetine decreases seizure threshold in naive but not in rats exposed to the learned helplessness paradigm: correlation with the hippocampal glutamate release. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005;29:678-86.
47. Kecskemeti V, Rusznak Z, Riba P, Wagner R, Harasztosi C, Nanasi PP, et al. Norfluoxetine and fluoxetine have similar anticonvulsant and Ca⁺⁺ channel blocking potencies. *Brain Res Bull* 2005;67:126-32.
48. Field MJ, Oles RJ, Lewis AS, Mcclery S, Hughes J, Singh L. Gabapentin and pregabalin, but not morphine and amitriptyline, block both static and dynamic components of mechanical allodynia induced by streptozocin in the rat. *Pain* 1999;80:391-8.
49. Freitas RM, Sousa FCF, Viana GSB, Fonteles MME. Effect of gabaergic, glutamatergic, antipsychotic and antidepressant drugs on pilocarpine-induced seizures and status epilepticus. *Neurosci. Lett.* 2006;408:79-83.
50. Dailey JW, Yan QS, Mishra RL, Burger JPV. Effects of fluoxetine on convulsions and on brain serotonin as detected by microdialysis in genetically epilepsy-prone rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;260:533.
51. Dailey JW, Jobe P, Yan QS. Evidence that a serotonergic mechanism is involved in the anticonvulsant effect of fluoxetine in genetically epilepsy-prone rats. *Eur J Pharmacol* 1994;252:105-12.
52. Isokawa M. Modulation of GABA_A receptor-mediated inhibition by postsynaptic calcium in epileptic hippocampal neurons. *Brain Res* 1998;810:241-50.
53. Pasini A, Tortorella A, Gale K. Anticonvulsant effect of intranigral fluoxetine. *Brain Res* 1992;593:287-90.
54. Grasshoff C, Gileessen T, Thiermann H, Wagner E, Szinicz L. The effect of acetylcholinesterase-inhibition in depolarization-induced GABA release from rat striatal slices. *Toxicology* 2003;184:149-56.
55. Koss T, Tepper JM. Dual cholinergic control of fast-spiking interneurons in the neostriatum. *Nature Neuroscience* 1999;2:467-72.
56. Koss T, Tepper JM. Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *J Neurosci* 2002;22:529-35.
57. Reynolds EH. Vigabatrina. *British Med J* 1990;300:277-8.
58. Nehlig A, Marescaux C, Ferrandon A, André V. Vigabatrin protects against hippocampal damage but is not antiepileptogenic in the lithium-pilocarpine model of temporal epilepsy. *Epilepsy Res* 2001;47:99-117.
59. Kohl BH, Dannahardt G. The NMDA receptor complex: a promising target for novel antiepileptic strategies. *Curr Med Chem* 2001;8:269-72.
60. Berger I, Gillis RA, Vitagliano S, Panico WH, Agee S, Kelly M, et al. NMDA receptors are involved at the ventrolateral nucleus tractus solitarius for termination of inspiration. *Eur J Pharmacol* 1995;277:195-208.
61. Brorson JR, Manzollillo PA, Miller RJ. Ca²⁺ entry via AMPA/KA receptors and excitotoxicity in cultured cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci* 1994;14:187-97.
62. Ellison G. The N-methyl-D-aspartate antagonists phencyclidine, ke-

tamine and dizocilpine as both behavioral and anatomical models of the dementias. *Brain Res* 1995;20:250-67.

63. Grasshoff C, Gileessen T, Wagner E, Thiermann H, Szinicz L. Ketamine reduces cholinergic modulated GABA release from rat striatal slices. *Toxicol Lett* 2005;156:361-7.

64. Jesse CR, Savegnago L, Rocha JB, Nogueira CW. Neuroprotective effect caused by MPEP, an antagonist of metabotropic glutamate receptor mGLUR5, on seizures induced by pilocarpine in 21-day-old rats. *Brain Res*

2008;1198:197-203.

65. Khan R, Krishnakumar A, Paulose CS. Decreased glutamate receptor binding and NMDA R1 gene expression in hippocampus of pilocarpine-induced epileptic rats: neuroprotective role of *Bacopa monnieri* extract. *Epilepsy Behav* 2008;12:54-60.

66. Kim JE, Kim DS, Kwak SE, Choi HC, Song HK, Choi SY, et al. Anti-glutamatergic effect of riluzole: comparison with valproic acid. *Neuroscience* 2007;147:136-45.