

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES**  
**Diego Basile Colugnati**

**Análise de parâmetros cardíacos em ratos  
com epilepsia: Possível causa de morte súbita?**

**Mogi das Cruzes, SP**  
**2005**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES  
NÚCLEO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS  
LABORATÓRIO DE NEUROCIÊNCIAS**

**Análise de parâmetros cardíacos em ratos com  
epilepsia: Possível causa de morte súbita?**

**Diego Basile Colugnati**

**Orientador: Prof. Dr. Fulvio Alexandre Scorza**

Dissertação apresentada à Universidade de Mogi das Cruzes, para a obtenção do Título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Mogi das Cruzes, SP

2005

### **FICHA CATALOGRÁFICA**

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Colugnati, Diego Basile

Análise de parâmetros cardíacos em ratos com epilepsia: possível causa de morte súbita? / Diego Basile Colugnati. -- 2005.

57 f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Universidade de Mogi das Cruzes, 2005.

Área de concentração: Engenharia Biomédica  
Orientador : Dr. Fulvio Alexandre Scorza

1. Epilepsia 2. Coração - doenças 3. Morte súbita

CDD 619.93

**DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO MESTRADO  
EM ENGENHARIA BIOMÉDICA**

No dia 03/03/05 o candidato *Diego Basile Colugnati*, após realizar os créditos exigidos, ser aprovado no exame de Proficiência em Inglês, e no exame de Qualificação, apresentou o trabalho "*Análise de Parâmetros Cardíacas em Ratos com Epilepsia: Possível Causa de Morte Súbita?*" para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Os membros da banca consideram o candidato:

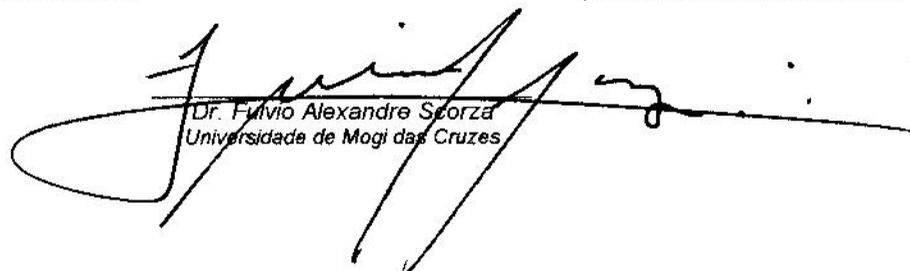
Dr. Jurandir Nadal  
Dr<sup>a</sup> Marly de Albuquerque  
Dr. Fulvio Alexandre Scorza

**Conceito**

APROVADO  
Aprovado  
APROVADO

  
Dr. Jurandir Nadal  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

  
Dr. Marly de Albuquerque  
Universidade de Mogi das Cruzes

  
Dr. Fulvio Alexandre Scorza  
Universidade de Mogi das Cruzes

# SUMÁRIO

---

Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Lista de Figuras.....	vii
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 Epilepsia.....	1
1.2. Epilepsia do Lobo Temporal.....	5
1.3. Modelo Experimental de Epilepsia Induzida por Pilocarpina.....	6
1.4. Morte Súbita nas Epilepsias.....	15
1.4.1 Alterações Cardiovasculares nas Epilepsias Coração.....	16
1.4.2 Medicamentos Antiepilépticos e Função cardiovascular.....	18
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>20</b>
<b>3. Materiais e Métodos.....</b>	<b>21</b>
3.1. Animais.....	21
3.2. Substâncias Químicas Envolvidas.....	21
3.3. Indução do Modelo de Epilepsia Induzida por Pilocarpina.....	21
3.4. Medição da Frequência Cardíaca <i>in vivo</i> .....	22
3.4.1. Método para coleta da Frequência Cardíaca <i>in vivo</i> .....	24
3.5. Estudo dos Corações Isolados.....	25
3.5.1. Soluções.....	25
3.5.2. A Câmara Experimental.....	25
3.5.3. Monitoração da Pressão ventricular e da Frequência Cardíaca.....	26
3.6. Metodologia de medição.....	26
3.7. Curva de Calibração do Sistema.....	28
3.8. Preparação da Amostra e Protocolo Experimental.....	30

3.9. Análise dos Dados.....	31
<b>4. Resultados .....</b>	<b>32</b>
4.1. Frequência Cardíaca <i>in vivo</i> .....	32
4.2. Frequência Cardíaca <i>in vitro</i> .....	32
4.3 Pressão Ventricular <i>in vitro</i> .....	33
<b>5. Discussão .....</b>	<b>34</b>
<b>6. Conclusão .....</b>	<b>39</b>
<b>7. Referências Bibliográficas.....</b>	<b>40</b>

## RESUMO

---

A epilepsia é a doença neurológica crônica mais comum, atingindo aproximadamente 2% da população brasileira. Dentre os tipos de epilepsias, a do lobo temporal é a mais frequente e refratária ao tratamento farmacológico. Além disso, os portadores de tal síndrome epiléptica apresentam índices de morte súbita maiores quando comparados com indivíduos da população geral. A administração sistêmica de pilocarpina, um agonista colinérgico muscarínico, em ratos e camundongos, numa dose de 350mg/Kg (i.p.), desencadeia alterações eletrográficas, comportamentais e neuropatológicas que mimetizam o fenômeno humano. Utilizando o modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina, o objetivo do nosso estudo foi avaliar as possíveis alterações da frequência cardíaca (*in vivo e in vitro*) e da pressão ventricular (*in vitro*) do coração de ratos com epilepsia e compará-las com ratos normais, com o intuito de relacionar o fenômeno de morte súbita na epilepsia do lobo temporal com possíveis alterações intrínsecas do coração. Nossos resultados mostraram um aumento da frequência cardíaca *in vivo* dos animais com epilepsia ( $346 \pm 7$  bpm) quando comparada com os animais pertencentes ao grupo controle ( $307 \pm 9$  bpm). Por outro lado, a frequência cardíaca *in vitro* dos animais com epilepsia ( $176 \pm 6$  bpm) não apresentou variação em relação aos controles ( $175 \pm 7$  bpm). Além disso, os valores das pressões ventriculares *in vitro* dos animais com epilepsia ( $61 \pm 4$  mmHg) apresentaram-se maiores quando comparadas com os animais do grupo controle ( $55 \pm 2$  mmHg), porém sem significância estatística. Nossos resultados nos permitem concluir que o coração dos animais com epilepsia não apresenta sua ritimicidade e função contrátil alteradas intrinsecamente, uma vez que encontramos somente variações na frequência cardíaca *in vivo*. No entanto, sob a influência do sistema nervoso autônomo, este órgão pode apresentar alterações funcionais que aumentam a probabilidade de ocorrência de morte súbita nas epilepsias.

## ABSTRACT

---

Among the causes for sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP), cardiac dysfunction has been an area of interest. Based on this, the aim of our study was to evaluate the HR (*in vivo* and *in vitro*) and ventricular pressure *in vitro* of rats with epilepsy induced by pilocarpine. Adult male Wistar rats (n=6) were given pilocarpine hydrochloride to induce *status epilepticus*. Control rats (n=6) received saline solution instead pilocarpine. Our results showed significant differences in the mean HR *in vivo* between the groups. In contrast, we did not find differences during *in vitro* experiments. Our results suggest a CNS modulation on the heart, which could explain the SUDEP.

## LISTA DE FIGURAS

---

- Figura 1-** Esquema do sistema de medição da FC: 1) caixa de acrílico com eletrodos de captação; 2) comutador dos eletrodos; 3) amplificador ; 4) osciloscópio. **23**
- Figura 2 –** Registro típico obtido com rato Wistar adulto. **24**
- Figura 3 -** Figura esquemática da câmara experimental. Ao centro, temos o compartimento inferior e superior, interligado por uma mangueira de perfusão (1) e uma mangueira lateral (2), (3) bomba peristáltica, (4) cilindro de carbogênio,(5) e (6) mangueiras para condução de carbogênio e circulação da solução respectivamente, (7) cânula para a aorta, (8) e (9) resistências, (10) fonte de tensão, (11) transdutor de pressão. **26**
- Figura 4 -** Desenho esquemático da posição da torneira de 3 vias durante medição da pressão intraventricular. O coração, preso a cânula de metal, exerce uma pressão quando contrai que é transmitida até o transdutor de pressão pela solução fisiológica. **27**
- Figura 5 –** Curva de calibração do sistema de medição da pressão intraventricular. Ao alto temos a equação da reta e a correlação obtida após regressão linear. **29**
- Figura 6-** Registro da pressão exercida na coluna de líquido pela contração do ventrículo. A região destacada em vermelho apresenta a onda analisada. O formato de onda encontrado imediatamente antes da região destacada se deve ao movimento de fechamento da torneira de três vias. **30**
- Figura 7-** Médias e erros padrão das médias da FC de ratos sem e com epilepsia (*in vivo*) **32**
- Figura 8-** Médias e erros padrão das médias da FC de corações isolados de ratos sem e com epilepsia (*in vitro*) **33**
- Figura 9-** Médias e erros padrão das médias da pressão ventricular de corações isolados de ratos sem e com epilepsia (*in vitro*) **33**

# 1. INTRODUÇÃO

---

## 1.1 Epilepsia

Desde os tempos mais remotos a epilepsia tem intrigado a humanidade. O caráter ictal, as manifestações convulsivas, a perda do controle volitivo e o desconhecimento por parte do paciente de todo o ocorrido durante o evento convulsivo suscitavam explicações “mágicas”. Inicialmente, as explicações das crises epiléticas tiveram como base a possessão do paciente por deuses ou demônios. Essa visão religiosa foi, em parte, responsável pelo estigma e preconceito que os pacientes com epilepsia sofreram e continuam sofrendo nos dias atuais. Só no século XIX, com os trabalhos de Sommer, foi possível caracterizar a relação entre crises convulsivas e lesões localizadas no Sistema Nervoso Central (SNC).

Em função de suas características fisiopatogênicas, as epilepsias acometem os indivíduos independentemente de aspectos étnicos, climáticos ou regionais. No entanto, em decorrência de sua alta incidência e prevalência, provocam grandes repercussões nos aspectos sócio-econômicos (OSUNTOKUN et. al., 1987; LI et. al., 1985).

Os estudos da prevalência e da incidência das epilepsias encontrados na literatura apresentam índices com grande variabilidade. Têm sido descritos valores para prevalência entre 0,9 e 57 casos / 1.000 habitantes e para a incidência entre 26 e 190 casos / 100.000 habitantes, porém essas variações são resultantes de problemas metodológicos durante as investigações. Os problemas metodológicos mais comuns são: utilização de diferentes critérios diagnósticos, de classificação e diferentes métodos de seleção de casos e definições de epilepsia (HAUSER & KURLAND, 1975; SANDER & SHORVON, 1985; McNAMARA, 1994; JALLON et. al., 1997).

Apesar desses problemas, as informações obtidas nessas investigações indicam que as epilepsias continuam sendo um problema de saúde pública maior nos países em desenvolvimento. Os dados disponíveis indicam que a prevalência em países da África, América Latina e Ásia chegam a ser de 4 a 5 vezes maior que em países industrializados (O.M.S., 1978). Essa constatação é altamente preocupante, uma vez que esses países enfrentam grandes dificuldades econômicas, tem baixo investimento em áreas sociais aliadas a um alto grau de subemprego e desemprego.

As altas taxas de incidência e prevalência das epilepsias nos países em desenvolvimento afetam a economia na medida em que aumentam os custos econômicos diretos da doença, provenientes dos gastos médicos: drogas e hospitalizações e gastos não médicos: cuidados residenciais e transporte para o hospital. Ao mesmo tempo, aumentam os custos econômicos indiretos decorrentes da perda de produção econômica por desemprego, licença médica ou morte prematura (ROBINSON, 1993). Como exemplo, na Argentina o custo médio das drogas antiepilépticas (DAE) é 25% mais alto que nos Estados Unidos e 145% mais alto que na Europa. Por outro lado, as novas DAE são 86% mais caras que nos Estados Unidos e 55% mais caras que na Europa (KOCHEN, 1996).

A alta incidência das epilepsias nos países do terceiro mundo é decorrente da deficiente assistência pré-natal e maternal, alto índice de prematuridade, desnutrição, traumas durante o parto, convulsões febris da infância e de infecções, particularmente as decorrentes de parasitismo (SANDER & SHORVON, 1985; FERNANDES et. al., 1992).

O termo epilepsia se refere a um distúrbio da atividade cerebral caracterizada pela ocorrência periódica e espontânea de atividade elétrica altamente sincronizada, acompanhada

de manifestações comportamentais. Dado o caráter freqüentemente focal do gerador da atividade epiléptica, os pacientes podem apresentar uma grande variedade de sinais clínicos. Uma vez desencadeada, essa atividade elétrica pode propagar-se para outras regiões cerebrais incorporando-as à atividade epiléptica. Além desse aspecto, um mesmo paciente pode apresentar formas diferentes de crises epiléticas. Esse fato dificultou o estudo sistemático das epilepsias tanto do ponto de vista epidemiológico quanto clínico e experimental (McNAMARA, 1994).

As crises epiléticas são fenômenos clínicos transitórios, decorrentes da descarga excessiva e sincronizada da rede neuronal. Essas crises podem surgir espontaneamente ou serem desencadeadas por situações como: febre, distúrbio eletrolítico, intoxicação e alterações vasculares. As manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes dependem das regiões envolvidas, podendo o paciente apresentar desde um simples sinal motor focal até crises motoras generalizadas. Neste caso, o paciente perde a consciência e apresenta atividade motora intensa acometendo toda a musculatura estriada (PEDLEY et. al., 1997).

Quando a crise é acompanhada de atividade motora é denominada de crise convulsiva. Essa atividade motora pode assumir formas tônicas, indicando contrações musculares mantidas, ou clônicas, sob a forma de contrações musculares intermitentes. No entanto, o paciente pode apresentar uma crise com perda da consciência sem sinais convulsivos (PEDLEY et. al., 1997).

Henri Gastaut anunciou a primeira proposta para classificação das crises epiléticas em 1969. Tal classificação era baseada em critérios clínicos, eletroencefalográficos, substrato anatômico, etiologia e idade de ocorrência das crises.

A introdução de técnicas novas, como a vídeo-eletrencefalografia e os registros poligráficos, exigiu, no entanto, a revisão da classificação proposta por Gastaut. Diversas reuniões internacionais foram realizadas com especialistas desde então, culminando, em 1981, com a publicação da Classificação Internacional das Crises Epilépticas (COMMISSION, 1981).

As crises epilépticas foram então classificadas em: parciais e generalizadas. As crises parciais por sua vez foram divididas em parciais simples e complexas. As crises parciais simples têm caráter focal, iniciando em um sítio cortical com preservação da consciência.

As manifestações comportamentais das crises epilépticas são ditadas pelas funções normalmente exercidas pelas regiões corticais nas quais a crise começou, isto é, uma crise com origem no córtex motor se manifesta com atividade motora clônica da parte do corpo controlada pela região cortical de origem da crise. Da mesma forma, uma crise com origem no giro pós-central provoca o surgimento de sinais somestésicos na parte do corpo correspondente à zona de recepção cortical sensorial. A crise parcial pode, no entanto, generalizar-se secundariamente quando, então, se acompanhará de perda da consciência e da presença ou não de sinais convulsivos generalizados. As crises parciais complexas por sua vez, são caracterizadas pela presença de sinais focais de origem límbica e são geralmente acompanhadas de alterações da consciência desde o início, com ou sem a presença de automatismos (COMMISSION, 1981).

Nas crises generalizadas ocorre o envolvimento das regiões corticais de ambos os hemisférios desde o início da atividade epiléptica, sendo acompanhadas de perda da consciência. Crise de ausência, crises mioclônica e tônico-clônica são exemplos de crises generalizadas. Uma crise de ausência é caracterizada por uma interrupção da atividade,

acompanhada de olhar para o infinito com duração de 5 a 15 segundos, seguida do retorno à atividade normal. A crise mioclônica consiste de breves abalos musculares, semelhantes a choques, os quais podem ser confinados a uma extremidade ou generalizados. Uma crise tônica consiste de contração muscular sustentada, enquanto que uma crise clônica consiste de contrações musculares alternantes dos músculos flexores e extensores. O mais freqüente é que o paciente apresente um período inicial de atividade tônica seguido por um período de atividade clônica (COMISSION, 1981).

As crises parciais complexas são as mais freqüentemente observadas na clínica. Caracterizam-se pela presença de automatismos, principalmente orofaciais, acompanhados de embotamento da consciência, e geralmente se iniciam no lobo temporal (COMISSION, 1981).

Como mencionado anteriormente, um mesmo paciente pode apresentar mais de um tipo de crise epiléptica. Baseado nesse aspecto, bem como em outros fatores (etiologia e idade do início das crises) e nos achados eletrográficos, foi criada uma nova classificação das síndromes epilépticas (COMISSION, 1989).

## **1.2 Epilepsia do Lobo Temporal**

A forma mais comum de síndrome epiléptica é a epilepsia do lobo temporal, ocorrendo em cerca de 40% de todos os casos de epilepsias, apresentando como característica principal à ocorrência de crises parciais com manifestações límbicas (HAUSER & KURLAND, 1975). Na grande maioria dos pacientes, o lobo temporal está acometido por lesões histologicamente demonstráveis e a sua ressecção pode eliminar completamente as crises convulsivas em 80 a 90 % dos pacientes (DODRIL et. al., 1986).

O padrão histológico mais freqüentemente observado em tecidos ressecados de pacientes com epilepsia do lobo temporal é a chamada esclerose do corno de Amon, caracterizada por acentuada perda de neurônios piramidais, do hipocampo, acompanhada de gliose. Em outros casos podem ser observados outros tipos de lesões como: neoplasias ou alterações vasculares (WOLF & WIETLER, 1993; WOLF et. al.,1994).

Outro aspecto importante da epilepsia do lobo temporal é a alta refratariedade ao tratamento farmacológico, pois apenas 30% dos casos são controlados com monoterapia. Grande parte dos pacientes são obrigados a receber mais de uma medicação antiepiléptica, e mesmo assim, a melhora ocorre em apenas 11% dos pacientes (COMISSION, 1981; ELWES et. al., 1984; MATTSON et. al., 1985; PEDLEY et. al., 1997).

Para um melhor entendimento para o estudo das epilepsias se fez necessária a busca por modelos experimentais, dentre eles o que mais se destaca é o modelo de indução de epilepsia por pilocarpina o qual mimetiza a epilepsia do lobo temporal em humanos.

### **1.3 Modelo Experimental de Epilepsia Induzida por Pilocarpina**

Durante as últimas décadas foram desenvolvidos basicamente dois tipos de modelos experimentais de epilepsias. Os chamados modelos agudos, cujas crises são únicas e não espontâneas, e os modelos crônicos, nos quais as crises epiléticas podem se repetir a intervalos mais ou menos variáveis e os registros eletrencefalográficos podem evidenciar anormalidades elétricas intercríticas espontâneas (PURPURA et. al., 1972).

Uma vez que as epilepsias humanas apresentam crises recorrentes e na maioria das vezes

ocorrem de forma espontânea, os modelos crônicos se revestem de maior importância por mimetizarem, mais adequadamente, a condição humana servindo, portanto, para uma maior caracterização fisiopatológica e para avaliação de drogas antiepilépticas (LEITE et. al., 1990; BLÜMCKE et. al., 1999).

Dentre os modelos crônicos de epilepsia, o modelo da pilocarpina tem sido amplamente usado em função da facilidade técnica e, principalmente, pela semelhança fisiopatológica com a epilepsia do lobo temporal.

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor amplamente distribuído no sistema nervoso de animais, tanto vertebrados como invertebrados. Nos mamíferos, ela está presente tanto em sinapses centrais quanto em sinapses periféricas agindo como neurotransmissor efetor do sistema autônomo parassimpático e na junção neuromuscular. É também encontrada nas junções pré-ganglionares dos sistemas simpático e parassimpático (WERNER & TAYLOR, 1987; PAGE et. al., 1999).

A acetilcolina liga-se a dois tipos de receptores: receptores nicotínicos, encontrados nas membranas pós-sinápticas centrais, nas junções pré-ganglionares do simpático e do parassimpático e, principalmente, nas junções neuromusculares; e os receptores muscarínicos, encontrados nas membranas pós-sinápticas centrais e na grande maioria dos órgãos efetores parassimpáticos (WERNER & TAYLOR, 1987; PAGE et. al., 1999).

As drogas conhecidas como colinomiméticas do tipo muscarínico são classificadas conforme seu mecanismo de ação em dois grandes grupos: as de ação direta, que agem diretamente no receptor, como a própria acetilcolina, a muscarina, a arecolina, a metacolina, o

carbacol, o betanecol e a pilocarpina (PILO); e as de ação indireta, como a fisostigmina e a neostigmina que, ao inibirem a acetilcolinesterase, enzima de degradação da acetilcolina, aumentam sua concentração sináptica (WERNER & TAYLOR, 1987; PAGE et. al., 1987).

A pilocarpina é um alcalóide de origem vegetal extraído das folhas do *Pilocarpus pennatifolius* e do *Pilocarpus jaborandi*. Sua molécula é diferente da acetilcolina possuindo um grupamento metílico ligado a um nitrogênio com arranjo tridimensional semelhante ao da acetilcolina (WERNER & TAYLOR, 1987).

Desde o início do século XIX, os pesquisadores suspeitavam da relação entre mecanismos colinérgicos e epilepsia. A ação convulsivante da acetilcolina (Ach) e da fisostigmina (inibidora da acetilcolinesterase, enzima responsável pela hidrólise da acetilcolina) foi demonstrada experimentalmente no eletrocorticograma, já na primeira metade do século XIX (SJÖSTRAND, 1937; MILLER et. al., 1968; BRENNER & MERRITT, 1942).

Forster (1975) demonstrou que injeções de Ach nos ventrículos cerebrais de gatos provocavam o surgimento de crises motoras e descargas elétricas no córtex cerebral. Grossman (1963) obteve crises convulsivas duradouras após a injeção de Ach cristalina ou carbacol na amígdala de gatos.

Análises iniciais do líquido em pacientes epiléticos com crises frequentes mostraram que o conteúdo de Ach estava aumentado (TOWER & NSEARCHERN, 1949). Da mesma forma, Pope et. al. (1947) demonstraram que a atividade da acetilcolinesterase estava aumentada nesses pacientes. Mais recentemente, foi demonstrado um aumento da atividade da colina acetiltransferase, enzima responsável pela síntese da Ach, no córtex de pacientes epiléticos

submetidos à ressecção cirúrgica do lobo temporal (NADI et. al., 1987; KISH et. al., 1988).

A descoberta casual de que a atropina revertia alguns dos efeitos comportamentais da injeção intracerebral de ácido caínico em ratos (KLEINROK & TURSKI, 1979; 1980), levou esses pesquisadores a injetarem carbacol e betanecol no ventrículo lateral de ratos, demonstrando assim que ambos os agentes reproduziam os efeitos comportamentais produzidos pelo ácido caínico (TURSKI et. al., 1981; 1982). O fato do betanecol ser um potente agonista muscarínico, não ser hidrolizado pela acetilcolinesterase e não ter efeito sobre os receptores nicotínicos, motivou esses pesquisadores a injetarem betanecol no complexo amigdalóide e no hipocampo.

Após injeção de betanecol no hipocampo foram observadas crises convulsivas acompanhadas de lesão cerebral e alterações comportamentais como: acinesia, tremor, automatismos gustatórios e olfatórios, “movimentos do cachorro molhado” (*wet dog shakes*) e crises límbicas as quais evoluíam para *status epilepticus*. Observaram ainda que essas crises podiam ser antagonizadas pela co-administração de escopolamina ou atropina.

No entanto, em virtude de suas propriedades químicas o betanecol não atravessa a barreira hêmato-encefálica e, portanto, apresenta o inconveniente de ter que ser injetado de forma intracerebral (TURSKI et. al., 1983d).

Um outro agonista muscarínico, a pilocarpina, diferentemente do betanecol, pode facilmente atravessar a barreira hêmato-encefálica e, assim, ser administrada por via periférica evitando as dificuldades técnicas da injeção intracerebral.

A injeção de altas doses de pilocarpina (300 a 380 mg/kg) por via intraperitoneal, produz alterações comportamentais e variações eletrográficas indicativas de atividade epiléptica duradouras tanto em ratos (TURSKI et. al., 1983; LEITE et. al.,1990) quanto em camundongos (TURSKI et. al., 1984; CAVALHEIRO, et. al., 1996).

A análise eletrográfica das crises induzidas pela pilocarpina em ratos e camundongos demonstra que o hipocampo é ativado inicialmente, em comparação à amígdala e ao córtex (TURSKI et. al., 1983b; TURSKI et. al., 1984; CAVALHEIRO et. al., 1997).

A atividade metabólica, durante as crises convulsivas induzidas pela pilocarpina, avaliadas pela taxa de consumo de glicose, usando-se a técnica da 2-desoxiglicose marcada com carbono<sup>14</sup>, aumentou em diversas áreas do hipocampo, no giro dentado, globo pálido, pálido ventral, amígdala, substância negra, tálamo ventro-basal e médio-dorsal, septo lateral, córtex piriforme, tubérculo olfatório, córtex frontal e visual e corpo estriado (CLIFFORD et. al., 1987; SCORZA et. al.,1996).

À microscopia eletrônica observa-se, nos animais submetidos ao *status epilepticus* induzido pela pilocarpina, edema intenso dos dendritos e corpos celulares neuronais e dilatação dos elementos astrogliais. Os axônios remanescentes, no entanto, permanecem relativamente intactos (CLIFFORD et. al., 1987; OLNEY et. al., 1986).

O padrão citopatológico dos cérebros dos animais injetados com pilocarpina assemelha-se à reação citotóxica cerebral ao glutamato (OLNEY et. al., 1986). No entanto, isso não significa que o sistema colinérgico tenha um potencial excitotóxico. A rigor, o que se acredita é que o sistema colinérgico seja responsável pela ativação inicial de neurônios excitatórios

glutamatérgicos dando início à atividade convulsiva. A liberação sináptica excessiva de glutamato, então, mantém a célula despolarizada produzindo liberação duradoura de cálcio dos estoques intracelulares, seguida de lesão da membrana celular. Por outro lado, a liberação sináptica excessiva de acetilcolina fornece o estímulo responsável pelos disparos neuronais observados nas crises convulsivas antes dos animais entrarem em *status epilepticus*, sem lesar as membranas neuronais. Assim, a atividade do sistema colinérgico seria responsável pela manutenção inicial da crise convulsiva levando a maior liberação de glutamato que, por sua vez, provocaria lesão celular (OLNEY et. al., 1983;1986; SAMSOM et. al., 1985; CLIFFORD et. al., 1987).

Essa hipótese justifica a observação experimental e clínica de que drogas anticolinérgicas podem ser eficazes na prevenção do desenvolvimento de crises convulsivas, não sendo capazes de bloquear o *status epilepticus* (ALBRIGTH et. al., 1979; CORCORAN, 1986; WESTERBERG et. al., 1984; CAIN et. al., 1987; 1988).

Samples et. al. (1977), Davis e Hatoum (1980) e Olney et. al. (1986) demonstraram que o lítio é capaz de diminuir o limiar convulsivo à pilocarpina em ratos, aumentando, a mortalidade dos animais em cerca de 90 a 95% nas primeiras 24 horas. Por outro lado, Venogopal e Persinger (1988) demonstraram que a administração do antagonista dopaminérgico acepromazina, na primeira hora após a injeção de pilocarpina, reduzia a mortalidade dos ratos para menos de 5%.

O padrão de aumento na utilização da glicose e a citopatologia observados ao nível microscópico nas convulsões produzidas pela combinação lítio/pilocarpina são idênticos aos observados em ratos injetados, apenas, com altas doses de pilocarpina (CLIFFORD et. al.,

1987).

Os estudos da função dos neurotransmissores durante as crises convulsivas produzidas pela pilocarpina demonstraram uma diminuição da concentração de acetilcolina no hipocampo, córtex e estriado, imediatamente antes do início das convulsões (JOPE et. al., 1987). A essa queda inicial na concentração de acetilcolina segue-se um aumento de sua concentração no córtex e hipocampo, mas não no estriado. À medida que o *status epilepticus* progride, a concentração de acetilcolina nessas duas estruturas aumenta atingindo um pico de 461% e de 304 % no córtex e hipocampo, respectivamente, após duas horas de *status epilepticus* (JOPE et. al., 1987).

Avaliando a atividade da L-glutamato descarboxilase, enzima responsável pela síntese do GABA, no cérebro de ratos submetidos à injeção de pilocarpina revelou-se uma diminuição de sua atividade no tecto mesencefálico, septo, córtex temporal, hipocampo, amígdala, córtex piriforme, tálamo e, principalmente, na substância negra (TURSKI et. al., 1986b).

A observação continuada dos animais que, após receberem pilocarpina, apresentaram *status epilepticus* demonstrou que esses animais passam, então, a apresentar crises espontâneas e recorrentes (TURSKI et. al., 1983c; CAVALHEIRO et. al., 1991; LEITE et. al., 1990).

O modelo da pilocarpina foi em seguida melhor caracterizado e o seu seguimento temporal permitiu dividi-lo em 3 fases: período agudo, no qual os animais apresentam as crises límbicas evoluindo para *status epilepticus*; período silencioso, com duração em torno de 4 a 44 dias ( média de 14,8 dias e mediana de 10 dias) caracterizado pela ausência de sinais comportamentais e eletrográficos de atividade epiléptica; e período crônico, que inicia-se com

a primeira crise espontânea que ocorre durante toda a vida do animal (LEITE et. al., 1990). Essas crises espontâneas se iniciam com automatismos faciais, clonias dos membros anteriores, elevação do corpo com apoio nas patas posteriores e perda do equilíbrio seguida por crise clônica generalizada, com duração aproximada de 40 a 60 segundos (LEITE et. al., 1990; CAVALHEIRO et. al., 1991).

A avaliação do perfil circadiano mostrou que as crises espontâneas tendem a ocorrer mais freqüentemente durante o período diurno, com uma freqüência de duas a três crises por semana. Alguns animais apresentam crises agrupadas, porém, a freqüência total dessas crises é semelhante àquelas dos animais com crises regulares (LEITE et. al., 1990; CAVALHEIRO et. al., 1991).

Após uma crise convulsiva os animais apresentam-se sonolentos e desenvolvem comportamento agressivo se manipulados. Quando os animais apresentam crises com componente tônico esse comportamento é exacerbado (LEITE et. al., 1990).

Lemos e Cavalheiro (1994), demonstraram uma correlação positiva entre duração do *status epilepticus*, perda neuronal no hipocampo e reorganização sináptica com o surgimento de crises espontâneas recorrentes. Demonstraram que era necessário um período mínimo de 30 minutos de *status epilepticus* para que houvesse o desenvolvimento de crises recorrentes. Observaram ainda que, a intensidade da reorganização sináptica guardava relação com a freqüência de crises espontâneas e sugeriram que a perda neuronal no hilo do giro dentado poderia ser o fator desencadeante do processo de reorganização sináptica das fibras musgosas.

Nos diversos períodos do modelo da pilocarpina são observadas alterações eletrográficas. No período agudo, imediatamente após a injeção de pilocarpina, um ritmo teta

substitui a atividade de fundo hipocampal e uma atividade rápida de baixa amplitude ocorre no córtex. Surgem, em seguida, atividade rápida com alta voltagem e espículas no hipocampo. As espículas propagam-se para outras regiões, incluindo o córtex cerebral, e evoluem para crises eletrográficas. Essas crises recorrem a cada 3 a 5 minutos levando, finalmente, ao *status epilepticus* que permanece por um período próximo de 12 horas. Em seguida, a atividade epilética diminui gradualmente nas horas seguintes (LEITE et. al., 1990).

No período silencioso, 24 a 72 horas após o *status epilepticus*, o eletrocorticograma (ECoG) tende a se normalizar, desaparecendo mais lentamente a atividade espicular hipocampal (LEITE et. al., 1990).

Nas primeiras crises espontâneas observa-se atividade paroxística apenas no hipocampo, sem alterações nos registros corticais. Durante esses episódios os animais tornam-se acinéticos, apresentam piscamento dos olhos, clonia das vibrissas e movimentos de mastigação. Nas crises seguintes, ocorre propagação da atividade paroxística para as regiões corticais e os eventos ictais apresentam maior duração. As crises espontâneas são caracterizadas por trens de atividade espicular no hipocampo, seguidos da mesma atividade no córtex. A duração raramente excede 60 segundos e é substituída por uma atividade de fundo deprimida com espículas interictais freqüentes. As crises surgem sem nenhum padrão indicativo das mesmas, no entanto, um EcoG de ondas lentas de sono é substituído por um padrão de despertar antes do início da crise (LEITE et. al., 1990).

A validade de um modelo experimental é confirmada à medida que ele responde às drogas antiepiléticas de forma semelhante à observada na epilepsia humana (CAVALHEIRO & LIMA, 1984; MELDRUM, 1986). Os modelos experimentais que reproduzem os diversos

componentes da epilepsia humana são usados para o estudo dos mecanismos geradores das crises epiléticas, bem como na avaliação de drogas com potencial anticonvulsivante (PORTER & NADJ, 1987). O *status epilepticus* induzido pela pilocarpina é atenuado ou mesmo abolido se os animais são pré-tratados pela administração sistêmica de diazepam, clonazepam, fenobarbital, valproato e trimetadiona, enquanto que a difenilhidantoína e a carbamazepina são ineficazes na fase aguda (TURSKI et. al., 1987). Na fase crônica, as crises espontâneas têm sua frequência reduzida pelo uso de fenobarbital, carbamazepina, fenitoína e ácido valpróico, enquanto que a etossuximida não tem efeito terapêutico sobre a frequência das crises (LEITE & CAVALHEIRO, 1995).

#### **1.4 Morte Súbita nas Epilepsias**

O fenômeno de morte súbita tem sido relacionado à epilepsia desde 1910 (MUNSON, 1910). No entanto, para um melhor entendimento desse fenômeno, o congresso internacional sobre epilepsia e morte súbita, ocorrido em Londres em 1996, propôs uma definição para morte súbita: o óbito deve ocorrer de maneira não traumática, sem afogamento, pode ter ou não relatos de crise, excetuando-se *status epilepticus*, e os exames realizados após a morte não podem revelar causas anatômicas ou toxicológicas para a morte (NASHEF, 1997).

Vários estudos relatam que a incidência de morte súbita em pacientes com epilepsia é maior do que em não portadores dessa síndrome, se analisada a população como um todo (RODIN, 1968; ZIELINSKI, 1974; WOODBURY, 1978). Enquanto que alguns estudos mostram uma prevalência de morte súbita em portadores de epilepsia de 1 para 1000 (TERRENCE, WISOTSKEY, PERPER; 1975; TENNIS et. al., 1995) outros indicam que tal fenômeno é mais freqüente, em uma proporção de 1 para cada 100 indivíduos com epilepsia

(FREYTARG & LINDENBERG ,1964; HIRSCH & MARTIN ,1971).

#### **1.4.1 Alterações Cardiovasculares nas Epilepsias**

O fenômeno de morte súbita em epilepsia ainda não está totalmente esclarecido, no entanto, uma possível explicação é que este poderia ter causa cardiogênica. Sabe-se que as arritmias são acompanhadas por uma ativação neural tanto em humanos quanto em modelos experimentais (NATELSON, 1985; LATHERS & SCHRAEDER , 1982; . NATELSON & CHANG, 1993) além disso, alguns pesquisadores observaram isquemia miocárdia (DEVINKSY, PRINCE, COHEN, 1986 ) e arritmias (BLUMHARDT, SMITH, OWEN, 1986) em pacientes com epilepsia do lobo temporal, enquanto que outros estudos relatam traçados eletrocardiográficos normais em grande número de pacientes com epilepsia (KEILSON et .al.,1986)

A correlação epilepsia/morte súbita não é de ocorrência tão rara quanto se acreditava (TERRENCE, WISOTSKEY, PERPER, 1975; FREYTARG & LINDENBERG, 1964; HIRSCH & MARTIN, 1971). Em uma análise de 66 casos de mortes súbitas associadas com crises epiléticas Leestma et. al. (1984), demonstraram que 40 % das vítimas morreram em seus leitos, o que exclui a possibilidade de morte acidental. Foi observada lesão cerebral em 60 % dos casos, provavelmente em virtude das crises epiléticas. O mecanismo que poderia explicar estas mortes envolveria arritmias cardíacas mediadas por eventos autonômicos que podem ocorrer durante as crises epiléticas.

De fato, alterações cardiovasculares e cerebrais verificadas em órgãos necropsiados de pacientes que morreram subitamente após crises epiléticas têm sido freqüentemente

descritas. Falconer e Rajs (1976) efetuaram necropsias em 9 pacientes que morreram sem causa aparente, com detalhamento macro e microscópico dos corações e cérebros destes pacientes. Foi observado edema cerebral, dilatação e hipertrofia cardíaca, fibrose miocárdica associada com atrofia ou degeneração miofibrilar, além de lesões vasculares características de condição pós-hipóxia, similares a uma cardiomiopatia isquêmica, também observada no infarto do miocárdio (DASHEIFF & DICKINSON, 1986).

Além das alterações anatômicas e funcionais relatadas acima, evidências mostram também um aumento na atividade do sistema nervoso simpático durante as crises epiléticas. Benowitz et. al. (1986) demonstraram em ovelhas adultas portadoras de epilepsia induzida pela bicuculina um aumento nos níveis plasmáticos de catecolaminas (noradrenalina e adrenalina), o que levou a um aumento inicial nas pressões sistêmica (sistólica e diastólica) na artéria pulmonar e na frequência cardíaca.

As arritmias induzidas por crises epiléticas podem contribuir para aumentar o risco de morte súbita em pacientes com epilepsia quando comparados com a população geral (EARNEST et. al., 1992) Elas têm sido registradas mais frequentemente na epilepsia do lobo temporal do que em outros tipos de epilepsias (BLUMHARDT, SMITH, OWEN, 1986; . VAN RIJCKEVORSEL, SAUSSO, DEBARSY, 1995).

Vários dados na literatura mostram a presença de taquicardia ictal em pacientes com crises parciais complexas de origem no lobo temporal. Marshal et. al. (1983), descreveram 12 pacientes que foram monitorados através de video-EEG e ECG simultaneamente, observando a ocorrência de taquicardia durante as crises epiléticas. Paralelamente, Zijlmans et. al. (2002) observaram que ocorre um aumento na frequência cardíaca de pelo menos 10 batimentos por

minuto um pouco antes do início das crises em 93% dos pacientes; em 23% das crises (49% dos pacientes) a taquicardia precedeu o início clínico e eletrográfico das crises.

Alguns dados clínicos sugerem o envolvimento do sistema nervoso parassimpático durante as crises epiléticas, evidenciado por bradicardia sinusal (KIOK et. al., 1986). Entretanto, a bradiarritmia é menos freqüente do que a taquiarrítmia (HOWELL & BLUMHARDT, 1989; EPSTEIN, SPERLING, O'CONNOR, 1992; LIEDHOLM & GUDJONSSON, 1992; . DEVINKSY, PACIA, TATAMBHOTLA, 1997).

#### **1.4.2 Medicamentos Antiepiléticos e Função Cardiovascular**

Por outro lado, vários estudos têm correlacionado o uso de antiepiléticos com alterações da função cardiovascular (TOMSON et. al., 1996). A fenitoína apresenta propriedades antiarrítmicas e deprime a hiperatividade dos nervos simpáticos cardíacos (LATHERS & SCHRAEDER, 1982). Já a carbamazepina aumenta o tônus simpático do sistema nervoso autônomo (DEVINKSY, PERRINI, THEODORE, 1994). Essa mesma droga ainda é conhecida por diminuir a condução atrioventricular, podendo assim aumentar o risco de arritmias (HERZBERG, 1978). Paralelamente, a carbamazepina e a oxcarbazepina podem causar secreção inapropriada do hormônio antidiurético, causando hiponatremia, fenômeno que pode estar associado com o quadro de morte súbita nas epilepsias (KLOSTER, BORRESEN, HOFF-OLSEN, 1998). Os benzodiazepínicos (ex. clonazepam) têm sido associados com o aumento do risco de morte súbita em crianças principalmente com encefalopatias associadas (SANKAR & HOLMES, 2004). Esse fenômeno pode estar relacionado a quadros de disfagia, infecções recorrentes do trato respiratório (por hipersecreção brônquica), refluxo gastroesofágico e aspiração, especialmente pelo aumento da

salivação, um efeito colateral importante desses medicamentos (RINTAHAKA et. al., 1999).

## 2. OBJETIVOS

---

A epilepsia é a doença neurológica crônica mais comum na população mundial e pacientes portadores desta patologia apresentam uma maior incidência de morte súbita quando comparados com a população geral.

Utilizando o modelo de epilepsia induzido pela pilocarpina, o objetivo deste trabalho é analisar, através de duas abordagens metodológicas desenvolvidas em nosso núcleo de pesquisa, a frequência cardíaca e a pressão ventricular do coração de ratos com epilepsia e compará-las com ratos normais, com o intuito de verificar uma possível correlação entre o fenômeno de morte súbita nas epilepsias e a atividade intrínseca do coração.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

---

#### **3.1. Animais**

Para a realização deste trabalho utilizamos 12 ratos machos, da raça Wistar, adultos, pesando entre 200 e 250g no início dos experimentos divididos em dois grupos iguais: controle (n=06) e com epilepsia (n=06). Os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de São Paulo e confinados no Biotério Central da Universidade de Mogi das Cruzes. Os animais ficaram alojados em grupos de cinco ratos, em gaiolas apropriadas, onde tiveram livre acesso à comida e água. As condições do biotério obedecem a um ciclo claro-escuro de 12 horas (claro: 7:00h - 19:00h), sendo a temperatura ambiente mantida constante entre  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ .

#### **3.2. Substâncias Químicas Envolvidas**

As drogas utilizadas neste trabalho serão discriminadas a seguir, de acordo com a procedência: Pilocarpina (Merck S.A. Indústrias Químicas) e metil escopolamina (Da Sigma Chemica Co.). O cloridrato de pilocarpina foi dissolvido em uma concentração de 40mg/ml, enquanto que a metil-escopolamina, em uma concentração de 0,4mg/ml.

#### **3.3. Indução do Modelo de Epilepsia Induzida pela Pilocarpina**

Para obtenção de animais com epilepsia (período crônico do modelo da pilocarpina) utilizamos o modelo da pilocarpina. No desenvolvimento deste trabalho utilizou-se a dose de 350 mg/kg para todos os animais. Esta droga foi injetada intraperitonealmente e os seus efeitos

foram observados e classificados segundo a metodologia descrita por Turski et. al (1983a) os quais já foram previamente descritos na introdução deste estudo.

Todos os animais injetados com pilocarpina, foram pré-tratados sub-cutaneamente com metil-escopolamina (1 mg/kg), 30 minutos antes de injeção da pilocarpina. A administração da metil-escopolamina teve por finalidade atenuar os efeitos periféricos provocados pela injeção de pilocarpina.

Os ratos tanto do grupo controle quanto do submetido ao modelo tinham 60 dias de idade no início dos experimentos Um período de 50 dias foi esperado como forma de assegurar que os ratos sobreviventes ao período agudo estivessem na fase crônica do modelo, visto que nosso biotério não esta equipado com sistema de captação de imagem em tempo integral.

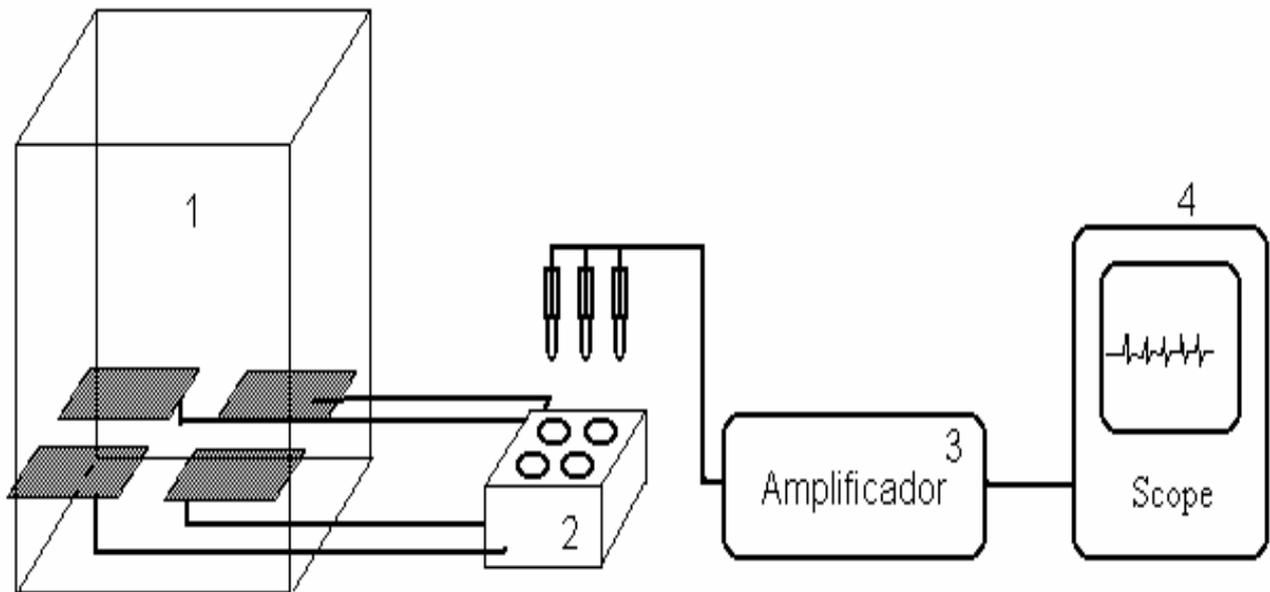
Após este período os ratos estavam prontos para o inicio das análises dos parâmetros cardíacos.

### **3.4. Medição da Frequência Cardíaca *in vivo***

Para se estudar a frequência cardíaca (FC) dos ratos com e sem epilepsia, utilizamos uma montagem (Figura 1), já testada em nosso laboratório, que nos permite monitorar a atividade elétrica do animal, sem que os eletrodos sejam presos em seu corpo. Isto é de fundamental importância, pois qualquer objeto preso ao corpo do animal, incomodando-o, pode stressá-lo e provavelmente alterar sua FC outra vantagem é que este aparato apresenta valor reduzido visto que foi todo construído (exceto o osciloscópio) em nosso laboratório

utilizando materiais de baixo custo.

Esta montagem visa simular o ambiente do rato de laboratório, ela é composta basicamente por uma caixa de acrílico opaco, plataformas de aço inoxidável, uma caixa comutadora, um amplificador de biopotenciais e um osciloscópio.



**Figura 1:** esquema do sistema de medição de  $f_c$ : 1) caixa de acrílico com eletrodos de captação; 2) comutador dos eletrodos; 3) amplificador; 4) osciloscópio.

A caixa de acrílico tem 170mm de largura por 115mm de profundidade por 230mm de altura e possui 4 fendas laterais por onde os eletrodos de aço inox são introduzidos. Estes, são peças cortadas de uma folha de 1mm de espessura, com 60mm de largura e 170 mm de comprimento, dobradas de forma a se sustentarem na caixa com o peso do animal.

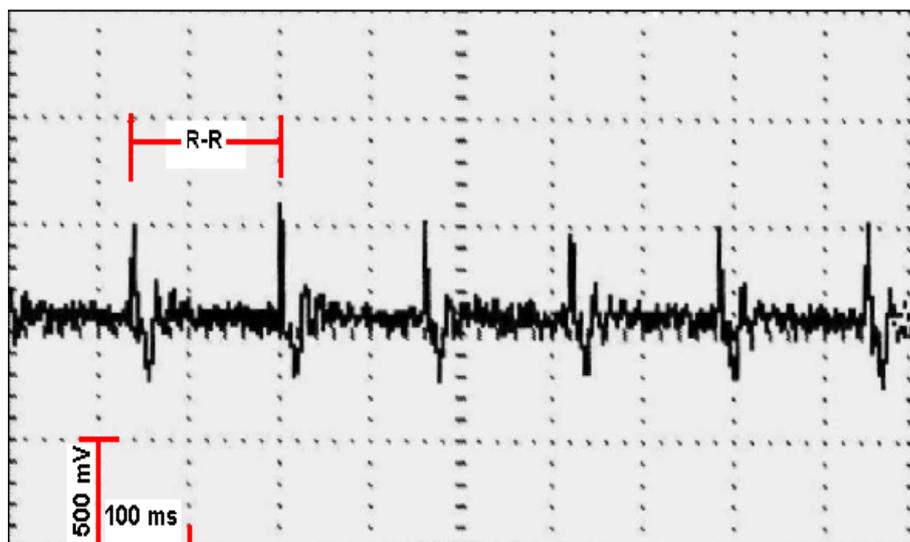
Ligado a cada eletrodo temos um fio cuja terminação é conectada a um dos conectores da caixa de comutação. Esta caixa tem como função possibilitar que as entradas do amplificador sejam trocadas manualmente, de acordo com a posição do animal dentro da caixa. A situação ideal (melhor visualização da atividade elétrica do coração no osciloscópio) é aquela na qual as duas patas dianteiras do animal estão ligadas às duas entradas do

amplificador diferencial, e uma das patas traseiras está ligada à referência do amplificador. No entanto, vale salientar também que já obtivemos bons registros em outras situações.

### 3.4.1 Método para coleta da FC *in vivo*

O animal é colocado dentro da caixa de acrílico, previamente limpa, com uma solução de 1mM de ácido acético. A limpeza com ácido, seguida de secagem com papel toalha é fundamental para eliminar odores provenientes do animal anterior.

Nos primeiros minutos, o rato apresenta-se agitado, movimentando-se pela caixa e farejando o ambiente. Posteriormente, o rato passa a se movimentar com menos intensidade e frequência. Após 15 minutos, tempo estipulado para habituação do rato à caixa, é iniciada então a comutação dos *plugs* dos cabos do amplificador conectores da caixa de comutação, com o objetivo de se obter um sinal que possibilite facilmente o reconhecimento dos picos do complexo QRS do ECG do animal (Figura 2). Este procedimento é simples, levando em média 2 minutos. A frequência cardíaca instantânea, em Hz, é simplesmente o inverso do intervalo RR ( $I_{R-R}$ ) medido em segundos.



**Figura 2** - Registro típico obtido com rato Wistar adulto.

### **3.5. Estudo dos corações isolados**

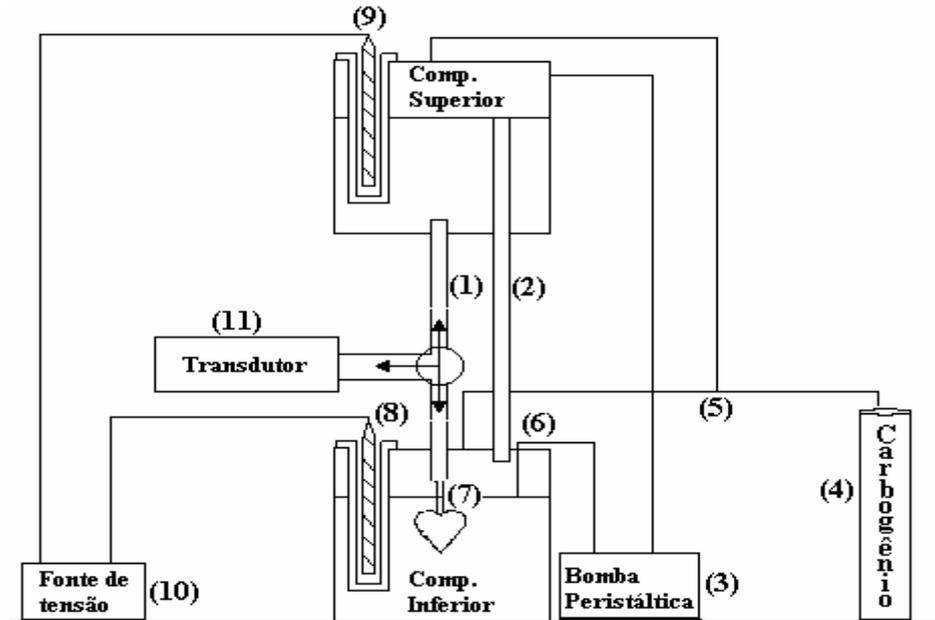
#### **3.5.1 Soluções**

Durante a limpeza do coração e no começo dos experimentos utilizamos a solução de Krebs-Henseleit (KH) com a seguinte composição (em mM ): NaCl 126,4 ; KCl 4,6 ; KH<sub>2</sub>PO 1,2; MgSO<sub>4</sub> 1,2; NaHCO<sub>3</sub> 13,6 ; CaCl<sub>2</sub> 1,5 ; GLICOSE 11,11 , pH 7,4 a 36 °C, saturado com 95% de O<sub>2</sub> , 5% de CO<sub>2</sub>.

#### **3.5.2 A Câmara Experimental**

Foi utilizada uma câmara experimental (Figura 3), desenvolvida em nosso laboratório, que permite a realização dos experimentos de forma bastante controlada e reprodutível. Esta câmara permite que:

- a) O coração isolado seja mantido sob perfusão com solução fisiológica, de forma retrógrada pela aorta (preparação de Langendorf);
- b) A temperatura da solução seja controlada;
- c) A solução seja continuamente borbulhada com Carbogênio (95%O<sub>2</sub> + 5%CO<sub>2</sub>) de modo que o pH seja mantido constante.
- d) A pressão desenvolvida pelo ventrículo esquerdo durante a sístole seja monitorada.



**Figura 3** - Figura esquemática da câmara experimental. Ao centro, temos o compartimento inferior e superior, interligado por uma mangueira de perfusão (1) e uma mangueira lateral (2), (3) bomba peristáltica, (4) cilindro de carbogênio, (5) e (6) mangueiras para condução de carbogênio e circulação da solução respectivamente, (7) cânula para a aorta, (8) e (9) resistências, (10) fonte de tensão (11) transdutor de pressão.

### 3.5.3. Monitoração da pressão ventricular e da frequência cardíaca

Como mostrado na figura 3, um transdutor de pressão (TP) está acoplado a uma derivação do duto que leva a solução de perfusão até o coração, em um ponto próximo à cânula. A pressão medida pelo transdutor durante as contrações é amplificada e registrada em um osciloscópio digital com interface para impressora. A partir destes registros, pudemos levantar os dados relevantes para caracterizar a atividade mecânica dos corações: a frequência cardíaca espontânea (Hz), convertida posteriormente para bpm, e a pressão máxima desenvolvida pelo ventrículo esquerdo (mmHg).

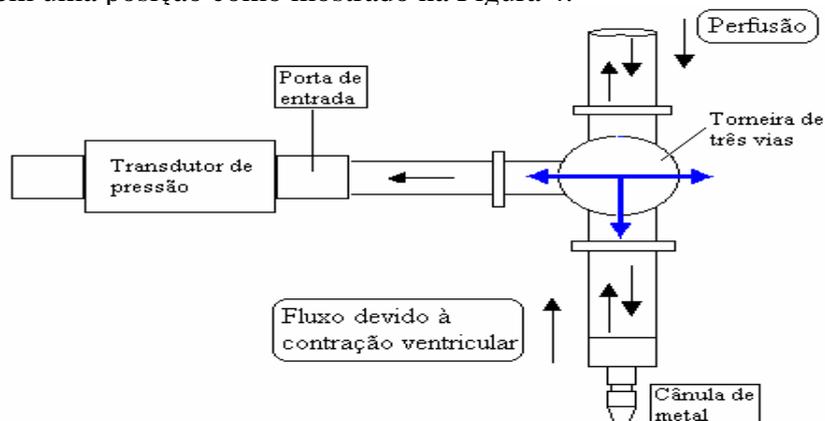
### 3.6. Metodologia de Medição

Apesar do sistema de medição poder medir pressões absolutas, optamos por estudar

apenas a variação da pressão intraventricular promovida pelo coração durante sua contração, e não os valores de pressão diastólica e sistólica. Esta opção foi feita pois a pressão de base, medida quando o coração não está contraindo, esta relacionada muito mais com a altura da coluna de perfusão que utilizamos, do que com a pressão diastólica do coração. Para evitar qualquer tipo de confusão posteriormente, chamaremos a variação da pressão intraventricular apenas de pressão (P).

Enquanto o coração está sendo perfundido, a cada contração, o ventrículo esquerdo exerce uma pressão e faz a solução fluir em sentido contrário ao da perfusão, provocando uma P na câmara do transdutor. O TP capta esta pressão (um sinal mecânico) e gera um sinal elétrico proporcional à mesma. Assim, para cada contração, temos um sinal elétrico proporcional à pressão e à frequência cardíaca. No entanto, este sinal não corresponde a uma contração isovolumétrica, pois a solução que se encontra dentro do ventrículo flui em direção retrógrada pela mangueira de perfusão.

Para que pudéssemos registrar um sinal proporcional a P e a frequência cardíaca, modificávamos a posição da válvula de forma a impedir o fluxo retrógrado da solução, colocando-a em uma posição como mostrado na Figura 4.



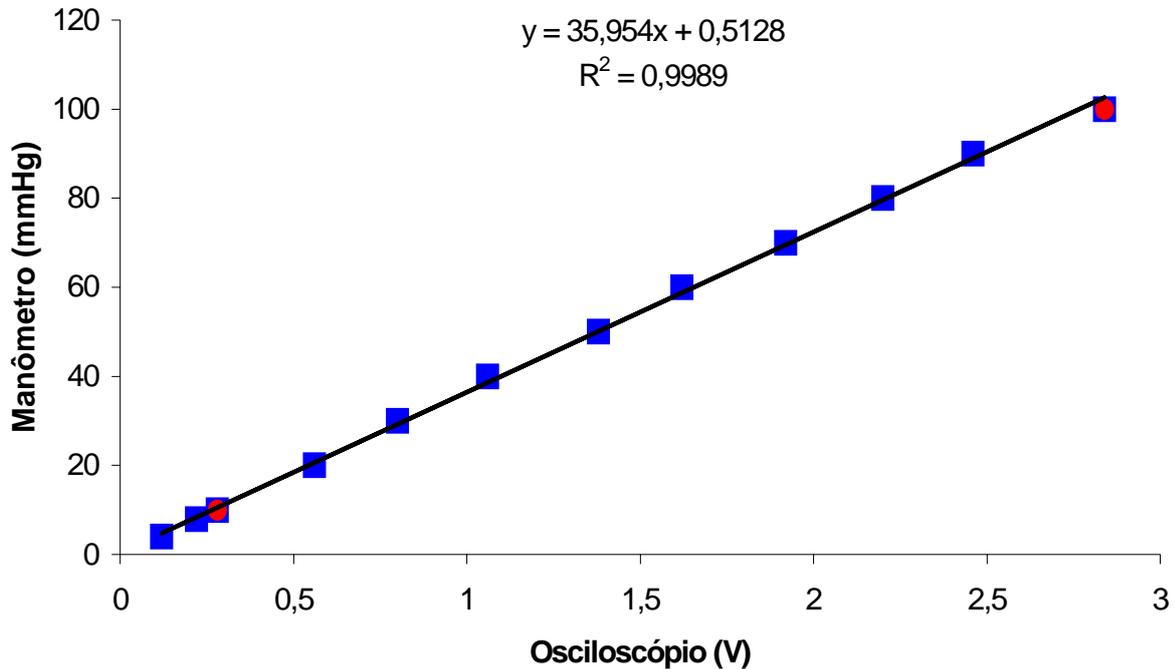
**Figura 4** - Desenho esquemático da posição da torneira de 3 vias durante medição da pressão intraventricular. O coração, preso a cânula de metal, exerce uma pressão quando contrai que é transmitida até o transdutor de pressão pela solução fisiológica.

Assim, durante a medição da P e da FC, a torneira de três vias permanece aberta apenas em dois sentidos (transdutor e coração). Como podemos notar (Figura 5), o sinal vai decrescendo com o tempo. Isso se dá, pois, como a via de perfusão esta fechada, a cada contração, um pouco da solução que se encontrava no transdutor acaba perfundindo o coração e se perdendo para o meio. Para termos o valor de P durante uma contração isovolumétrica utilizamos apenas a amplitude do primeiro sinal.

### **3.7. Curva de Calibração do Sistema**

Para que pudéssemos converter o sinal de saída do amplificador (V), em pressão (mmHg), levantamos uma curva de calibração do sistema, utilizando um esfigmomanômetro (aparelho utilizado para medir pressão arterial em seres humanos) para gerar uma pressão conhecida.

A montagem experimental foi preparada normalmente, com solução, bomba peristáltica, controle de temperatura, TP, amplificador, osciloscópio e registrador, como se fossemos trabalhar com um coração. Após a montagem completa realizamos uma simulação do coração, conectando a mangueira do esfigmomanômetro à cânula. Com o esfigmomanômetro aplicávamos uma pressão conhecida em mmHg. Em resposta à pressão aplicada obtínhamos a leitura de uma tensão em mV no osciloscópio. Com os dados (pressão X tensão) levantamos uma curva de calibração apresentada na Figura 5.



**Figura 5-** Curva de calibração do sistema de medição da pressão intraventricular. Ao alto temos a equação da reta e a correlação obtida após regressão linear.

A correlação  $r$  e a reta de regressão estão estreitamente relacionadas. A correlação  $r$  é o coeficiente angular da reta quando medimos  $x$  e  $y$  em unidades padronizadas (mede a intensidade e a direção da relação linear entre duas variáveis). O quadrado da correlação,  $r^2$ , é a fração da variação dos valores de  $y$ , devida a variações em  $x$ , (MOORE, 2000).

Através da regressão linear, obtivemos a equação (Eq 1) que nos permite obter  $P$  a partir da medida de  $V$ .

$$P \text{ (mmHg)} = 35,954V \text{ (V)} + 0,5128V \quad \text{Eq 1}$$

Os sinais elétricos registrados em papel são medidos e, substituídos um a um na equação 1 e assim convertidos em pressão (mmHg).

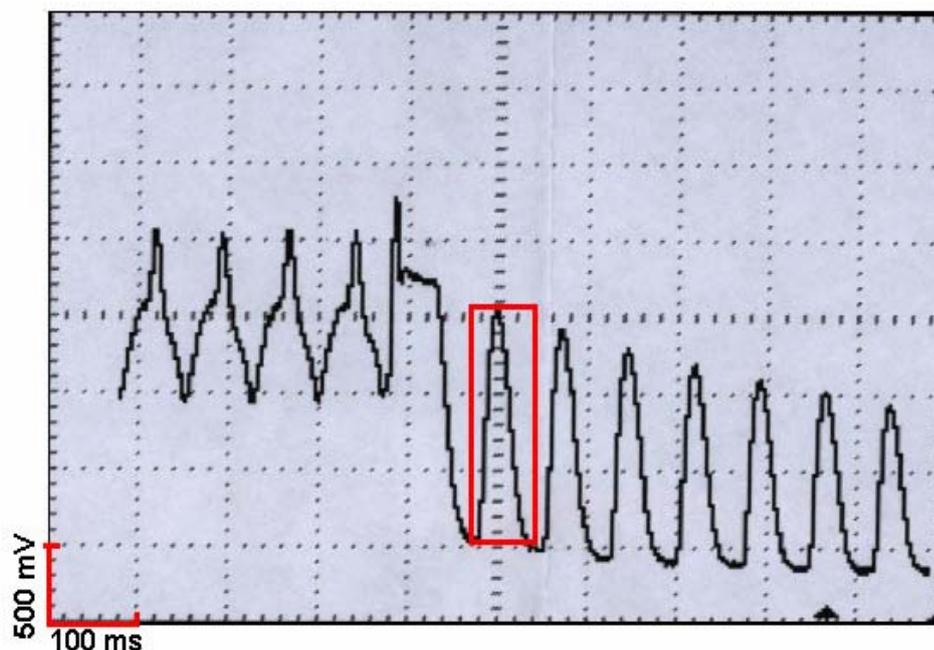
É importante ressaltar que os valores obtidos com este procedimento de calibração

concordaram com os sinais obtidos ao utilizarmos os dois botões de autocalibração do TP representados em vermelho na Figura 5.

### 3.8. Preparação da amostra e Protocolo Experimental

Cada animal foi sacrificado por concussão cerebral. O coração foi retirado e imerso em solução KH, de modo que o sangue pudesse sair de suas câmaras e vasos. Em cada grupo, N, o número de animais, deve ser entre 5 e 8, dependendo da variabilidade dos dados obtidos.

Uma vez que o coração teve suas câmaras e vasos limpos, sua aorta foi canulada e ele foi montado na câmara experimental. O coração foi então perfundido retrogradamente com KH, até alcançar o equilíbrio, o que tipicamente ocorreu entre 15 e 30 minutos. Porém, para maior segurança, a coleta foi realizada aos 40 minutos. O registro obtido no osciloscópio (Figura 6) foi então impresso e analisado posteriormente.



**Figura 6-** Registro da pressão exercida na coluna de líquido pela contração do ventrículo. A região destacada em vermelho apresenta a onda analisada. O formato de onda encontrado imediatamente antes da região destacada se deve ao movimento de fechamento da torneira de três vias.

### 3.9. Análise de dados

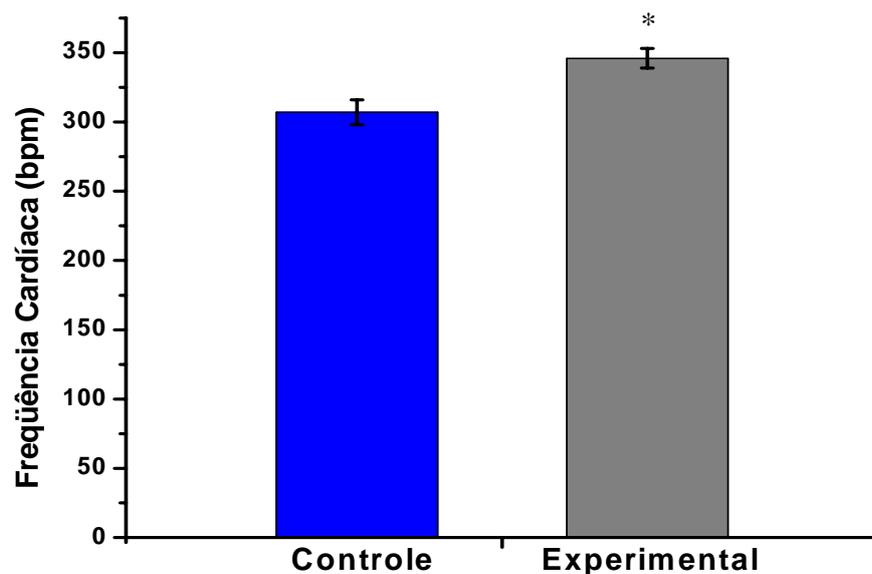
Para determinar se houve ou não diferença estatística, entre os animais dos grupos estudados, foi utilizado o teste T *student*. Para cada um dos parâmetros, frequência cardíaca e pressão, consideramos diferenças estatisticamente significativas entre os grupos quando  $p < 0,05$ .

## 4. RESULTADOS

---

### 4.1. Frequência Cardíaca *in vivo*

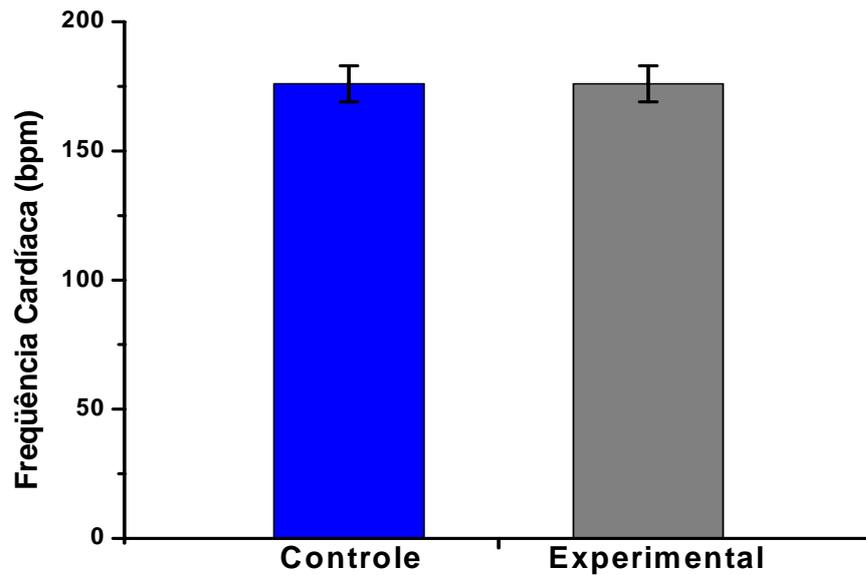
Os resultados obtidos mostram que a FC *in vivo*, ou seja sob influência do sistema nervoso autônomo, de base de animais com epilepsia é, em média, maior ( $346 \pm 7$  bpm) quando comparadas com os animais pertencentes ao grupo controle ( $307 \pm 9$  bpm). A análise estatística mostra significância entre as diferenças dos grupos ( $p= 0,0054 / t= 3,50869$ ) (Figura 7).



**Figura 7-** Médias e erros padrão das médias da FC de ratos sem e com epilepsia (*in vivo*)

### 4.2. Frequência Cardíaca *in vitro*

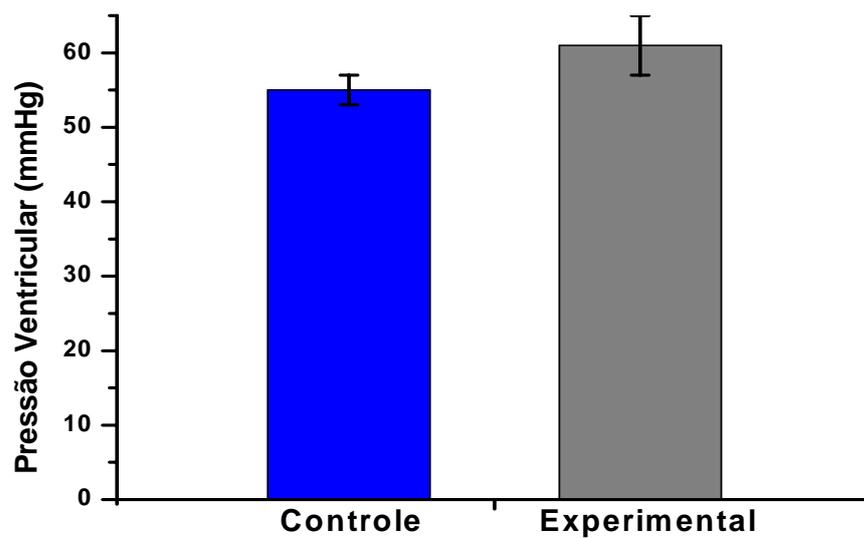
As médias das FC *in vitro* dos ratos com epilepsia ( $176 \pm 6$  bpm) e dos controles ( $175 \pm 7$  bpm) não apresentaram diferenças significativas ( $p= 0,99913 / t= -0,00112$ ) (Figura 8).



**Figura 8-** Médias e erros padrão das médias da FC de corações isolados de ratos sem e com epilepsia (*in vitro*)

#### 4.3. Pressão Ventricular *in vitro*

Como apresentado na Figura 9, as pressões ventriculares de corações isolados de ratos com epilepsia apresentaram, em média, valores mais altos ( $61 \pm 4$  mmHg) que os corações isolados de ratos sem epilepsia ( $55 \pm 2$  mmHg), porém não há significância estatística ( $p=0,29216 / t= 1,112$ ).



**Figura 9-** Médias e erros padrão das médias da pressão ventricular de corações isolados de ratos sem e com epilepsia (*in vitro*)

## 5. DISCUSSÃO

---

O objetivo principal deste estudo foi avaliar se os corações de ratos com epilepsia apresentavam alterações intrínsecas capazes de aumentar risco de morte súbita. Nesse sentido, foram controladas variáveis como idade, sexo e tempo de patologia, permitindo analisar a FC tanto sob influência modulatória do sistema nervoso central (*in vivo*) quanto sem esta influência (*in vitro*). Nossos resultados mostraram que os valores da FC *in vivo* estão elevados nos animais com epilepsia ( $342 \pm 8$  bpm) quando comparados com os animais pertencentes ao grupo controle ( $296 \pm 7$  bpm). Por outro lado, os valores obtidos *in vitro* de ambos os grupos, tanto de FC quanto da PV, não mostraram diferenças significativas  $p = 0,99913$  para FC *in vitro* e  $p = 0,29216$  para PV *in vitro*.

A inclusão de uma anormalidade cardíaca como causa de morte súbita entre portadores de epilepsia não é um evento simples, pois a existência de cardiopatia hipertrófica, miocardite, anormalidades do sistema de condução elétrica e outros substratos patológicos só podem ser detectados através de exames histológicos (COHLE et. al., 2002; CONRADO et. al., 2001). Nesse sentido, vários trabalhos que verificaram as possíveis alterações do sistema cardiovascular em pacientes portadores de epilepsia que morreram subitamente não indicam os métodos utilizados (THOM et. al., 2003; KLOSTER e ENGELSKJON, 1999; LEESTMA et. al., 1989, 1997; NILSSON et. al., 1999; SALMO e CONNOLLY, 2002). Além disso, para que uma necropsia mais detalhada possa ser realizada, o estado de decomposição do tecido é de fundamental importância, no entanto, em vários estudos histológicos, fatores como o tempo entre a morte e a análise não são mencionados (THOM et. al., 2003; KLOSTER e ENGELSKJON, 1999; LEESTMA et. al., 1989, 1997; NILSSON et. al., 1999; SALMO e CONNOLLY, 2002; SHIELDS et. al., 2002).

Do ponto de vista morfológico, Painter e colaboradores (1993) mostraram a existência de hipertrofia cardíaca em 8 de 10 pacientes portadores de epilepsia que morreram após um episódio de *status epilepticus*. Paralelamente, a ocorrência de outras alterações também foram demonstradas por outros autores, como fibrose das artérias coronárias, fibrose do miocárdio, atrofia dos miócitos, degeneração miofibrilar, fibrose subendocardial, infiltração de leucócitos, edema de tecido condutor e anormalidades morfológicas do sistema de condução (KLOSTER & ENGELSKJON, 1999; NATELSON et. al., 1998; FALCONER & RAJS, 1976; OPESKIN et. al., 2000).

Seguindo essa linha de pensamento, estudos experimentais mostraram a ocorrência de hipertrofia cardíaca 8 a 12 dias à indução de *status epilepticus* em ratos através da injeção de lítio/pilocarpina. Neste estudo os autores sugerem que o tempo em que os animais permaneciam em *status epilepticus* não era um fator determinante no aumento da hipertrofia (WALTON et. al., 1993).

Como citado anteriormente, há vários estudos que estudam a função cardíaca durante as crises epiléticas, utilizando-se para isto, o monitoramento simultâneo através do ECG e EEG. É importante salientar que este tipo de trabalho é capaz de analisar de maneira fidedigna os eventos modulatórios do sistema cardiovascular, porém, não é possível afirmar se o tecido cardíaco dos pacientes com epilepsia apresenta qualquer anormalidade intrínseca que sugira algum risco aparente de morte súbita. As crises epiléticas estão geralmente associadas a um aumento da frequência cardíaca (OPHERK et. al., 2002; KEILSON et. al., 1987; NEI et. al., 2000) e o monitoramento concomitante do ECG/EEG de pacientes com epilepsia revelou a existência de arritmias nos mesmos (KEILSON et. al., 1987). Nesse sentido, a ocorrência de

depressão do segmento S-T e um prolongamento do segmento Q-T foi detectado nesses indivíduos (TAVENOR et. al., 1996; TIGARAN et. al., 2003)

Durante o período interictal, os resultados obtidos em nosso estudo corroboram com os dados de Drake et. al. (1993). Esses autores investigaram os ECGs de 75 pacientes com epilepsia e encontraram uma FC mais elevada quando comparada com indivíduos da mesma idade e sem patologia cardíaca e neurológica associada. Este trabalho ainda mostrou que os pacientes com crises parciais complexas apresentam FC mais elevada quando comparadas com pacientes com crises generalizadas.

A origem anatômica da atividade epiléptica no SNC também é um aspecto interessante para ser abordado. Uma atividade epiléptica com origem na amígdala, giro cíngulo e córtex insular tem sido relacionadas com indução de arritmias como: taquicardia supraventricular, taquicardia sinusal, bradicardia sinusal, bloqueio átrio-ventricular e assístole. (Devinsky et al.,1994). Dessa maneira, como o hipocampo e a amígdala são estruturas do sistema límbico altamente conectadas entre si, poderemos sugerir que a perda neuronal e a reorganização sináptica existente na formação hipocampal dos animais com epilepsia no modelo da pilocarpina (MELLO et. al., 1993; CAVALHEIRO, 1995) pode ser um dos fatores responsáveis pelo aumento da FC encontrado em nosso trabalho. Paralelamente, um estudo recente desenvolvido por Ansakorpi et. al. (2004) mostrou que pacientes com epilepsia do lobo temporal, com e sem a presença de esclerose mesial temporal, apresentam alterações da variabilidade da FC e das respostas de reflexos cardiovasculares, sugerindo que as estruturas do lobo temporal desempenham um papel importante na regulação de parâmetros cardíacos.

Além das alterações anatômicas e funcionais, evidências mostram também um aumento na atividade do sistema nervoso simpático durante as crises epiléticas (BENOWITZ et al., 1986). Além disso, trabalhos posteriores com seres humanos sugerem um aumento da atividade simpática cardiovascular em pacientes portadores de epilepsia tanto no período ictal quanto interictal, corroborando com os dados iniciais citados acima (DEVINSKY et. al., 1994; FAUSTMAN e GANZ, 1994). Como em nosso trabalho encontramos apenas alteração da FC *in vivo* nos animais com epilepsia, podemos sugerir que sob a influência do sistema nervoso autônomo, o coração dos animais cronicamente epiléticos pode apresentar alterações funcionais que aumentam a probabilidade de ocorrência de morte súbita em epilepsia.

O aumento considerado dos níveis plasmáticos de troponina pode ser um importante marcador de lesão do tecido cardíaco (GIBBONS et al., 2004). Woodruff et. al. (2003) não encontraram alterações nos níveis plasmáticos de troponina em pacientes portadores de epilepsia, sugerindo dessa maneira, a ausência de lesão miocárdica nesses indivíduos. No entanto, como esses pacientes apresentaram uma elevação da FC, os autores sugerem que a possível causa primária de morte súbita nos pacientes com epilepsia deve estar relacionada com a presença de um evento arritmogênico. Nesse sentido, nossos resultados estão de acordo com a proposta de Woodruff et. al., pois provavelmente os corações dos ratos com epilepsia também não devem apresentar alterações intrínsecas que sugiram risco aparente de morte súbita nesses animais, indicando que a causa mais plausível para este evento se relacione à atividade modulatória do coração. Por outro lado, não realizamos um estudo histológico em nosso trabalho e as análises realizadas *in vivo* não permitem quantificar as atividades simpática e parassimpática do coração, pois a instrumentação não garante que a FC seja captada por um longo período, o que seria necessário para uma análise efetiva da variabilidade da frequência cardíaca. Sendo assim, futuros trabalhos desenvolvidos em nosso laboratório poderão elucidar

com mais precisão o fenômeno de morte súbita nas epilepsias.

## 6. CONCLUSÃO

---

- 1) Os corações de ratos com epilepsia, não apresentam sua autoritmicidade e função contráctil alteradas intrinsecamente, na medida que só foi encontrada alteração da frequência cardíaca *in vivo*.
  
- 2) Sob a influência do sistema nervoso autônomo, este órgão pode apresentar alterações funcionais que aumentam a probabilidade de ocorrência de morte súbita em epilepsia.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- ALBRIGTH, P.S.; BURNHAM, W.M. & OKUXAKI, M. – Effect of atropine sulfate on amygdaloid kindling in the rat. **Exp. Neurol.** 66: 409-412, 1979.
- ANNEGERS, J. F., COAN,S.P., SUDEP: overview of definitions and review of incidence data. **Seizure**, 8, 347-52, 1999.
- ANNEGERS, J. F., HAUSER, W. A., SHIRTS, S. B. Heart disease mortality and morbidity in patients with epilepsy. **Epilepsia**. 25: 699-704, 1984.
- ANSAKORPI, H.,KORPELAINEN, JT., TANSKANEN, P., HUIKURI, H.V., KOIVULA, A., TOLONEN, U., PYHTINEN, J., MYLLYLÄ, V.V., ISOJARVI, J.I.,. Cardiovascular regulation and hippocampal sclerosis. **Epilepsia** 45(8), 933-9, 2004.
- BABB, T.L. & BROWN, W.J. Pathological findings in epilepsy. In: Surgical treatment of epilepsies. Ed. Engel, Jr. J. pp. 511-540, 1987.
- BENOWITZ, N. L. & SIMON, R. P. Status Epilepticus: Divergence of Sympathetic Activity and Cardiovascular Response. **Ann Neurol.** 19: 197-199, 1986.
- BLUMHARDT, L.D.; SMITH, P.E.M.;OWEN, L. Electrocardiographic accompaniments of temporal lobe epileptic seizures. **Lancet**, 1052-1055, 1986.
- BRENNER, C. & MERRIT, H.H. – Effect of certain choline derivatives on electrical activity of the cortex. **Arch. Neurol. Psychiatr.**, 48: 382-395, 1942.
- CAVALHEIRO, E.A.; SANTOS, N.F., PRIEL, M.R. – The Pilocarpine of Epilepsy in Mice – **Epilepsia**, **37** (10): 1015-1019, 1996.
- CAVALHEIRO, E.A.; LEITE, J.P.; BORTOLOTTI, Z.A.; TURSKI, W.A.; IKONOMIDOU, C.; TURSKI, L. Long-term effects of pilocarpine in rats: Structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. **Epilepsia**. 32(6): 778-782, 1991.
- CAVALHEIRO, E.A.; BORTOLOTTI, Z.A.; CALDERAZZO FILHO, L.S. - 2-Amino-7-Phosphonoheptanoate retards the development of amygdala kindling in rats. In: Cavalheiro, E.A.; Lehmann, J. & Turski, L., ed. - Frontiers in excitatory amino acid research. **Neurology and Neurobiology**, vol. 46. Alan R. Liss, New York, p.243-249, 1988.

CAVALHEIRO, E.A & CAMARGO-LIMA, J. G. S.. – Neurotransmissores e epilepsia. **Revista Brasileira de Neurologia**, 20 (2): 51-55, 1984.

CAVALHEIRO, E.A.; CZUCCZWAR, S.J.; KLEINOK, A.; TURSKI, L.; TURSKI, W.A. Intracerebral cholinomimetics produce seizure-related brain damage in rats. **Brit. J. Pharmacol**, 79:284, 1983.

CHEN, P. S., CHEN, L. S., CAO, J. M., SHRIFI, B., KARAGUEUZIAN, H. S., FISHBEIN, M. C. Sympathetic nerve sprouting, electrical remodeling and the mechanisms of sudden cardiac death. **Cardiovascular Research**, 50, p. 409-416, 2001.

CLIFFORD, D.B.; OLNEY, J.W.; MANIOTIS, A.; COLLINS, R.C. & ZORUMSKI, C.F. – The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. **Neuroscience**, 23: 952-968, 1987.

COHEN, R. L.; MORLEY, B.J.; SNEAD, O.C. - An EEG analysis of convulsive activity produced by cholinergic agents. **Progr. Neuro-Psychopharmacol**. 5:383-388, 1981.

COHLE, S.D., SUAREZ-MIER, M.P., AGUILERA, B., Sudden death resulting from lesions of the cardiac conduction system. *Am J Forensic Med Pathol*. 23(1), 83-9, 2002.

Comission on Classification and terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. **Epilepsia**, 30: 389-399, 1989.

Comission on Classification and Terminology of The International League Against Epilepsy Proposal for Revised Clinical and Electroencephalographic Classification of Epileptic Seizures. **Epilepsia**, 22: 489-501, 1981.

CORCORAN, M. E. – Studies of some neuchemicals and kindling. In: **Kindling** 3. Wada, ed. Raven press, New York, pp333-347, 1986.

CORRADO, D., BASSO, C., THIENE, G., Sudden cardiac death in young people with apparently normal heart. *Cardiovasc Res*. 50(2), 399-408, 2001.

DASHEIFF, R. M. E DICKINSON, R. N. Sudden Unexpected Death of Epileptic Patient due to Cardiac Arrythmia After Seizure. **Arch Neurol**. 43: 194-6, 1986.

DAVIS, W.M. & HATOUM, N.S. – Synergism of the toxicity of phisostigmine and neostigmine by lithium or by a reserpine-like agent (Ro4-1284). **Toxicology**, 17: 1-7, 1980.

DEVINKSY, O. D.; PACIA, S.; TATAMBHOTLA, G. Bradycardia and Asystole Induced by Partial **Seizures**: A case report and literature review. *Neurology*. 48: 1712-1714, 1997.

DEVINKSY O.D., PERRINI K, THEODORE W.H. Interictal autonomic nervous system functions in patients with epilepsy. *Epilepsia*; 35: 199-204, 1994.

DEVINKSY, O.; PRINCE, B.H.; COHEN, S.I. Cardiac manifestations of complex partial seizures. **Am. J. Med.**, 80: 195-202, 1986.

DODRILL, C. B.; WILKUS, R. F.; OJEMANN, G. A.; WARD, A.A.; WYLER, A. R.; VAN BELLE, G.; TAMAS, L. Multidisciplinary prediction of seizure relief from cortical resection surgery. **Ann Neurol**, 20:2, 1986.

DRAKE, M.F, RAIDER, C.R., KAY, A., "Electrocardiography in epilepsy patients without cardiac symptoms", **Seizure** 2, 63-65, 1993.

EARNEST, P.E.; THOMAS, G.E.; EDEN, R.A; HOSSACK, K.F. The sudden unexplained death syndrome in epilepsy: demographic, clinical, and postmortem features. **Epilepsia**, 33: 310-316, 1992.

ELWES, R.D.S.; JOHNSON, A.L.; SHORVON, A.D. & REYNOLDS, E.H. – The prognosis for seizure control in newly diagnosed epilepsy. **N. Engl. J. Med.**, 311: 944-947, 1984.

EPSTEIN, M. A.; SPERLING, M. R.; O'CONNOR, M. J. Cardiac Rhythm During Temporal Lobe Seizures. **Neurology**. 42: 50-53, 1992.

FALCONER, B. E RAJS, J. Post-Mortem Findings of Cardiac Lesions in Epileptics: **A Preliminary Report. Forensic Science**. 8: 63-71, 1976.

FAUSTMANN, P.M., GANZ, R.E., Central cardio-autonomic disorganization in interictal states of epilepsy detected by phase space analysis. *Int J Neurosci* 78(1-2), 43-7, 1994.

FERNANDES, J.G.; SCHMIDT, M.I.; TOZZI, S., SANDER, J.W.A.S. – Prevalence of epilepsy: The Porto Alegre study. **Epilepsia**, 33 (supl 3): 132, 1992.

FICKER, D.M., SO, E.L., SHEN, W.K., ANNEGERS, J.F., O'BRIEN, P.C., CASCINO, G.D., BELAU, P.G., Population-based study of the incidence of sudden unexplained death in epilepsy. *Neurology* 51(5),1270-4, 1998.

FREYTARG, E. & LINDENBERG, R. 294 medicolegal autopsies in epileptics. **Arch Pathol**. 78: 274- 86, 1964.

FRYSINGER, R.C., ENGEL, J., HARPER, R.M., Interictal heart rate patterns in partial seizure disorders. *Neurology* 43(10), 2136-9, 1993.

FORSTER, F.M. – Action of acetylcholine on motor cortex. Correlation of effects of acetylcholine and epilepsy – *Arch. Neurol. Psychiatr.*, 54: 391-394, 1975.

GORDON, N. Sudden unexpected death in epilepsy. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 43: 354-357, 2001.

GROSSMAN, S.P. – Chemically induced epileptiform seizure in the cat. **Science**, 142: 409-411, 1963.

HAUSER, W. A. & KURLAND, L. T. The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 – 1968. **Epilepsia**. 1 :1, 1975.

HERZBERG L. Carbamazepine and bradycardia. **Lancet**; :1097-1098, 1978.

HILLS, M. J., DEVINSKY, O., DOYLE, W., MAUERER, A., DÜTSCH, M. Decrease of sympathetic cardiovascular modulation after temporal lobe epilepsy surgery. **Brain**, 125, p 985-995, 2002.

HIRSCH, C. S. & MARTIN, D. L. Unexpected death in young epileptics. **Neurology (NY)**. 21: 682-90, 1971.

HOWELL, S. J. L. & BLUMHARDT, L. D. Cardiac Asystole Associated with epileptic seizures: A case report with simultaneous EEG and ECG. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**. 52: 795-798, 1989.

JALLON, P.; GOUMAZ, M., HAENGELLI, C. & MORABIA, A. – Incidence of first epileptic seizure in the canton of Geneva, Switzerland. **Epilepsia**, 38 (5): 547-552, 1997.

JOPE, R.S.; SIMONATO, M & LALLY, K. – Acetylcholine content in the rat brain is elevated by status epilepticus induced by lithium and pilocarpine. **J. Neurochem**. 49: 944-951, 1987.

KEILSON, M.J.; HAUSER, W.A.; MAGRILL, J.P. GOLDMAN, M. EcG abnormalities in patients with epilepsy. **Neurology**, 37:1624-1626, 1987.

KIOK, M. C.; TERRENCE, C. F.; FROMM, G. M.; LAVINE, S. Sinus arrest in epilepsy. **Neurology**. 36: 115-6, 1986.

KISH, S.J.; OLIVIER, A.; DUBEAU, F.; ROBITAILLE, Y. & SHERWIN, A. L. – Increased

activity of choline acetyltransferase in actively epileptic human cerebral cortex. **Epilepsy Res.**, 2: 227-231, 1988.

KLEINROK, Z & TURSKI, L. – Kainic acid-induced wet dog shakes in rats. The relation to central neurotransmitters. **Naunyn-Schimiedebergs Arch. Pharmacol.**, 314: 37-46, 1980.

KLEINROK, Z & TURSKI, L. – Wet dog shakes in rats produced by kainic acid injection into the lateral brain ventricle. **Naunyn-Schimiedebergs Arch. Pharmacol.**, 308: R42, 1979.

KLOSTER, R., ENGELSKJON, T., Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP): a clinical perspective and a search for risk factors. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 67(4), 439-44, 1999.

KLOSTER R, BORRESEN HC, HOFF-OLSEN P. Sudden death in two patients with epilepsy and the SIADH. **Seizure**; 7: 419-420, 1998.

KOCHEN,S. – Cost of antiepileptic drugs. **Lancet**, 347: 266, 1996.

LATHERS, C.M. & SCHRAEDER, P.L. Autonomic dysfunction in epilepsy: characterization of autonomic cardiac neural discharge associated with pentylenetetrazol-induced epileptogenic activity. **Epilepsia**, 23: 633-647, 1982.

LEESTMA, J.E., ANNEGERS, J.F., BRODIE, M.J., BROWN, S., SCHRAEDER, P., SISCOVICK, D., WANNAMAKER, B.B., TENNIS, P.S., CIERPIAL, M.A., EARL, N.L., Sudden unexplained death in epilepsy: observations from a large clinical development program. *Epilepsia* 38(1), 47-55, 1997.

LEESTMA, J.E., WALCZAK, T., HUGHES, J.R., KALELKAR, M.B., TEAS, S.S., A prospective study on sudden unexpected death in epilepsy. *Ann Neurol* 26(2), 195-203, 1989.

LEESTMA, J. E.; KALELKAR, M. B.; TEAS, S. S.; JAY, G. W.; HUGHES, J. R. Sudden Unexpected Death Associated with Seizures: Analysis of 66 cases. **Epilepsia**. 25(1): 84-88, 1984.

LEITE, J.P. & CAVALEIRO, E.A. – Effects of conventional antiepileptic drugs in a model of spontaneous recurrent seizures in rats. **Epilepsy Research**, 20: 93-104, 1995.

LEITE, J.P.; BORTOLOTTI, Z.A. & CAVALHEIRO, E.A. – Spontaneous recurrent Seizures in Rats: Na Experimental Model of Partial Epilepsy. **Neuroscience & Behavioral Reviews**, 14: 511-517, 1990.

LEMOS, T. & CAVALHEIRO, E.A. – Status epilepticus and the late develop[ment] of

spontaneous seizures in the pilocarpine model of epilepsy – Progressive Nature of Epileptogenesis. **Epilepsy Research**, (Suppl. 12) 127-143, 1994.

LI, S.C.; SCHOENBERG, B.S.; WANG, C.C.; CHEN, X.M.; ZHOU, S.S. & BOLIS, C.L. – Epidemiology of epilepsy in urban areas of the People's Republic of China. **Epilepsia**, 26: 391-394, 1985.

LIEDHOLM, L. J. & GUDJONSSON, O. Cardiac Arrest Due to Partial Epileptic Seizures. **Neurology**. 42: 824-829, 1992.

LUNDY, P. M. & SHAW, R. K. Modification of cholinergically induced convulsive activity and cyclic GMP levels in the CNS. **Neuropharmac**, 22: 55-63, 1983.

MARSHALL, D. W.; WESTMORELAND, B. F.; SHARBROUGH, F. W. Ictal Tachycardia During Temporal Lobe Seizures. **Mayo Clin Proc**. 58: 443-446, 1983.

MATTSON, R.H.; CRAMER, J.A.; COLLIS, J.F.; SMITH, D.B.; DELGADO-ESCUETA, A.V.; BROWN, T.R.; WILIAMSON, P.D.; TRIMAN, D.M.; McNAMARA, J.O.; McCUTCHEN, C.B.; HOMAN, R.W.; CRILL, W.E.; LUBOZYNSKI, M.F.; ROSENTAL, N.P. AND MAYERSDORF, A. – Comparison of carbamazepine, phenobarbital, phenytoin, and primidone in partial and secondarily tonic-clonic seizures. **N. Engl. J. Med.**, 313: 145-151, 1985.

McNAMARA, J. O. Cellular and molecular basis of epilepsy. **The Journal of Neuroscience**, 14: 3413-3425, 1994.

MELDRUM, B.S. – Pharmacological approaches to the treatments of epilepsy. In: **New Anticonvulsant drugs. Currents problems in epilepsy**. B.S. Meldrum and R.J. Porter, eds. John Libbey, London, 4, pp. 17-30, 1986.

MELLO, L.E.A.; CAVALHEIRO, E.A.; BABB, T.L.; KUPFER, W.R. Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy. Cell loss and mossy fiber sprouting. **Epilepsia**, 34: 985-995, 1993.

MILLER, F.R.; STAVRAKY, G.W. & WOONTON, G.A. – Effects of eserine, acetylcholine and atropine on the electrocorticogram. **The Journal of Neurophysiology**, 3: 131-138, 1968.

MUNSON, J.F. Death in epilepsy. **Med Rec**. 77, 58-62, 1910.

NADI, N.S.; PORTER, R.J. & WYLER, A.R. – Choline acetyltransferase, glutamate decarboxylase, and tyrosine hydroxylase in the human epileptic focus – **Neurology**, 37:

S106, 1987.

NASHEF, L. Sudden unexpected death in epilepsy: terminology and definitions. **Epilepsia**; 38 (suppl):s6-s8, 1997.

NASHEF, L.; FISH, D.R.; GARNER, S.; SANDER, J.W.A.S.; SHORVON, S.D. Sudden death in epilepsy: a study of a incidence in a young cohort with epilepsy and learning difficulty. **Epilepsia** 36, 1187-1194, 1995.

NATELSON, B.H., SUAREZ, R.V., TERRENCE, C.F., TURIZO, R., Patients with epilepsy who die suddenly have cardiac disease. *Arch Neurol* 55(6), 857-60, 1998.

NATELSON, B.H. AND CHANG, Q. Sudden death: a neurocardiologic phenomenon. **Neurol Clin**, 11: 293-308, 1993.

NATELSON, B.H. Neuro-cardiology: an interdisciplinary area for the eighties. **Arch Neurol**, 42:178-184, 1985.

NEI, M., HO, R.T., ABOU-KHALIL, B.W., DRISLANE, F.W., LIPORACE, J., ROMEO, A., SPERLING, M.R., EEG and ECG in sudden unexplained death in epilepsy. *Epilepsia* 45(4):338-45, 2004.

NILSSON, L., FARAHMAND, B.Y., PERSSON, P.G., THIBLIN, I., TOMSON, T., Risk factors for sudden unexpected death in epilepsy: a case-control study. *Lancet* 353, 888-93, 1999.

OLNEY, J.W.; COLLINS, R.C. & SLOVITER, R.S. – Excitotoxic mechanism of epileptic brain damage. **Advances in Neurology**, 44: 857-977, 1986.

OLNEY, J.W.; DE GUBAREFF, T.; LABRUYERE, J. - Seizure-related brain damage induced by cholinergic agents. **Nature**. 301:520-522, 1983.

OPHERK, C.; COROMILAS, J.; LAWRENCE, J.H.; Heart rate and EKG changes I 102 seizures: analysis of influencing factors. **Epilepsy Research**, 52, 117-127, 2002.

OPEKIN, K.; THOMAS, A.; BERKOVIC, S.F. Does cardiac conduction pathology contribute to sudden unexpected death in epilepsy?. **Epilepsy Research**, 40, 17-24, 2000.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD – Aplicación de los progresos de las neurociencias en la lucha contra los trastornos neurológicos: Informe de un grupo de estudio de la OMS. **Serie de Informes Tecnicos**, 629, 1978.

OSUNTOKUN, B.O.; ADEUJA, A. O. G.; NOTTIDGE, V.A. & SCHOENBERG, B.S. – Prevalence of the epilepsies in nigerian africans: A community-based study. **Epilepsia**, 28 (3): 272-279, 1987.

PAGE, C.P.; CURTIS, M.J.; SUTTER, M.C.; WALKER, M.J.A. & HOFFMAN, B.B. – As Drogas e o Sistema Nervoso – In: **Farmacologia Integrada**. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, pp. 93-151. 1999.

PAINTER, J.A., SHIEL, F.O., DELORENZO, R.J.,. Cardiac pathology findings in status epilepticus. **Epilepsia** 34 (suppl. 6), 30, 1993.

PEDLEY, T.A.; SCHEUER, M.L. & WALCZAK, T.S. – Epilepsia – In: **Merritt Tratado de Neurologia** – 9. ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan. 1997.

POPE, A.; MORRIS, A.A.; JASPER, H.; ELLIOT, K.A.C. & PENFIELD, W.- Histochemical and action potential studies in epileptogenic areas of cerebral cortex in man and the monkey. **Res. Publ. Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis.**, 26: 218-231, 1947.

PURPURA, D.P.; PENRY, J.K.; TOWER, D.; WOODBURY, D.L. & WALTER, R. – **Experimental Models of Epilepsy: A Manual for Laboratory Worker**. New York, Raven Press, 1972.

RINTAHAKA P.J., NAKAGAWA J.A., SHEWMON D.A., KYIRONEN P, SHIELDS W.D. Incidence of death in patients with intractable epilepsy during nitrazepam treatment. **Epilepsia**; 40: 492-496, 1999.

ROBINSON, R. – Cost benefit analisys – **BMJ**, 307: 924-926, 1993.

RODIN, E. A. The Prognosis of Patients With Epilepsy. Springfield, Illinois: **Charles C. Thomas**, 1968.

SALMO, E.N., CONNOLLY, C.E., Mortality in epilepsy in the west of Ireland: a 10-year review. *Ir J Med Sci* 171(4),199-201, 2002.

SAMPLES, J.R.; JONOWSKI, D.S.; PECHNICK, R. & JUDD, L.L. – Lethal effects of phisostigmine plus lithium in rats. **Psychopharmacology**, 52: 307-309, 1977.

SAMSON, F.E.; PAZDERNICK, T.L.; CROSS, R.S.; CHURCHILL, L.; GIESLER, M.P. & NELSON, S.R. – Brain regional activity and damage associated with organosphosphate induced seizures: Effects of atropine and banactyzine. **Proc. West. Pharmacol. Soc.**, 28; 183-185, 1985.

SANDER, J.W.A.S. & SHORVON, S.D. – Incidence and prevalence studies in epilepsy and their methodological problems: A review. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.**, 50: 839-839, 1985.

SANKAR, R., HOLMES, G.L. Mechanisms of action for the commonly used antiepileptic drugs: relevance to antiepileptic drug-associated neurobehavioral adverse effects, **J. Child Neurology**, 19 (Suppl 1): S6-S14, 2004.

SCORZA, F.A.; SANABRIA, E.R.G.; CALDERAZZO, L. & CAVALHEIRO, E.A. – Glucose utilization Interictal Intervals in a Epilepsy Model Induced by Pilocarpine: A Qualitative Study. **Epilepsia**, 39 (10): 1041-1045, 1998.

SHIELDS, L.B., HUNSAKER, D.M., HUNSAKER, J.C. 3rd, PARKER, J.C.Jr., Sudden unexpected death in epilepsy: neuropathologic findings. **Am J Forensic Med Pathol** 23(4), 307-14, 2002.

SJÖSTRAND, T. – Potential changes in the cerebral cortex of the rabbit arising from cellular activity and the transmission of impulses in the white matter. **The Journal of physiology (Lond.)**, 90: 41P-45P, 1937.

TAVERNOR, S.J., BROWN, S.W., TAVERNOR, R.M., GIFFORD, C.,. Electrocardiograph QT lengthening associated with epileptiform EEG discharges--a role in sudden unexplained death in epilepsy? **Seizure** 5(1), 79-83, 1996.

TENNIS, P.; COLE, T.B.; ANNEGERS, J.F.; LEESTMA, J.E.; MCNUTT, M.; RAJPUT, A. Cohort study of incidence of sudden unexplained death in persons with seizure disorder treated with antiepileptic drugs in Saskatchewan, Canada. **Epilepsia**, 36: 29-36, 1995.

TERRENCE, D. F. JR, WISOTSKEY, H. M., PERPER, J. A. Unexpected, unexplained death in epileptic patients. **Neurology (NY)**. 25: 594-8, 1975.

THOM, M., SEETAH, S., SISODIYA, S., KOEPP, M., SCARAVILLI, F., Sudden and unexpected death in epilepsy (SUDEP): evidence of acute neuronal injury using HSP-70 and c-Jun immunohistochemistry. **Neuropathol Appl Neurobiol**. 29(2), 132-43, 2003.

TOMSON T, ERICSON M, IHRMAN C, LINDBLAD LE. Heart rate variability in patients with epilepsy. **Epilepsy Research**, 30, 77-83, 1998.

TOWER, D.B. & McEARCHERN, D. – Acetylcholine and cholinesterase activity in cerebrospinal fluid of patients with epilepsy. **Can. J. Res**, E27: 120-131, 1949.

TURSKI, W.A.; CAVALHEIRO, E.A.; COIMBRA, C.; BERZAGHI, M.P.; TURSKI-IKONOMIDOU, C. & TURSKI, L. – Only certain epileptic drugs prevent seizures induced by

pilocarpine. *Brain research Reviews*, 1987.

TURSKI, W.A.; CAVALHEIRO, E.A.; BORTOLOTTI, Z.A.; MELLO, L.E.; SCHWARZ, M.; TURSKI, L. Seizures produced by pilocarpine in mice: behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. **Brain Res**, 321:237-253, 1984.

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

TURSKI, W.A.; CAVALHEIRO, E.A.; TURSKI, L.; KLEINROK, Z. Intrahippocampal bethanechol in rats: behavioral, electroencephalographic and neuropathological correlates. **Behav. Brain Res**. 7:361-370, 1983b.

TURSKI, W.A.; CZUCSWAR, S.J.; TURSKI, L. & KLEINROK, Z. – Systemic pilocarpine produces limbic seizures and brain damage in mice. **Neurosci. Lett. Supp.** 14: 380s, 1983c.

TURSKI, W.A.; CZUCSWAR, S.J.; KLEINROK, Z. & TURSKI, L. – Cholinomimetics produce seizures and brain damage in rats. **Experimentia**, 39: 1408-1411, 1983d.

TURSKI, L; CZUCSWAR, S.J.; TURSKI, W.A. & KLEINROK, Z. – Induction of wet dog shakes by intracerebroventricular bethanechol in rats. Antagonism by neurotransmitter receptor blockers. **Pharmacology**, 24: 105-110, 1982

TURSKI, L; CZUCSWAR, S.J.; TURSKI, W.A. & KLEINROK, Z. – Studies of carbachol-induced wet dog shakes behavior in rats. **Psychopharmacology**, 73: 81-83, 1981.

VAN RIJCKEVORSEL, K. SAUSSO, F. DEBARSY, T. Bradicardia, na epileptic ictal manifestation. **Seizure**, 4: 237-239, 1995.

VENOGOPAL, M. & PERSINGER, M.A. – Conditioned taste aversion is reduced in rats with a history of lithium/pilocarpine-induced limbic seizures. **Neuroscience Letters**, 90: 177-180, 1988.

VOSU, H & WISE, R.A. - Cholinergic seizure kindling in the rat: comparison of caudate, amygdala and hippocampus. **Behav. Biol.** 13:491-495, 1975.

WALTON, N.Y., RUBINSTEIN, B.K., TREIMAN, D.M.,. Cardiac hypertrophy secondary to status epilepticus in the rat. **Epilepsy Res.** 20(2), 121-4, 1995.

WESTERBERG, V.; LEWIS, J. & CORCORAN, M.E. – Depletion of noradrenaline fails to

affect kindled seizures. **Exp. Neurol.**, 84 (11): 237-240, 1984.

WOLF, H.K. & WIESTLER, O.D. – Surgical pathology of chronic epileptic seizure disorders. **Brain Pathol.**, 3: 371-380, 1993.

WOLF, H.K.; MÜLLER, M.B.; SPÄLE, M.; ZENTLER, J.; SCHRAMM, J. & WIESTLER, O.D. – Ganglioglioma: a detailed histopathological and immunohistochemical analysis of 61 cases. **Acta Neuropathol.**, 88: 166-173, 1994.

WOODBURRY, L. A. Shortening of the life span and mortality of patients with of epilepsy. **Plan for nationwide action on epilepsy**. Vol. IV. Publication n° (NIH) 78: 276, 1978.

WOODRUFF, M.D et. al.. Cardiac troponin levels following monitored epileptic seizures, **Neurology**, 60: 1690-1692, 2003.

ZIELINSKI, J. J. Epilepsy and mortality rate and cause of death. **Epilepsia**. 15: 191-201, 1974.

ZIJLMANS M, FLANAGAN D, GOTMAN J. Heart rate changes and ECG abnormalities durring epileptic seizures: prevalence and definition of an objective clinical sign. **Epilepsia**; 43(8):847-54, 2002.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)