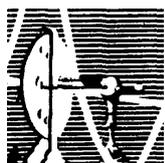


# **JOÃO BAPTISTA MASCARENHAS DE MORAES NETO**

## **ESTUDO FARMACOLÓGICO DA DEPRESSÃO ALASTRANTE: O EFEITO DE DROGAS ANTIEPILÉPTICAS UTILIZADAS NA PROFILAXIA DA MIGRÂNEA**

**TESE SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO  
DE JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE  
DOUTOR EM CIÊNCIAS**



Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Centro de Ciências da Saúde  
Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho  
2 0 0 9

UFRJ /2009

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**ESTUDO FARMACOLÓGICO DA DEPRESSÃO ALASTRANTE:  
O EFEITO DE DROGAS ANTIEPILÉPTICAS UTILIZADAS NA  
PROFILAXIA DA MIGRÂNEA**

**TESE DE DOUTORADO A SER APRESENTADA NO  
PROGRAMA DE NEUROBIOLOGIA DO  
INSTITUTO DE BIOFÍSICA CARLOS CHAGAS FILHO**

**JOÃO BAPTISTA MASCARENHAS DE MORAES NETO  
ORIENTADOR: LENY A. CAVALCANTE  
CO-ORIENTADOR: HISS MARTINS FERREIRA**

**RIO DE JANEIRO, 2009**

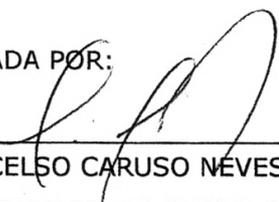
"Estudo farmacológico de depressão alastrante: o efeito de drogas antiepilépticas utilizadas na profilaxia da migrânea."

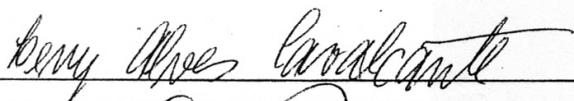
# JOÃO BAPTISTA MASCARENHAS DE MORAES NETO

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO VISANDO A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS

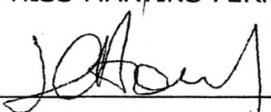
RIO DE JANEIRO, 10 DE SETEMBRO DE 2009.

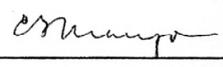
APROVADA POR:

  
\_\_\_\_\_  
PROF. CELSO CARUSO NEVES (DOUTOR – U.F.R.J)  
COORDENADOR DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
(FISIOLOGIA)

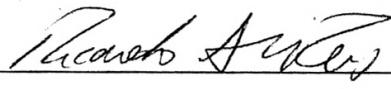
  
\_\_\_\_\_  
PROFª. LENY ALVES CAVALCANTE (DOUTOR – U.F.R.J) – ORIENTADORA

  
\_\_\_\_\_  
PROF. HISS MARTINS FERREIRA (DOUTOR – U.F.R.J) - ORIENTADOR

  
\_\_\_\_\_  
PROF. JEAN CHRISTOPHE HOUZEL (DOUTOR - U.F.R.J) – REVISOR

  
\_\_\_\_\_  
PROFª. ELIZABETH GIESTAL DE ARAUJO (DOUTOR – U.F.F)

  
\_\_\_\_\_  
PROFª. PATRICIA FRANCA GARDINO (DOUTOR – U.F.R.J)

  
\_\_\_\_\_  
PROF. RICARDO AUGUSTO DE MELO REIS (DOUTOR – U.F.R.J)

**João Baptista Mascarenhas de Moraes Neto.**

**Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia), Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Fisiologia).**

**ORIENTADOR: LENY A. CAVALCANTE**

**CO-ORIENTADOR: HISS MARTINS FERREIRA**

**Rio de Janeiro**

**Junho/2009**

## Ficha Catalográfica

Mascarenhas de Moraes, João Baptista Neto.

**Estudo farmacológico da depressão alastrante: o efeito de drogas antiepilépticas utilizadas na profilaxia da migrânea.**

João Baptista Mascarenhas de Moraes Neto. Rio de Janeiro: UFRJ/IBCCF, 2009.

ORIENTADOR: LENY A. CAVALCANTE.

CO-ORIENTADOR: HISS MARTINS FERREIRA.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro/IBCCF, Programa de Pós -  
Graduação em Ciências Biológicas (Fisiologia), 2009.

1. Introdução, 2. Objetivos, 3. Materiais e Métodos, 4. Fases do Trabalho  
5. Resultados, 6. Discussão, 7. Conclusões, 8. Perspectivas futuras, 9.

Referências Bibliográficas, 10. Apêndices, 11. Anexo. I. Leny A. Cavalcante, II.  
UFRJ/IBCCF, III. Estudo farmacológico da depressão alastrante:  
o efeito de drogas antiepilépticas utilizadas na profilaxia da migrânea.

## **DEDICATÓRIA**

**A meus pais e meus avôs pelo apoio e exemplo de vida.**

**À minha esposa Verusca pelo carinho e compreensão.**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço o privilégio de poder ter conhecido e convivido alguns anos com o Professor Hiss Martins-Ferreira. Foram poucos anos, porém suficientes para modificar a minha maneira de pensar do ponto de vista científico.

Agradeço aos professores e técnicos do laboratório Aristides Leão, em especial ao técnico Luciano e a Profa. Marília Netto, que muito me ajudaram no trabalho aqui desenvolvido.

Agradeço aos professores e técnicos do laboratório de Neurobiologia do Desenvolvimento.

Agradeço a aluna de pós-graduação do IBCCF Márcia Lopes, pelo apoio e ajuda para a realização do trabalho aqui desenvolvido.

Agradeço ao Prof. Ricardo Reis pelo interesse e apoio ao meu trabalho.

Agradeço, em especial, a Profa. Leny A. Cavalcante pelo interesse e apoio para a realização do trabalho aqui desenvolvido.

Agradeço ao Prof. Marcos Vinícius Minucci também pelo apoio e interesse em meu trabalho.

***Esta Tese foi realizada nos Laboratórios Aristides Leão e de Neurobiologia do Desenvolvimento do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ.***

**“A natureza não pos limite ao aperfeiçoamento das faculdades humanas. A perfectibilidade do homem é, na verdade, infinita e o seu progresso não tem outro limite senão o da duração do universo no qual a natureza nos lançou.”**

**(Condorcet, 1743 – 1794, em “Esboço de um quadro histórico do espírito humano”, 1795)**

**“Faz-se ciência com os fatos, como se constrói uma casa com pedras; mas um punhado de fatos não é uma ciência, assim como um montão de pedras não é uma casa.”**

**(H. Poincaré, 1854 – 1912, em Ciência e Hipótese, 1902)**

**“Cada homem tem seu lugar no mundo e no tempo que lhe é concedido. Sua tarefa nunca é maior que a sua capacidade para poder cumpri-la”**

**(João Guimarães Rosa, 1908 – 1967)**

## RESUMO

Neste trabalho estudamos os efeitos de drogas antiepiléticas, também utilizadas na profilaxia da migrânea, na depressão alastrante (DA) em retinas isoladas de pintos (*Gallus gallus domesticus*). Foram estudadas cinco drogas eficazes na modulação da transmissão GABAérgica: Topiramato, Divalproato, Gabapentina, Lamotrigina e Levetiracetam. Utilizamos retinas, mantidas a 30-31°C em câmara de superfusão, com fluxo de uma solução Ringer de referência de 1,0 – 1,8 ml/min.; a DA foi evocada por estímulos mecânicos e químicos, a cada 15 minutos. Foram aferidos, a velocidade (mm/min.), a amplitude (mV), o limiar de deflagração (atividade de KCl) e o período refratário absoluto (em segundos) da DA com e sem o uso das drogas estudadas. Subsequentemente, foram aferidos, *in vivo*, os parâmetros de velocidade e amplitude da DA, também com e sem as drogas. Adicionalmente determinou-se a atividade da enzima GABA-transaminase, com e sem as drogas. Todos os fármacos, em especial o Topiramato, reduzem, de modo reversível e concentração-dependente, a velocidade e a amplitude da DA *in vivo* e *in vitro*. Todas as drogas aumentam, reversivelmente, o limiar de deflagração para a DA, após estímulos com KCl, em concentrações específicas bem como o período refratário absoluto da DA. O Topiramato foi considerado a droga mais efetiva no contexto dos parâmetros propostos o Levetiracetam, apesar de seu mecanismo *sui generis*, mostrou-se a menos efetiva. A enzima GABA-T apresenta sua atividade diminuída, na presença de Topiramato, Divalproato e Gabapentina. Estes resultados reforçam o conceito de que a DA seria um fator subjacente e relevante para o disparo da migrânea.

Palavras chave: **depressão alastrante, drogas antiepiléticas, migrânea.**

## ABSTRACT

In this study, we analyze the effects of antiepileptic drugs, also used in migraine prophylaxis, on the spreading depression (SD) in isolated retina of chick' (Gallus *gallus domesticus*). We studied five drugs with proven effect on the modulation of GABAergic transmission: Topiramate, Valproate semisodium, Gabapentin, Lamotrigine and Levetiracetam. Chicks retinas were kept at 30-31°C in superfusion chamber, with a flow of 1,0 – 1,8 ml/min. of a Ringer's reference solution, and the reaction was evoked by mechanical or chemical stimuli, every 15 minutes. Using this model, we first measured the speed (mm/min.), the amplitude (mV), the threshold (activity of KCl) and the absolute refractory period (sec) of the SD, with and without the drugs. Subsequently, the speed and amplitude parameters were analyzed in an *in vivo* model, also with and without drugs under study. In addition, the GABA-transaminase enzyme activity was determined, with and without drugs. All drugs, particularly Topiramate, reduced the speed and amplitude in a dose-dependent and reversible manner *in vitro* as well as *in vivo*. All the drugs also reversibly increased the SD threshold for the SD after stimulation with KCl in specific concentrations. All the tested drugs increased reversibly the absolute refractory period. Topiramate was considered the most effective drug in terms of the proposed parameters. Levetiracetam, in spite of its *sui generis* mechanisms of action, was the less effective drug. The enzyme GABA-transaminase displayed slightly decreased activity, in the presence of Topiramate, Valproate semisodium and Gabapentin. These results reinforce the notion that SD is a subjacent and relevant factor for the triggering of migraine.

**Key Words : spreading depression, antiepileptic drugs, migraine.**

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ACh – acetilcolina.
- DA – depressão alastrante.
- DAC – depressão alastrante cortical.
- DAE – drogas anti epiléticas.
- DAesp. – depressão alastrante espontânea.
- DAi – depressão alastrante com velocidade de propagação constante.
- DProp. – depressão alastrante propagada.
- DRef. – depressão alastrante de controle.
- DFH - difenilhidantoína.
- FSC – fluxo sanguíneo cerebral.
- GABA – ácido gamma-aminobutírico.
- GABA-T – transaminase do ácido aminobutírico.
- GAD – descarboxilase do ácido glutâmico.
- MGF – modulador de fenômenos GABAérgicos.
- MC – migrânea crônica.
- NAD – nicotinamida dinucleotídeo.
- NBT – tetrazolium nitro blue.
- RB – solução de Ringer básica.
- Rbi – solução de Ringer após lavagem.
- Rs – solução de Ringer simples.
- Rref. – Ringer referência.
- STV – Sistema trigêminovascular.
- TMS – estimulação magnética transcortical.
- TRIS – hydroxymethyl amino methane.
- TTX – tetrodotoxina.
- V – velocidade.
- VLV – variação lenta de voltagem.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Registro da variação lenta de potencial da depressão alastrante.....	08
Figura 2 : Histologia da retina.....	14
Figura 3 : Registro profundo e estudo de marcação com eletródios.....	17
Figura 4 : Principais tipos de aura visual.....	30
Figura 5 : Fluxo sanguíneo cerebral no cérebro de rato X depressão alastrante.....	38
Figura 6 : Possíveis mecanismos de ação das drogas antiepilépticas.....	43
Figura 7 : Mecanismos de ação das principais drogas profiláticas.....	44
Figura 8 : GABA shunt.....	51
Figura 9 : Esquema da câmara de superfusão .....	57
Figura 10 : Esquema da preparação de retina isolada.....	58
Figura 11 : Traçado representativo da variação lenta de voltagem.....	62
Figura 12 : Metodologia para a avaliação de efeito de redução da velocidade de propagação da DA.....	63

## ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS.

Tabela 1: Percentagem de redução da velocidade e amplitude em relação às DAs iniciais.....	72
Tabela 2: Limiar de deflagração do Divalproato.....	93
Tabela 3: Limiar de deflagração da Gabapentina.....	95
Tabela 4: Limiar de deflagração do Topiramato.....	97
Tabela 5: Limiar de deflagração da Lamotrigina.....	99
Tabela 6: Limiar de deflagração do Levetiracetam.....	101
Tabela 7: Comparativo (Limiar de deflagração).....	104
Tabela 8: Período refratário absoluto do Divalproato.....	106
Tabela 9: Período refratário absoluto da Gabapentina.....	107
Tabela 10: Período refratário absoluto do Topiramato.....	108
Tabela 11: Período refratário absoluto da Lamotrigina.....	110
Tabela 12: Período refratário absoluto do Levetiracetam.....	111
Tabela 13: Comparativo (Período refratário absoluto).....	112
Tabela 14: Resultados de experimentos <i>in vivo</i> – Divalproato.....	11
Tabela 15: Resultados de experimentos <i>in vivo</i> – Gabapentina.....	115
Tabela 16: Resultados de experimentos <i>in vivo</i> – Topiramato.....	115
Tabela 17: Resultados de experimentos <i>in vivo</i> – Lamotrigina.....	115
Tabela 18: Resultados de experimentos <i>in vivo</i> – Levetiracetam.....	116
Tabela 19: Comparativo (Resultados de experimentos <i>in vivo</i> ).....	186
Tabela 20: Resultados da Fase II (apêndice).....	177

## ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS.

Gráfico 1: Velocidade/concentração – Gabapentina. ....	75
Gráfico 2: Amplitude/concentração – Gabapentina. ....	76
Gráfico 3: Velocidade/concentração – Divalproato. ....	78
Gráfico 4: Amplitude/concentração – Divalproato. ....	79
Gráfico 5: Velocidade/"concentrações extremas" – Divalproato. ....	80
Gráfico 6: Amplitude/"concentrações extremas" – Divalproato. ....	81
Gráfico 7: Velocidade/concentração – Lamotrigina. ....	83
Gráfico 8: Amplitude/concentração – Lamotrigina. ....	84
Gráfico 9: Velocidade/concentração – Levetiracetam. ....	86
Gráfico 10: Amplitude/concentração – Levetiracetam. ....	87
Gráfico 11: Velocidade/concentração – Topiramato. ....	89
Gráfico 12: Amplitude/concentração – Topiramato. ....	90
Gráfico 13: Velocidade/"concentrações extremas"- Topiramato. ....	91
Gráfico 14: Amplitude/"concentrações extremas"- Topiramato. ....	92
Gráfico 15: Comparativo – Limiar de deflagração da DA. ....	105
Gráfico 16: Comparativo – Período refratário absoluto. ....	113
Gráfico 17: Comparativo – Experiências <i>in vivo</i> – velocidade. ....	117
Gráfico 18: Comparativo - Experiências <i>in vivo</i> – Amplitude. ....	117
Gráfico 19: Curva padrão de proteína. ....	118
Gráfico 20: Dosagem de atividade da GABA-T – Alta concentração de proteína. ....	120
Gráfico 21: Dosagem de atividade da GABA-T – Baixa concentração de proteína. ....	121
Gráfico 22: Dosagem de atividade da GABA-T – Média concentração de proteína. ....	122
Gráfico 23: Dosagem de atividade da GABA-T com drogas – proteína: 0,177mg <sub>a</sub> . ....	124
Gráfico 24: Dosagem de atividade da GABA-T com drogas – proteína:0,144mg. ....	125
Gráfico 25: Dosagem de atividade da GABA-T com drogas – proteína:0,156mg. ....	126
Gráfico 26: Dosagem de atividade da GABA-T com drogas – proteína:0,166mg. ....	127
Gráfico 27: Dosagem de atividade da GABA-T com drogas – proteína:0,177mg <sub>b</sub> . ....	128
Gráfico 28: Dosagem de atividade da GABA-T com drogas – proteína:0,115 mg. ....	129
Gráfico 29: Dosagem de atividade da GABA-T com drogas – curvas comparativas. ....	130
Gráfico 30: Análise de dados para a concentração de GABA em 1mM. ....	131
Gráfico 31: Análise de dados para a concentração de GABA em 10mM. ....	132
Gráfico 32: Análise de dados para a concentração de GABA em 24mM. ....	133
Gráfico 33: Análise de dados para a concentração de GABA em 97mM. ....	134
Gráfico 34: Análise de dados para todas as concentrações de GABA (1, 10, 24, 97). ....	135

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>x</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>xv</b>
<b>I.INTRODUÇÃO</b> .....	<b>01</b>
1.1. DEPRESSÃO ALASTRANTE – UM FENÔMENO DO SISTEMA NERVOSO .....	<b>01</b>
1.2. DEPRESSÃO ALASTRANTE – DESCRIÇÃO DO FENÔMENO .....	<b>06</b>
1.3. D.A. RETINIANA .....	<b>12</b>
1.4. ELICIAÇÃO DA D.A. ....	<b>18</b>
1.5. BLOQUEIO DA D.A. ....	<b>19</b>
1.6. PROPAGAÇÃO DA D.A. ....	<b>20</b>
1.7. INFLUÊNCIA DE AGENTES QUÍMICOS NA D.A. ....	<b>23</b>
1.8. MIGRÂNEA – EPIDEMIOLOGIA .....	<b>27</b>
1.9. MIGRÂNEA – FISIOPATOLOGIA .....	<b>31</b>
1.10. D.A. EM HUMANOS E A RELAÇÃO DO FENÔMENO DE LEÃO COM A AURA DA MIGRÂNEA .....	<b>33</b>
1.11.UTILIZAÇÃO DE DROGAS ANTIEPILÉPTICAS NA PROFILAXIA DA MIGRÂNEA .....	<b>39</b>
1.12. FARMACOLOGIA GABAÉRGICA E RECEPTORES PARA GABA .....	<b>50</b>
<b>II.OBJETIVOS.</b> .....	<b>54</b>
<b>III.MATERIAIS E MÉTODOS.</b> .....	<b>55</b>
3.1. ANIMAIS .....	<b>55</b>
3.2. PREPARO DO FRAGMENTO DE RETINA E SOLUÇÕES .....	<b>55</b>
3.3. CÂMARA DE SUPERFUSÃO .....	<b>56</b>
3.4. MICROELETRÓDIOS .....	<b>57</b>
3.5. DROGAS EM ESTUDO .....	<b>59</b>
3.6. DEFLAGRAÇÃO DA ONDA DE LEÃO .....	<b>60</b>

3.7. REGISTROS DA VARIAÇÃO LENTA DE VOLTAGEM (VLV) DA D.A. ....	60
3.8. MEDIDAS DE VELOCIDADE DE PROPAGAÇÃO DA D.A. ....	61
3.9. MEDIDAS DO PERÍODO REFRACTÁRIO ABSOLUTO DA D.A. ....	63
3.10. MEDIDAS DO LIMIAR DE DEFLAGRAÇÃO DA D.A. ....	64
3.11. EXPERIÊNCIAS COM ADMINISTRAÇÃO DE DROGAS <i>in vivo</i> . ....	64
3.12. DOSAGEM DA ATIVIDADE DA GABA-T EM RETINAS COM- ROLE E APÓS ONDAS MÚLTIPLAS DE D.A. COM E SEM DROGAS. ....	65
<b>IV.FASES DO TRABALHO.</b> .....	<b>70</b>
<b>V.RESULTADOS.</b> .....	<b>71</b>
5.1. FASE I. ....	71
5.2. FASE II. ....	72
5.3. FASE III. ....	93
5.4. FASE IV. ....	105
5.5. FASE V. ....	114
5.6. FASE VI. ....	118
<b>VI.DISSCUSSÃO</b> .....	<b>137</b>
6.1. EFEITO SOBRE A VELOCIDADE DE PROPAGAÇÃO. ....	140
6.2. EFEITO SOBRE A AMPLITUDE. ....	142
6.3. EFEITO SOBRE O LIMIAR DE DEFLAGRAÇÃO. ....	142
6.4. EFEITO SOBRE O PERÍODO REFRACTÁRIO ABSOLUTO. ....	143
6.5. EXPERIÊNCIAS <i>in vivo</i> . ....	144
6.6. ATIVIDADE DA GABA-T. ....	145
6.7. LIBERAÇÃO DE GABA DURANTE A D.A. ....	146
<b>VII.CONCLUSÕES.</b> .....	<b>148</b>
<b>VIII.PERSPECTIVAS FUTURAS.</b> .....	<b>150</b>
<b>IX.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b> .....	<b>152</b>
<b>X.APÊNDICES.</b> .....	<b>183</b>
10.1. APÊNDICE I. ....	183
10.2. APÊNDICE II. ....	186
<b>XI.ANEXO.</b> .....	<b>223</b>

## I. INTRODUÇÃO

### 1.1: Depressão Alastrante – Um fenômeno característico do Sistema Nervoso.

*“It is very important... because it represents a great challenge to the completeness of our knowledge of the brain. No matter how many channel proteins we sequence, how many neuromodulators we identify and how many neural networks we construct, if we cannot explain spreading depression, we do not understand how the brain works.”* (Nicholson, 1993)

→ (Ela é importante... porque representa um grande desafio para a integralidade do nosso conhecimento a respeito do cérebro. Não importa quantas proteínas de canal venhamos a sequenciar, quantos neuromoduladores identifiquemos e quantas redes neuronais construamos se não pudermos explicar o fenômeno da depressão alastrante, não viremos a compreender como o cérebro funciona).

A Depressão Alastrante (DA) é uma resposta do tecido nervoso a diferentes tipos de estímulos locais, que foi descrita inicialmente em córtex de coelho anestesiado e se caracteriza por uma depressão da atividade elétrica espontânea e provocada, que se inicia no ponto estimulado e se propaga, à razão de 3,0-5,0 mm.min<sup>-1</sup>, para regiões adjacentes do córtex cerebral (Leão, 1944a). O período de depressão da atividade eletrocórticográfica é de 2-5 min e o restabelecimento da atividade normal ocorre em 15-20 min após o início da reação. A marcha desta onda não respeita os limites de diferentes territórios vasculares no córtex e nem diferenças citoarquitetônicas ou funcionais (Somjen, 2001; Gorji, 2001).

A depressão alastrante (DA) da atividade elétrica cortical natural e contínua foi descoberta pelo cientista brasileiro Aristides Azevedo Pacheco Leão (Leão, 1944a), no período em que este estudava na *Harvard University* (Boston, MA, EUA); local onde, em 1943, obtivera o título de *Doctor of Philosophy* (PhD). (apêndice I)

A característica da DA como um fenômeno geral do tecido nervoso, não necessariamente relacionado à especialização morfo-funcional do córtex cerebral, foi comprovada ao se demonstrar ser possível a deflagração de reações semelhantes em outras regiões do sistema nervoso central de mamíferos, tais como no hipocampo (em coelhos: Leão & Martins-Ferreira, 1958; 1959; 1965. Em ratos: Bűres e cols., 1960, em ratos), no núcleo caudado (Leão & Martins-Ferreira, 1958; Fifkova & Bűres, 1964), no cerebelo (Leão & Martins-Ferreira, 1961; Fifkova e cols. 1961), no colículo superior e tubérculo quadrigêmeo (Leão & Martins-Ferreira, 1961) e no bulbo olfatório (Leão & Martins-Ferreira, 1961). A reação também é elicitável na superfície dorsal do estriado de aves (Leão, 1944; Martins-Ferreira, 1954; Bűres e cols., 1960) bem como no estriado de répteis, anfíbios (Martins-Ferreira & Leão, 1958; Tomita, 1984) e cerebelo de peixes (Nicholson & Kraig, 1975; Higashida, 1977). Ficou claro em função desses trabalhos que, de acordo com a região estudada (Leão, 1963) ou o animal empregado (Marchall, 1959), diferentes manobras experimentais de alteração do meio extracelular deveriam ser utilizadas, para tornar o tecido nervoso susceptível à reação. Há relato de ocorrência de DA em fatia de córtex humano mantido *in vitro* (Avoli e cols., 1991). Finalmente, Strong e cols. (2005) relatam que dez pacientes com hemorragia subaracnóidea aguda tiveram episódios de DA cortical, entre dezessete pacientes estudados. Atualmente, vários trabalhos citam a ocorrência da DA em diferentes patologias humanas, como as chamadas “síndromes neurológicas reversíveis”, que compreendem hipóxia, hipoglicemia, edema cerebral e migrânea com e sem aura e traumatismo crânio-encefálico (Strong e cols., 2002). Ma-yevsky e cols. em 1996 observaram a ocorrência de DA *in vivo*, durante cirurgia estereotáxica no núcleo caudado e no hipocampo, Sranka e cols. em 1977 já haviam citado o fato que, também em humanos *in vivo*, durante cirurgia estereotáxica, ocorrera DAs após injeção de KCl no núcleo caudado e no hipocampo. Há relatos recentes através de alguns trabalhos experimentais, que a DA ocorreria na fase aguda do acidente vascular cerebral isquêmico, associada

a uma despolarização peri-infarto, fato este que pode ser responsável por uma expansão do infarto e por danos neuronais secundários. (Dohmen e cols., 2008; Fabricius e cols., 2006). Röther (2000) revisou em 2000 as características fisiopatológicas da DA e das despolarizações peri-infarto cerebral, procurando correlacionar os mecanismos envolvidos na migrânea associada ao acidente vascular cerebral isquêmico. O mecanismo de injúria cerebral que vem a relacionar o acidente vascular cerebral isquêmico agudo e/ou hemorragia subaracnóidea com a depressão alastrante, se devidamente explorado, poderia vir a favorecer uma conduta mais efetiva no que diz respeito ao tratamento das injúrias cerebrais agudas, principalmente o acidente vascular cerebral isquêmico agudo e a hemorragia subaracnóidea (Strong e cols., 2007). Chamamos a atenção para o fato de que alguns trabalhos, também experimentais, vêm relacionando a abolição da capacidade de geração do fenômeno de Leão com a verdadeira morte cerebral (Hartings e cols., 2008).

O fato de que muitas classes animais são suscetíveis a DA pode significar que esta reação tenha sido filogeneticamente conservada por ser útil (Büres, 1974). Essas considerações, somadas às demais características relativas ao fenômeno, ampliam o significado da DA e, até mesmo, permitem enunciar que se trata de um fenômeno inerente ao tecido nervoso.

Visando-se a uma abordagem mais fácil e controlável dos fatores que podem por à mostra as potencialidades do tecido nervoso de apresentar o fenômeno em questão, uma preparação de tecido nervoso isolado, *in vitro*, viria a ser de grande importância. Com este objetivo, partindo da observação de Gouras (1958) da ocorrência de ondas de Leão em retinas de rãs mantidas em câmara úmida, Martins-Ferreira (1962) obteve preparações de retina isolada de anfíbios, imersas em solução de Ringer de composição adequada, tamponada com bicarbonato e equilibrada com uma mistura de 95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>, nas quais DAs sucessivas podiam ser deflagradas a cada 15 minutos, durante várias horas. Posteriormente, Martins-Ferreira & Oliveira Castro (1966) conseguiram repetir o fenômeno em questão em retinas

isoladas de aves (especialmente pintos) e, também, comprovar que o fenômeno descrito nessas preparações isoladas era realmente semelhante ao descrito por Leão no córtex cerebral.

Como sua etiologia ainda é desconhecida, o fenômeno de Leão é descrito pelas diversas manifestações que o acompanham e que podem ou não estar presentes, dependendo das condições de estudo utilizadas. No entanto, existe um grupo de eventos do fenômeno que, quando verificados, constituem requisitos básicos para o diagnóstico deste. A saber: variações lentas de voltagem e de impedância elétrica, velocidade de propagação e influência de alguns agentes químicos, particularmente íons potássio e magnésio.

O mecanismo básico da DA continua, entretanto, pouco conhecido, fato este que vem propiciando um ambiente fértil para a formulação de várias hipóteses para o fenômeno. A hipótese apresentada por Berenice Grafstein (1956) é baseada na observação de que frequentemente, no córtex cerebral, a onda negativa da variação lenta de voltagem da DA é precedida por um rápido período de atividade neuronal a qual vem a liberar  $K^+$ ; por difusão no fluido extracelular, este íon atinge neurônios adjacentes e diminui o seu potencial de membrana, proporcionando nestes neurônios um curto período de atividade plena, atividade esta que vem a liberar mais  $K^+$  que, novamente por difusão, estimula neurônios vizinhos e assim sucessivamente. Embora a observação da Dra. Grafstein esteja correta no que diz respeito ao aumento do  $K^+$  no meio extracelular, alguns argumentos vêm a contrariar essa hipótese. Em primeiro lugar, a atividade neuronal não é sempre constatada precedendo a variação lenta de voltagem característica da DA e, em segundo lugar, a tetrodotoxina, uma neurotoxina que bloqueia completamente a capacidade neuronal de gerar impulsos nervosos  $Na^+$ -dependentes, não impede nem a propagação da DA, nem a sua deflagração por  $KCl$  (Sugaya e cols. 1970, Sugaya e cols., 1975). Outra hipótese que foi formulada por Van Harrevelt (Van Harrevelt e cols. 1959; Van Harrevelt e cols., 1967) defende que a propagação da DA deve-se à liberação neuronal de uma substância, possivelmente o glutamato, que por difusão no meio extracelular,

viria a atuar nos neurônios adjacentes provocando uma liberação “em cadeia” deste. Van Harrevelt argumenta que, em defesa de sua hipótese, a aplicação local de glutamato na superfície do córtex vem a provocar a DA. Esta argumentação foi questionada pelo fato de que nunca foi demonstrado que houvesse, durante a DA aumento considerável da concentração de glutamato no meio extracelular (Curotolo e cols., 1967; Leão, 1991). Finalmente, Nicholson e Kraig (1981) sugerem a participação de um mecanismo de tamponamento especial, uma vez que o aumento de  $K^+$  no meio extracelular vem a despolarizar as terminações pré-sinápticas, permitindo um influxo de  $Ca^{2+}$  nestas e, conseqüentemente, uma liberação maciça de neurotransmissores, os quais abrem na membrana subsináptica canais pelos quais entram na célula íons  $Na^+$  e  $Cl^-$  com a despolarização causada pelo  $Na^+$ , sai da célula para o meio extracelular mais  $K^+$ , o qual vem a despolarizar terminações sinápticas pré-sinápticas adjacentes. O  $K^+$  atinge essas por difusão no meio extracelular ou, possivelmente, em sua maior parte, por corrente no interior das células gliais.

Observamos dois aspectos distintos no que diz respeito à DA: fenômenos locais e autopropagação. Tanto o  $K^+$  quanto o glutamato têm sido apontados como as substâncias mais importantes para a propagação da onda de Leão. Considera-se que a quantidade de  $K^+$  liberada durante o início da DA seja suficiente para a manutenção de sua propagação (Martins-Ferreira, 1994). Obrenovitch e cols. (1995), utilizando a técnica de sondas de microanálise implantadas no córtex, concluem como Grafstein (1956), que o aumento de  $K^+$  no meio extracelular é um fator fundamental para a propulsão do fenômeno e que o fluxo de  $Ca^{2+}$  através dos canais de receptores N-Metil-D-Aspartate (NMDA) ativados, é vital para a propagação e que o aumento transitório de glutamato no meio extracelular não é um pré-requisito fundamental para a propagação da DA. O fenômeno de Leão pode ser bloqueado por antagonistas competitivos e não competitivos de NMDA (Obrenovitch e cols., 1995).

Recentemente, Nedergaard e cols. (1995), fazendo uso de corantes específicos (Lúcifer Yellow e Rodamina) em tecidos isolados de retinas, considerando a semelhança entre a propagação da DA e a propagação das ondas de  $Ca^{2+}$  em culturas de astrócitos, levantaram a hipótese, hoje bastante aceita, de que a propagação da onda de Leão é dependente tanto da passagem de  $Ca^{2+}$  nas junções gap quanto da ativação de receptores NMDA.

Sabe-se da prática clínica que algumas drogas, principalmente o Divalproato, a Gabapentina, o Topiramato, a Lamotrigina e o Levetiracetam podem vir a ser utilizadas no tratamento profilático tanto das migrânea com e sem aura, bem como nas epilepsias de difícil manejo clínico. Baseado no paradigma de que a Depressão Alastrante, fenômeno caracterizado como uma onda de supressão/depressão da atividade neuronal pode ser o correlato fisiopatológico da aura da migrânea, e que o fenômeno de Leão apresenta aspectos eletrocorticográficos diferentes em relação aos verificados nas epilepsias, surgiu a hipótese de um possível ponto de intersecção entre a fisiopatologia da migrânea e o fenômeno da Depressão Alastrante. Finalmente, optou-se por testar esta hipótese do ponto de vista experimental, utilizando a preparação da retina de pinto elaborada pelo método do Prof. Martins Ferreira.

## **1.2: Depressão alastrante cortical– descrição do fenômeno.**

Leão demonstrou que a frente de onda da DA, era acompanhada por uma variação lenta de potencial elétrico do local invadido pela reação (Leão, 1947; Martins-Ferreira,1994). Este potencial, que podia variar de alguns milivolts até 30-40 milivolts, era reversível, voltando o local atingido às suas condições de pré-DA em 1 a 2 minutos. Medida com um eletródio aplicado à superfície pia-aracnóide em relação a um eletródio aplicado a um ponto remoto do corpo do animal (coelho), essa variação que em qualquer lugar começa ao mesmo tempo em que a depressão da atividade espontânea, se apresenta como uma pequena inflexão positiva

que logo se torna negativa. Segue-se à variação negativa, uma variação positiva de maior duração. O elemento sempre presente é a variação negativa de voltagem (Martins-Ferreira, 1954). A pequena inflexão positiva inicial muitas vezes não aparece e a onda positiva terminal é muito variável (Fig.1). Considera-se que esta despolarização ocorra devido a um aumento transitório da permeabilidade das membranas excitáveis, permitindo que o fluxo de íons siga seus gradientes eletroquímicos nos compartimentos intra e extracelular. Na passagem da DA, o  $K^+$  deixa a célula e sua concentração no meio extracelular eleva-se de 10 a 20 vezes (entre 30 e 60 mM), enquanto frações significativas de  $Cl^-$ ,  $Na^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  e água presentes neste meio penetram na célula (Kraig & Nicholson, 1978; Lauritzen, 1987; Leão, 1987; Van Harreveld, 1959; Vyskocil e cols. 1972). Chamamos a atenção para o fato de que microeletrodos seletivos foram utilizados para confirmar uma diminuição, durante a onda de Leão, do volume do espaço extracelular, fato este sugerido por Freygang,(1955) e posteriormente confirmado por microscopia eletrônica (Van Harreveld e cols. 1967), em função do movimento da água para o interior da célula. (Nicholson e cols., 1981; Lauritzen, 1987 ).

Podemos, finalmente, afirmar que a marca registrada do fenômeno de Leão constitui a variação lenta de voltagem (VLV) reversível do tecido nervoso, propagando-se com velocidade de 2-3 mm/min. (Marchall, 1959).

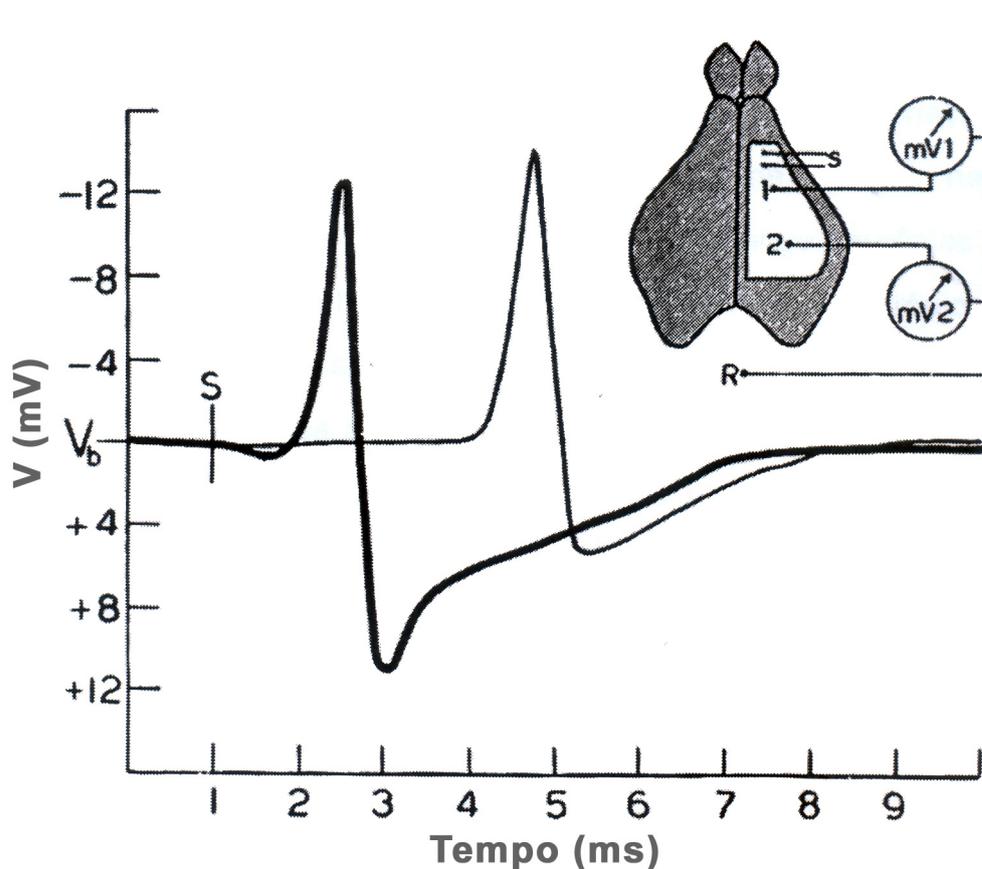


Fig.1) Registro da variação lenta de potencial da depressão alastrante em 2 regiões do córtex de coelho. A curva em traço mais intenso representa as variações de potencial na região 1 e a de traço mais fino, as variações na região do eletródio 2. O momento do estímulo está assinalado pela letra S. Ordenada: voltagem em milivolts; abscissa: tempo em minutos (Martins-Ferreira, 1954).

A redução de amplitude das oscilações de potencial elétrico que constituem o Eletrocórticograma (ECoG) vem acompanhada por vasodilatação da circulação da pia-máter, descrita inicialmente em coelho, e que pode ser observada ao microscópio de dissecação (Leão, 1944b). As mesmas alterações vasculares também foram observadas em rato e gato. Em cobaia observa-se, eventualmente, um curto período de vasoconstricção (Leão, 1954).

Concomitantemente à depressão da atividade elétrica, foi observada uma variação lenta de voltagem (VLV) no córtex cerebral de coelho, caracterizada por uma fase negativa com amplitude de 7-15 mV e duração de 1-2 min, seguida por uma fase positiva de 2-4 mV e dura-

ção aproximada de 5 min (Leão, 1947). Esse registro foi obtido posicionando um eletródio na superfície do córtex invadida pela onda de Leão e tendo como referência outro eletródio situado em uma região distante, geralmente no osso occipital. O estudo de curtos períodos (1-2 min) de isquemia cortical em diferentes momentos da VLV revelou que nessas circunstâncias, a duração total da VLV aumentava. Períodos prolongados de isquemia cortical (cerca de 5-8 min) acarretavam negatização de voltagem análoga à da VLV, com o retorno à linha de base ocorrendo apenas quando a circulação era restabelecida. Essas variações corticais de voltagem foram comparadas por Leão (1947) à despolarização asfíxica observada por Van Harreveld (1946) na medula espinhal de gato.

A DA é acompanhada de aumento da impedância elétrica do córtex cerebral às correntes senoidais de baixa frequência, com duração de aproximadamente 2 min. e início simultâneo ao da VLV (Leão & Martins-Ferreira, 1953). A diminuição de  $[Na^+]_o$ ,  $[Cl^-]_o$  e do volume do espaço extracelular tem sido apontados como os fatores responsáveis pelo aumento da impedância elétrica durante o fenômeno de Leão (Van Harreveld, 1958; Van Harreveld & Schädé, 1959). Este aumento de impedância, confirmado por vários autores, utilizando diferentes técnicas de medida (Freygang & Landau, 1955; Van Harreveld & Ochs, 1957; Ranck, 1964; Wong, 1969) é devido principalmente a um aumento de componentes resistivos do córtex, porém, há também, uma variação do componente capacitivo, cujo curso temporal é diferente do seguido pelo componente resistivo, particularmente para as correntes de frequências mais baixas. Nas preparações de retina isolada, Martins-Ferreira e colaboradores (Martins-Ferreira, 1962; Martins-Ferreira & Oliveira Castro, 1969) encontraram aumentos de impedância análogos aos descritos para o córtex cerebral, em retinas de anfíbios e aves imersas em solução de Ringer; entretanto, autores japoneses, ao contrário, relataram diminuição de impedância elétrica transretiniana durante o fenômeno de Leão (Hanawa e cols., 1967). Em trabalho posterior Martins-Ferreira e Oliveira Castro (1969) demonstraram que a discrepância dos resultados era

devida à diferença na composição química da solução de Ringer usada pelos dois grupos de pesquisadores e não que o fenômeno retiniano fosse diferente do que o que ocorre no córtex como salientavam “autores japoneses”. Efetivamente, as variações de impedância da retina durante a reação, dependem marcadamente da concentração de cloreto de sódio da solução nutritora que banha a preparação. Quando sua concentração na solução é muito baixa, em lugar de aumentos, ocorrem diminuições de impedância durante a onda de DA. Um estudo detalhado das variações de impedância elétrica da retina isolada de pinto, na ausência e durante a DA, para correntes senoidais de 0.05 a 500 KHz, com a preparação imersa em soluções de Ringer de diferentes composições químicas foi realizado por Ferreira Filho (1974).

A variação de potencial elétrico no meio extracelular durante a DA é acompanhada por despolarização da membrana de glia e neurônios, sendo que estes últimos apresentam eventualmente, salvas de potenciais de ação no início da fase de negatização (Collewijn & Van Harreveld, 1966; Higashida e cols., 1971). Os valores absolutos da alteração do potencial de membrana nestes dois tipos de células são semelhantes, porém os neurônios apresentam despolarização mais prolongada (Higashida e cols., 1974). Sugaya e cols. (1975), realizando registros intra- e extracelulares simultâneos em córtex cerebral de gato anestesiado, verificaram que as células gliais da região do córtex invadida pela DA despolarizavam simultaneamente com a negatização da VLV, ao passo que os diversos neurônios da mesma região o fazia em tempos variáveis com referência a esta negatização. Além disso, alguns neurônios não mostravam potenciais de repouso alterados ou, mesmo, sofriam hiperpolarização durante a passagem do fenômeno de Leão.

A DA vem acompanhada por alterações metabólicas no tecido nervoso. Durante a VLV ocorre diminuição da  $pO_2$  no tecido cortical. Esta alteração ocorre quando a VLV alcança sua maior amplitude negativa e durante o seu retorno à linha de base (Van Harreveld & Stamm, 1952; Lukyanova & Büres, 1967). Além desta alteração, ocorre aumento na produção

de ácido láctico e diminuição das concentrações de glicose, glicogênio e fosfocreatina no tecido cortical (Krivanek, 1961). Por outro lado, as características da VLV são influenciadas pela  $pO_2$  e pela concentração de glicose no sangue (Martins-Ferreira, 1954).

A onda de Leão pode ser obtida tanto *in vivo*, em animais anestesiados ou acordados, como *in vitro*, em fatias de tecido nervoso, mediante estimulação elétrica, química ou mecânica (Büres e cols., 1974). Além de serem obtidos no córtex cerebral de animais como coelho, camundongo, rato, mico, gato e macaco (Marshall, 1959), a DA também ocorre em outras estruturas do sistema nervoso. Assim, o fenômeno foi detectado no hipocampo, núcleo caudado, bulbo olfatório, tubérculo quadrigêmeo e córtex cerebelar de coelho (Leão & Martins-Ferreira, 1958; 1961). A depressão alastrante foi, também, verificada no tálamo de rato (Fifková, 1966) e de gato (Trachtenberg e cols., 1970). A DA também já foi registrada em medula espinhal de anfíbio, mantida em meio de composição iônica apropriada (Streit e cols., 1995).

No decurso da DA ocorre um movimento de água e de eletrólitos através da membrana neuronal. Ainda que observado em muitos trabalhos, esse movimento só foi quantificado com o advento dos microeletrodos íon-seletivos, por volta dos anos setenta. Os estudos demonstraram que durante a DA há saída de  $K^+$  para o espaço extracelular e entrada na célula de  $Na^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Cl^-$ , além da água (Kraig & Nicholson, 1978).

A curva da VLV apresenta duas fases: a fase 1, ascendente, representada pela negatização e relacionada à deflagração do fenômeno e a fase 2, descendente, com volta à linha de base do potencial elétrico, relacionada aos mecanismos de recuperação do tecido após a DA. A literatura indica que, na fase de recuperação, ocorrem grandes variações, na forma e duração da fase 2 da curva, dependendo do estado metabólico do tecido sobre o qual o fenômeno vem a ocorrer. Inibidores da fosforilação oxidativa, como o NaCN (30mM), e inibidores da via glicolítica, como o NaF (100mM) ou desacopladores de fosforilação, como o FCCP (0.25 $\mu$ M) alteram a forma da fase descendente da VLV tornando o retorno à linha de base

mais lento, tanto no córtex cerebral de coelho *in vivo*, como em preparações de retina de pinto *in vitro* (Martins-Ferreira, 1954; Vercesi & Martins-Ferreira, 1983). Finalmente, chamamos a atenção para o fato de que, a amplitude da VLV no córtex cerebral de coelho submetido à hipoglicemia é maior do que aquela verificada em situações de normoglicemia (Martins-Ferreira, 1954).

### **1.3: DA retiniana.**

O estudo da DA retiniana teve início com as observações de Gouras (1958), em retina isolada de anfíbio, que observou uma mancha opalescente que se expandia concentricamente na superfície do tecido a partir do ponto estimulado. Esta alteração na transparência da retina vinha acompanhada de uma variação negativa de voltagem, com 1-2 mV de amplitude e duração aproximada de 3 min. Posteriormente, Martins-Ferreira (1962), trabalhando em retina de sapo e após sucessivas manipulações iônicas na solução de Ringer, obteve uma composição que mantinha o tecido em boas condições para a realização de experiências durante várias horas. Um bom índice de viabilidade da retina é a sua transparência, uma vez que, para o desempenho de suas funções fisiológicas, a retina deve ser transparente para que a luz atravesse todas as suas camadas e atinja os fotorreceptores. O fenômeno de Leão também foi detectado em retinas de outras espécies, como répteis e peixes, onde também se manifesta com alterações de luz difundida pelo tecido (Oliveira-Castro & Martins-Ferreira, 1977). Já em retina de mamífero, a DA não se acompanha por variações marcantes de luz difundida, fato cuja razão ainda é desconhecida (Marques, 1977).

As alterações na transparência da retina no decurso da DA foram estudadas com técnicas de microfotometria, onde as variações na intensidade da luz difundida pelo tecido eram detectadas e convertidas em corrente elétrica, para posterior registro em polígrafo *GRASS*. O

início dessas alterações de luz difundida coincide com o início da VLV, embora a duração total do componente óptico seja superior à duração da VLV. Assim como a VLV, as características da variação de luz difundida pelo tecido durante a DA são muito influenciadas pela composição iônica do meio e pelo estado metabólico do tecido. Além disso, a intensidade da variação de luz difundida pelo tecido durante a DA é máxima na camada plexiforme interna (Martins-Ferreira & Oliveira-Castro, 1966). A presença destas manifestações ópticas permite monitorar visualmente o fenômeno na retina; entretanto a origem desta variação de luz difundida pelo tecido durante a DA ainda não está esclarecida. Alterações na composição do ambiente extracelular, decorrentes dos fluxos de água e eletrólitos, modificações estruturais na membrana plasmática, ou mesmo no citoplasma, durante a DA, podem estar envolvidas na gênese dessa manifestação óptica (Martins-Ferreira, 1983; Oliveira-Castro e cols. 1985).

Assim como no córtex cerebral, a DA retiniana vem acompanhada dos principais concomitantes do fenômeno: 1- variação lenta de voltagem (VLV), cuja amplitude e curso temporal dependem do dispositivo experimental empregado, já que a mesma pode ser obtida utilizando a retina como membrana entre dois compartimentos com composição iônica definida (VLV trans-retiniana) ou então com o uso de microeletrodos de vidro posicionados no interior do tecido; 2- aumento da impedância elétrica do meio extracelular; 3-aumento da  $[K^+]_o$ ; 4- redução da  $[Ca^{2+}]_o$ ,  $[Na^+]_o$  e  $[Cl^-]_o$ .

O estudo da VLV, em retina de pinto (Fig.2), mostrou que este concomitante da DA é influenciado por vários fatores, como a composição iônica da solução de superfusão e, também, a concentração de glicose, temperatura, agitação mecânica e aplicação de correntes elétricas. As características desta variação negativa de voltagem são diferentes ao longo das camadas da retina, sendo que a camada plexiforme interna, abundante em dendritos, apresenta uma VLV negativa de 20-40 mV, ao passo que as regiões mais próximas dos fotorreceptores,

mostram VLV com amplitude progressivamente menor, até cerca de 2-4 mV e com polaridade oposta à VLV observada na plexiforme interna (Do Carmo & Martins-Ferreira, 1984).

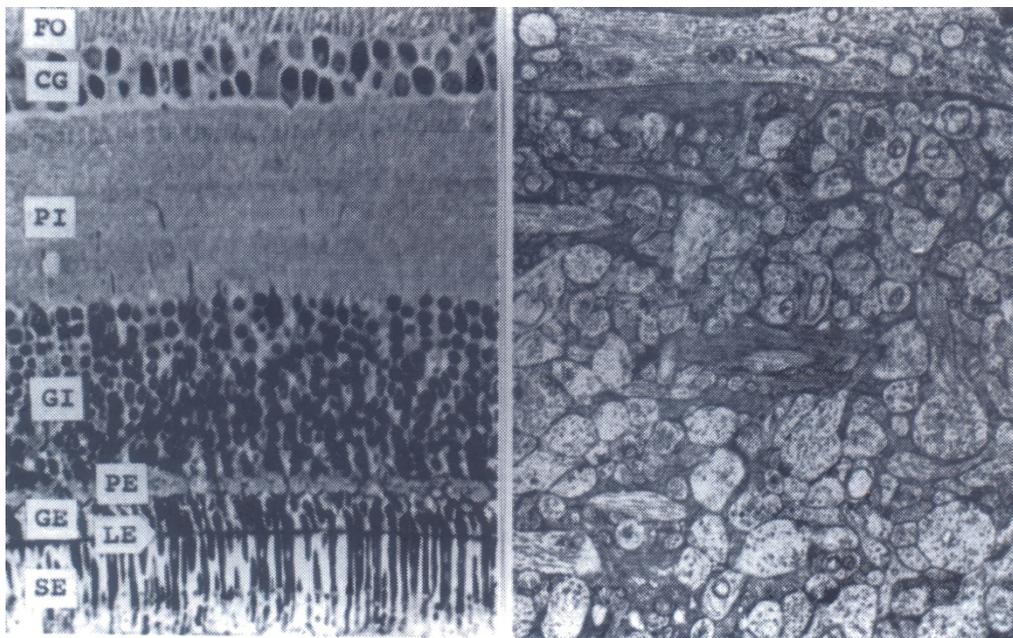


Fig.2) A retina de pinto foi escolhida como modelo efetivo para o estudo da DA pelo Professor Martins-Ferreira – 1983. Em função da facilidade para o isolamento; de sua organização laminar que é mais marcada do que em qualquer outra área do SNC onde a DA veio a ser descrita; do fato de que a localização de suas células receptoras estarem em localização “inversa”, fato este que torna esta relativamente bem transparente à luz visível, da presença de uma camada plexiforme interna bem desenvolvida, com grande número de sinapses e, finalmente, da ausência de vasos sanguíneos, fato este que a torna adequada para o estudo das alterações provocadas pela DA no tecido nervoso, sem que haja interferência vascular. Na figura podemos observar à esquerda corte transversal da retina de pinto vista em contraste de fase (aumento de 400xs). FO: camada de fibras ópticas; GC: camada de células ganglionares; PI: camada plexiforme interna; GI: camada granular interna; PE: membrana limitante externa; GE: camada granular externa; LE: membrana limitante externa; SE: segmentos externos dos receptores. Chamamos a atenção para a ausência de corpos celulares na plexiforme interna, onde estão localizadas numerosas sinapses. Aumento de 8750 Xs.(à direita) (Cortesia de Oliveira Castro e R.D.Machado, ao Prof. Hiss Martins-Ferreira).

Assim como no córtex cerebral, a DA retiniana vem acompanhada por aumento na impedância elétrica do tecido. Esta outra manifestação elétrica mostrou-se, também, influenciada pela composição iônica do meio extracelular, em especial o  $\text{Cl}^-$ , cuja redução experimental acarreta diminuição das variações de impedância durante o fenômeno e, em situações de  $[\text{Cl}^-]_o$  muito reduzida, pode haver diminuição em lugar de aumento da impedância durante a DA (Martins-Ferreira & Oliveira-Castro, 1971; Ferreira-Filho, 1978; Ferreira-Filho & Martins-Ferreira, 1982).

O aumento de  $[\text{K}^+]_o$  (30-40 mM) e a diminuição de  $[\text{Na}^+]_o$ ,  $[\text{Cl}^-]_o$ ,  $[\text{Ca}^{2+}]_o$  e do volume do espaço extracelular verificados durante a DA em cerebelo de peixes (Kraig & Nicholson, 1978; Nicholson & Kraig, 1981) e no córtex cerebral de ratos (Hansen, 1985) também foram detectados na retina de pinto, utilizando microeletrodos seletivos a íons. Tal como a VLV, as variações iônicas foram máximas na camada plexiforme interna (Do Carmo & Martins-Ferreira, 1984).

Martins-Ferreira descreveu as razões para a escolha de retina, particularmente a retina de pinto (White Leghorn) que em sendo destituída de vasos sanguíneos, sua integridade funcional pode ser assegurada por superfusão de substância nutritora através de sua superfície. Outra vantagem está no fato de que essa se trata de uma fatia do SNC de marcada organização laminar e que pode ser obtida com um mínimo de lesão. Ele alerta para o fato de que a escolha do tipo de preparação retiniana, isto é, se calota posterior do globo ocular ou se fragmento isolado (com ou sem a camada pigmentar), deve estar relacionada para o estudo pretendido. Também é descrita a vantagem adicional resultante do grande aumento na intensidade da luz difundida no tecido, determinado pela passagem da DA, quando cada ponto da área invadida pela reação atua como “eletrodio de luz”, evidenciando a uniformidade da reação e a regularidade do tecido (Martins-Ferreira, 1983, 1982, 1994; Martins-Ferreira e cols., 2000).

Com a escolha da retina de pinto, determinada por Martins-Ferreira, novas perspectivas para o estudo da DA surgiram. Com essa abordagem, grande número de trabalhos foi desenvolvido. Entre estes chamamos a atenção para um que descreve a sequência de alterações na intensidade da luz difundida na retina, determinada pela passagem da onda de Leão, e que ficou conhecida como “light-scattering”, termo este que era enfaticamente explicado por Oliveira Castro, um de seus autores, como sendo a luz difundida por reflexão. Essa sequência de alterações luminosas pode ser registrada por meio de um sistema óptico engenhosamente desenvolvido pela aptidão de Oliveira Castro. A eficiência do modelo experimental também permitiu verificar-se que as maiores alterações durante a sequência do “light-scattering”, aconteciam na camada plexiforme interna (Martins-Ferreira e Oliveira-Castro, 1966). Segundo Nicholson (2000), esse trabalho pioneiro sobre luz difundida na retina está relacionado com o atual interesse na aferição de “sinais ópticos intrínsecos” em muitas regiões do cérebro, *in vivo*, usando técnicas modernas de neuroimagem como a ressonância nuclear magnética de crânio funcional e espectroscópica. Outro trabalho ímpar utilizando a preparação de retina isolada mostrou que há um ciclo de variação na sua espessura (predominando o aumento) acompanhando a sequência de variações de intensidade de luz difundida, causada pela DA. Além do aumento da espessura, também foram observadas deformações da superfície retiniana, durante a DA. Tais observações podem ser explicadas por variações de correntes osmóticas durante o fenômeno (Oliveira-Castro & Martins-Ferreira, 1970).

Outra abordagem marcante sobre a DA realizada em retina isolada, registrou a VLV durante o fenômeno, em diferentes profundidades ao longo do plano vertical da retina. Foram também registradas atividades iônicas e a alteração do volume extracelular, durante a onda de Leão. Para esse estudo foram utilizados microeletrodos de duplo tubo, um deles sensível a potencial elétrico, preenchido com solução de NaCl 150 mM, e o outro seletivo a íons. Foram usadas resinas seletivas para os íons  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$  e  $Na^+$ . O objetivo dessa técnica foi registrar,

simultaneamente e no mesmo local, o potencial de campo e as atividades iônicas extracelulares, durante a reação. Esses registros determinaram o que ficou sendo chamado de “perfil de profundidade” ou “perfil laminar” (Fig.3). Ficou comprovado que é na camada plexiforme interna da retina onde a VLV negativa e as variações iônicas apresentam valor máximo. O uso de eletródios sensíveis aos íons tetraetilamonium ( $\text{TEA}^+$ ) e  $\alpha$ -naftaleno sulfonado ( $\alpha\text{-NS}^-$ ), impermeáveis à membrana celular, permitiram a avaliação de alterações de volume do espaço extracelular, durante a DA (Do Carmo & Martins-Ferreira, 1984).

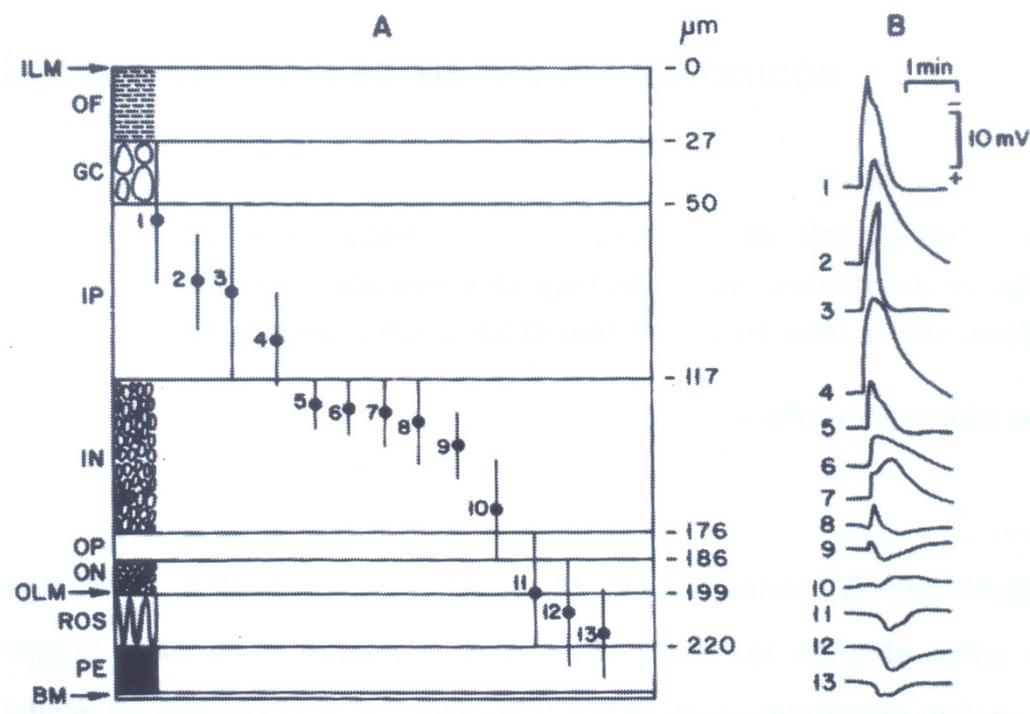


Fig.3) Registro profundo e estudo de marcação com eletródios dos campos potenciais da DA. A – Diagrama esquemático da retina de pinto mostrando a localização intra-retiniana de 13 pontos “fast green” (linhas verticais indicam a extensão radial das marcas). ILM: membrana limitante externa; OF: camada de fibras ópticas; GC: camada de células ganglionares; IP: camada plexiforme interna; IN: camada nuclear interna; OP: camada plexiforme externa; ON: camada nuclear externa; OLM: membrana limitante externa; ROS: segmentos externos dos receptores; PE: epitélio pigmentar; BM: membrana de Brunch. A escala indica a espessura ( $\mu$ ) das camadas retinianas, relativa a toda espessura do tecido retiniano compreendido entre a ILM e a borda distal dos ROS ao nível da calota polar. B – Registros de potenciais da DA correspondente aos locais numerados em A. (retirado de Romualdo José do Carmo e Hiss Martins Ferreira, 1994).

#### 1.4: Eliciação da DA.

Nos primeiros experimentos, evocava-se a DA cortical utilizando-se correntes farádicas de 1-5 seg. de duração (Leão, 1944a) e pulsos elétricos de duração maior e frequências de até 50 Hz (Marshall, 1950; Grafstein, 1956). Entretanto, esta forma de estimulação tinha o inconveniente de, quando aplicada em intensidades supralimíares, poder originar atividade epileptiforme a partir do local estimulado, que se propagava à distância, dificultando a interpretação dos resultados. Por esta razão, trabalhos posteriores utilizaram correntes contínuas com intensidades de 0,1-3,0 mA para a obtenção do fenômeno (Leão & Morrison, 1945; Ochs, 1962). A estimulação elétrica de diferentes regiões do corpo caloso em coelhos também se mostrou eficaz para produzir DA no hemisfério contralateral, demonstrando o envolvimento de sinapses na deflagração deste fenômeno (Leão & Morrison, 1945). Outros dados acerca da participação das sinapses na DA foram obtidos por Rodrigues e cols. (1988), que demonstraram, em retina de pinto, estar reduzida a liberação de GABA e ACh durante a reação em condições de baixa  $[Ca^{2+}]_o$  e alta  $[Mg^{2+}]_o$ . Estas experiências mostraram que o bloqueio da transmissão sináptica modifica as características da DA, mas não impede a deflagração do fenômeno por estímulo mecânico.

A estimulação mecânica do córtex cerebral durante o posicionamento dos eletrodos de registro também pode deflagrar a reação e este fato já havia sido descrito por Leão em 1944. Tentativas de quantificar a energia mecânica necessária para obter DA foram feitas por Zacharová e Zachar (1966).

O  $KCl$  permanece, ainda hoje, como o estímulo químico mais utilizado para a obtenção da DA. Leão e Morrison (1945) realizaram aplicação local de  $KCl$  a 1% para deflagrar a DA em coelho. Tentativas de obtenção do fenômeno com ACh (Essig e cols., 1953) e pros-

stigmina (Van Harreveld & Stamm, 1953) não foram bem sucedidas. Goldring e O'Leary (1954) obtiveram DA com a aplicação tópica de veratridina no córtex de coelho.

Outras formas de obtenção do fenômeno também foram utilizadas, como o resfriamento local em uma região do córtex exposto (Zacharová & Zachar, 1961), a aplicação tópica, no córtex cerebral de coelhos, de inibidores metabólicos como o NaCN e o NaF (Martins-Ferreira, 1954), injeção microiontoforética de glutamato no córtex cerebral de ratos (Büres, 1956; Van Harreveld, 1959) e aplicação tópica, no córtex cerebral de ratos, do aminoácido excitatório kainato (Guedes e cols., 1988).

Em retinas de pinto, a reação é comumente obtida com estimulação mecânica (por meio de um fio de tungstênio) e por estimulação química (utilizando  $KCl^-$ ). A obtenção do fenômeno no tecido retiniano também foi possível com fotoativação do corante rosa de bengala (Netto & Martins-Ferreira, 1989) e aplicação de ácidos graxos insaturados como o ácido araquidônico (Do Carmo & Martins-Ferreira, 1992). Ao contrário do que foi verificado no córtex, a ACh e prostigmina mostraram-se eficazes para produzir DA na retina (Rodrigues & Martins-Ferreira, 1980).

### **1.5: Bloqueio da DA.**

Büres e Büresová (1956) determinaram a ação bloqueadora dos cátions divalentes na deflagração e propagação da DA, aplicando diferentes concentrações de  $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $SrCl_2$  ou  $BaCl_2$ , no córtex cerebral de rato. Esses pesquisadores concluíram pela existência de uma relação inversa, o  $Mg^{2+}$  sendo o mais eficaz e, o  $Ba^{2+}$ , o menos eficaz para bloquear a DA evocada por  $KCl^-$  a 2%. Em retina de pinto, o  $Mg^{2+}$  bloqueia a deflagração e altera a velocidade de propagação da DA "circulante" (Martins-Ferreira e cols., 1974).

Diversas interpretações foram dadas para este efeito bloqueador do  $Mg^{2+}$ , tais como a estabilização da membrana celular (Hober, 1945), a alteração na distribuição de cargas através da membrana celular exercida pelos cátions divalentes (McLaughlin e cols, 1971) e o bloqueio voltagem dependente dos canais NMDA pelo  $Mg^{2+}$  (Mody e cols., 1987).

### **1.6: Propagação da DA.**

Embora seja possível obter DA com uma variedade grande de estímulos, uma vez deflagrada a reação esta prossegue sua propagação sempre com as mesmas características, independente, portanto, da natureza do estímulo que a desencadeou. A intensidade do estímulo supralimiar também não altera a propagação da DA. Entretanto, fatores locais ou sistêmicos interferem na propagação da onda de Leão (Marshall e cols., 1951; Leão, 1963; Guedes, 1984; Guedes & Barreto, 1992). Tobiasz e Nicholson (1978) observaram que a aplicação local de TTX no córtex cerebral de rato não alterava a velocidade de propagação da DA. Em retina de pinto, a TTX diminui lentamente a velocidade da DA, sendo que esta redução é precedida por um breve aumento de velocidade (Martins-Ferreira, 1993). Estes resultados parecem indicar que a propagação da DA não depende exclusivamente de interações entre sinapses.

A velocidade de propagação da DA, muito lenta para ser decorrente apenas de transmissão sináptica, e muito rápida para ser explicada apenas por mecanismos de difusão, motivou a hipótese de que a DA seria um fenômeno químico-difusivo, resultante de alterações súbitas, do tipo "tudo-ou-nada", da permeabilidade da membrana celular (Martins-Ferreira & Do Carmo, 1987).

O mecanismo de propagação da depressão alastrante tem sido objeto de muitos estudos e diversas hipóteses têm sido levantadas. Grafstein (1956), ao verificar que a frente de onda da DA vinha acompanhada por uma salva de alta frequência de potenciais de ação, pro-

pôs que o  $K^+$  liberado por esta atividade seria suficiente para despolarizar os neurônios adjacentes, criando uma onda auto-regenerativa de despolarização. A hipótese de Grafstein foi reforçada pelos achados de Brinley e colaboradores (1960), que detectaram aumento da  $[K^+]_o$  durante o fenômeno de Leão em coelhos anestesiados. Estes dados foram confirmados posteriormente por diversas técnicas, como a fotometria de chama (Krivanek & Bűres, 1960) e microeletrodos seletivos ao  $K^+$  (Vyskocil e cols., 1972; Do Carmo e cols., 1977).

A observação de que o glutamato, em concentrações menores que o  $K^+$ , deflagrava a DA cortical levou Van Harreveld (1959) a concluir que este aminoácido seria o elemento mais importante na deflagração e propagação da DA. Tentativas de medir o efluxo de glutamato durante a DA, em córtex de rato, não foram bem sucedidas (Bűres e cols., 1974). Van Harreveld e Fifková (1970) detectaram liberação de glutamato durante a DA em retinas de pinto. Estudos posteriores, no entanto, trouxeram dúvidas quanto ao papel central do glutamato na DA. Do Carmo e Leão (1972) não obtiveram DA quando o glutamato era aplicado topicamente no córtex de coelho e rato anestesiados. Em outras preparações, como em retina de pinto, também não foi detectada liberação de glutamato durante a DA, mesmo em condições onde a susceptibilidade do tecido ao fenômeno foi aumentada mediante redução de  $[Cl^-]$  (Gardino & Do Carmo, 1983). Scheller e cols. (1993), estudando a DA cortical em rato com a técnica da microdiálise, detectaram liberação de glutamato apenas no local onde a reação era deflagrada por aplicação tópica de  $KCl$ , mas não em locais distantes do ponto de estímulo. Este achado foi interpretado como decorrente da pouca sensibilidade do método empregado para medir as pequenas quantidades deste aminoácido que seriam liberadas durante o fenômeno de Leão.

O envolvimento dos canais NMDA no fenômeno de Leão tem sido objeto de extensa investigação. Neste sentido, verificou-se que doses micromolares de MK-801 e APV, antagonistas dos canais NMDA, bloquearam a deflagração e a propagação da DA em diversos mode-

los experimentais (Mody e cols., 1987; Lauritzen e cols., 1993). Além destes antagonistas farmacológicos, os canais NMDA são bloqueados por concentrações fisiológicas de  $Mg^{2+}$  (0,7-1,2 mM). O aumento da condutância desses canais ao  $Na^+$  e, principalmente, ao  $Ca^{2+}$ , pode ser obtido por redução de  $[Mg^{2+}]_o$  ou por despolarização da membrana celular utilizando altas  $[K^+]_o$ .

Para o estudo da propagação em retina isolada *in vitro*, Martins-Ferreira e cols., (1974) desenvolveram uma preparação em que a depressão alastrante fica circulando, aprisionada em um anel de retina desde que sejam controladas algumas variáveis como a temperatura, fluxo de superfusão etc... O fenômeno também se mantém caminhando dentro da pista circular com velocidade uniforme, durante várias horas. Como a composição química da solução de Ringer básico usada para a superfusão havia sido estabelecida, de forma “tentativa e erro”, com a finalidade exclusiva da obtenção da reação em retinas isoladas, no trabalho citado os autores fazem um estudo sistemático da influência de cada um dos componentes da solução, na velocidade de propagação da DA circulante, estudo este que pode ser utilizado, também, para a DA não circulante. Variando-se de cada vez a concentração de um dos componentes, dentro de uma faixa que incluía a da empregada na solução básica, podem-se avaliar a influência individual de cada um desses componentes. Vemos conseqüentemente, que é muito nítida a ação antagônica entre os íons potássio e magnésio, como também uma relação antagônica entre os íons cloreto e a velocidade de propagação, dentro das faixas de concentração exploradas. Torna-se claro, também, o efeito do aumento da temperatura, porém há um máximo (cerca de 35°C) acima do qual a velocidade começa a diminuir. Martins-Ferreira e cols (1970) optaram, neste trabalho, pela seguinte composição para um Ringer padrão (mM): NaCl 100, KCl 6, CaCl<sub>2</sub> 1, MgSO<sub>4</sub> 1, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 e glicose 30. Finalmente foi relatada a influência da osmolaridade da solução, cuja variação está inversamente relacionada à velocidade de propa-

gação da DA. Usando-se a solução de Ringer padrão a 270 mosmol e mantendo-se a temperatura em torno de 30°C, a velocidade de propagação da DA foi de 3,71+/- 0,21 mm/min. Mantendo-se estas condições experimentais essa velocidade é obtida rotineiramente. Chamamos a atenção para o fato de que este Ringer padrão, experimentalmente desenvolvido, possui tal equilíbrio eletroquímico que mantém a retina isolada viável por muitas horas.

### **1.7: Influência de agentes químicos na DA**

Há uma grande lista de trabalhos sobre a influência de agentes químicos, que atuando como estímulo para a eliciação do fenômeno, quer modulando o tecido nervoso de forma que o mesmo fique, ou mais propício, ou mais resistente à DA (Büres e cols, 1974). De toda a literatura revista, ressalta-se de forma incisiva o envolvimento dos íons potássio. Já Leão e Morison (1945) demonstraram que uma solução de cloreto de potássio a 1%, colocada localmente no córtex cerebral de coelhos, prontamente deflagrava a reação. Marshall (1959) cobria o córtex cerebral de gatos com solução de Ringer contendo 10mM de potássio com o objetivo de obter DAs reproduzíveis. Büres e cols. (1974) empregaram sistematicamente injeções de cloreto de potássio para deflagrar a fenômeno em regiões profundas do SNC.

Finalmente, foi demonstrada a saída de íons potássio para o líquido que superfundia a superfície do córtex cerebral durante a reação (Brinley e cols., 1960; Büres & Krivanek, 1960). Com o emprego de microeletrodos cheios de resina trocadora de íons, específica para o potássio, foi verificada que, concomitantemente com a variação lenta de voltagem, há um grande aumento reversível da concentração do potássio no meio extracelular (Vyskocil e cols., 1972; Prince e cols., 1973; Futamachi e cols., 1974; Sugaya e cols., 1975). Este aumento reversível de potássio extracelular, não tem equivalente em nenhum outro fenômeno do SNC e pode atingir valores de 40 a 80 mM. no seu máximo de amplitude.

Nas preparações isoladas de retina é também marcante a influência dos íons potássio. Martins-Ferreira (1962) obteve DAs em retina de rã, aumentando a concentração de potássio na solução de Ringer onde estava imersa a preparação (estímulo químico). Struchiner e Martins-Ferreira (1976) demonstraram a saída de íons de potássio da retina para o líquido de superfusão e que, a quantidade de íons potássio liberados de uma calota de retina, durante uma onda de depressão, era suficiente para provocar a reação em outra calota de retina, superfundida em série com a primeira. Mori e cols. (1976) e Do Carmo e cols. (1977), usando microeletrodos com resina específica para íons potássio, mostraram que na retina, do mesmo modo que no córtex cerebral, as variações lentas de voltagem são acompanhadas de grandes variações de concentração de potássio no meio extracelular. Tanto no córtex cerebral como em preparações de retina isolada, pode ser demonstrado um antagonismo entre a ação favorecedora e estimulante dos íons potássio e a influência bloqueadora e freidora dos íons divalentes, cálcio e magnésio (Büres e cols., 1984; Martins-Ferreira e cols., 1974).

A grande importância da concentração dos íons potássio e magnésio na solução de superfusão da retina não estão situados exclusivamente em seus valores absolutos, mas, também, na proporção entre esses dois elementos, isto é, na relação  $K^+/Mg^{2+}$ . O estudo referentes a importância desta relação foi feito por Gemelli-Menucci como parte integrante de sua Tese de Doutorado (Gemelli-Minucci, 2001). A diminuição gradual de  $K^+$ , na faixa de 6,0 a 2,0 mM, resultou na redução da velocidade de propagação da DA de  $6,3 \pm 0,1$  para  $4,8 \pm 0,1$  mm/min. O aumento gradual de  $K^+$  (6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0; 12,0 mM) não acarretou alterações na velocidade da DA, porém propiciou a ocorrência de DAs espontâneas. Estas alterações de velocidade não foram totalmente reversíveis, em 15 min. de observação, quando as condições controle (Rs. com  $K^+$  em 6,0 mM) foram reestabelecidas. A redução de  $K^+$  não alterou a amplitude da VLV, porém causou discreta alteração em sua fase descendente. A redução gradual de magnésio não acarretou redução significativa na velocidade de propagação

da DA até o limite de 0,25 mM, quando então surgiram DAs espontâneas. A redução abrupta de magnésio (1,0 para 0,25 mM) produz resultados semelhantes. O aumento gradual de magnésio (1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mM) resultou na diminuição da velocidade de propagação de 7,8 +/- 0,3 para 4,6 +/- 0,3 mM/min. Quando a concentração chegou a 6,0 mM, a estimulação mecânica tornou-se ineficaz. O retorno do tecido às condições controle (Rs. com  $Mg^{2+}$  1,0 mM) restabeleceu os valores iniciais da velocidade da DA. A diminuição de magnésio produziu discreto aumento na amplitude e na duração da fase descendente da VLV. O aumento de magnésio acarretou redução tanto na amplitude como na duração da VLV. O aumento progressivo de magnésio no Rs. mantendo-se a concentração de potássio em 6,0 mM resultou no bloqueio da onda de Leão, com magnésio a 6,0 mM; mantendo-se o magnésio em 6 mM e aumentando-se gradualmente o potássio de 6,0 para 24,0 mM, obteve-se novamente a onda com velocidade progressivamente maior. Concentrações de potássio maiores que 24 mM acarretam diminuição progressiva da velocidade, com bloqueio em 36,0 mM. O restabelecimento das condições iniciais do experimento ( $Mg^{2+}$  1,0 mM e  $K^+$  6,0 mM tornou a retina novamente susceptível ao fenômeno, quando estimulada mecanicamente (Gemelli-Minucci, 2001).

O termo susceptibilidade foi utilizado para se definir a tendência de uma preparação para apresentar DA, quando submetida a estímulos adequados. A susceptibilidade de uma preparação pode ser avaliada pela velocidade de propagação da DA (Martins-Ferreira, 1993), pelo limiar de deflagração por substâncias químicas (Büres e cols. 1974; Martins-Ferreira e cols., 1993) e pela ocorrência de DAs espontâneas (Martins-Ferreira e cols., 1974). Geralmente, quando a susceptibilidade de uma preparação está aumentada, como na redução de Cl<sup>-</sup> (Leão, 1963; Guedes & Do Carmo, 1980; Marrocos & Martins-Ferreira, 1990), há um aumento da velocidade de propagação da onda de Leão e surgem DAs espontâneas. Por outro lado, fatores químicos que diminuem a susceptibilidade da preparação, como a d-fenfluramina

(bloqueador da recaptação de serotonina) acarretam redução da velocidade do fenômeno (Cabal-Filho e cols., 1995). Existem, entretanto, exceções a esta regra como o aumento de  $K^+$ ; este torna a preparação mais susceptível ao fenômeno, fato este indicado pela eliciação do fenômeno com estímulos ópticos e pela ocorrência de DAs espontâneas, sem aumentar a velocidade de propagação da onda (Martins-Ferreira e cols., 1974).

Os mecanismos relacionados à deflagração da DA em situação de alta de  $K^+$  ainda são objetos de estudo. A despolarização da membrana de neurônios e glia, decorrente de aumento de  $K^+$ , pode ter um papel importante no que diz respeito à deflagração da DA quando um limiar de deflagração é atingido (Büres e cols., 1974; Lothman e cols., 1975). Assim, é sabido que esta manipulação experimental acarreta a liberação do bloqueio voltagem-dependente exercido pelo  $Mg^{2+}$  nos canais NMDA (Mayer e cols. 1993; Osawa, 1993) e que os antagonistas destes canais, como o MK-801, bloqueiam a deflagração e a propagação da DA em córtex de ratos anestesiados (Guedes e cols., 1988; Marranes e cols., 1988; Lauritzen & Hansen, 1992). O papel dos canais não-NMDA na DA tem-se revelado inconclusivo. Os antagonistas dos receptores AMPA, como o CNQX, não apresentaram efeitos na DA em córtex (Lauritzen & Hansen, 1992; Nellgard & Wieloch, 1992), nem em fatias de hipocampo de rato (Psarropoulou & Avoli, 1992). Outro estudo, utilizando modelos de isquemia cerebral em rato, revelou que DAs oriundas da “zona de penumbra” podiam ser bloqueadas por doses de CNQX equivalentes às utilizadas nos trabalhos anteriores (Mies e cols., 1994).

A proporção com que cada um desses fatores poderia atuar sobre a velocidade de propagação da DA ainda não está esclarecida. É possível que estes fatores, além dos já conhecidos, como o pH (Ferreira-Filho & Martins-Ferreira, 1992); temperatura (Martins-Ferreira et al. 1974); agitação mecânica (Diuana, 1975; Do Carmo e cols., 1985) etc. estejam interagindo de forma complexa para influenciar a velocidade do fenômeno (Martins-Ferreira, 1993).

Chamamos a atenção, finalmente, para o fato de que o tecido retiniano fica edemaciado quando exposto às altas concentrações de  $K^+$  (Oliveira Castro & Martins-Ferreira, 1970).

### **1.8: Migrânea – epidemiologia .**

A migrânea e a epilepsia dividem várias características clínicas semelhantes. O equilíbrio entre a transmissão excitatória glutamato-mediada e a inibição GABA-mediada, em áreas específicas do cérebro, é consenso em ambas as patologias. Entretanto, a ativação anormal de canais iônicos voltagem-dependentes tem sido implicada na fisiopatologia tanto da migrânea quanto da epilepsia. A hipótese de que venha a existir uma interface clínica entre a epilepsia e a migrânea está baseada em achados, comuns a ambas as patologias, relacionados a alterações de estados de excitabilidade neuronal associados a uma base genética comum. Epilepsia é uma co-morbidade da migrânea, ocorre mais frequentemente em pacientes com migrânea do que na população em geral, e a prevalência da migrânea em pacientes epiléticos é maior do que em controles (Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society, 2004; Haut, 2006).

A Cefaléia é uma das queixas mais comuns de pacientes em consultórios de neurologista e, também, é o tipo de dor mais freqüente na população em geral, sendo responsável por mais de 10 milhões de visitas a consultórios médicos por ano nos EUA. (Collins,1986). A maioria das cefaléias são primárias, principalmente a migrânea e a cefaléia de tensão. Existe uma estimativa de que 6% de homens e de 15 a 17% de mulheres nos EUA sofram de migrânea, porém apenas de 3 a 5% destas pessoas vêm a receber terapia específica preventiva (Stewart e cols.,1994). Além do mais a migrânea costuma não ser diagnosticada em algumas visitas a generalista e até a especialistas (Lipton e cols.,1998). Estudos populacionais indicam que

os pacientes migranosos são os pacientes mais insatisfeitos com o seu tratamento e vêm a relatar uma piora significativa de sua qualidade de vida (Silberstein & Lipton, 1997).

A migrânea é uma patologia heterogênea em frequência, duração e grau de limitação para a qualidade de vida dos pacientes. Alguns migranosos apresentam menos de um ataque da doença por mês enquanto outros podem apresentar até dez ataques por semana (Rasmussen, 1995). Alguns doentes apresentam-se profundamente comprometidos com a sua doença. Consequentemente torna-se importante certa padronização para o tratamento da população em geral, segundo o grau de severidade e comprometimento do doente, bem como o tratamento profilático da patologia em pacientes nos quais a migrânea apresenta um impacto sobre suas qualidades de vida. Novos estudos visando o desenvolvimento de drogas abortivas e profiláticas devem ser encorajados (Lipton, 1998).

As recomendações para a prevenção da migrânea estão focadas, por consenso da American Academy of Neurology nos pacientes que venham a apresentar dois ou mais ataques por mês, independente das características da migrânea (Tfelt-Hansen e cols., 1993). A terapia preventiva deve seguir, segundo esse consenso, os seguintes parâmetros:

- Ataques recorrentes de migrânea que, segundo os pacientes afetados, venham a limitar a qualidade de vida destes.
- Dores de cabeça frequentes (Silberstein, 1997).
- Contra-indicação ou falência do tratamento “abortivo”.
- Custo e efetividade do tratamento.
- Presença de condições migranosas incomuns, incluindo a migrânea hemiplégica, migrânea basilar, migrânea com aura prolongada e o infarto migranoso.

Os principais objetivos do tratamento profilático da migrânea, por consenso, são:

1. Redução da frequência, severidade e duração do ataque.

2. Melhorar a resposta do tratamento agudo e profilático, promovendo melhora na qualidade de vida dos pacientes.
3. Reduzir sequelas da doença.

Segundo a definição operacional do *Classification Committee of the International Headache Society* a migrânea pode ser definida como crises paroxísticas de cefaléia com duração de 4 a 72 horas, frequentemente unilateral, de caráter pulsátil, intensidade moderada ou severa e que se agrava pela atividade física rotineira. É um padrão de dor geralmente associada a náuseas, vômitos, fotofobia e/ou fonofobia. Na prática clínica conhecemos dois tipos de enxaqueca: Crises associadas com uma aura de sintomas neurológicos focais e a cefaléia periódica sem aura (Olsen, 1988; Lipton, 2004).

A aura, quando presente, deve apresentar os seguintes critérios: Um ou mais episódios, indicando localização focal cerebral e/ou cortical e/ou do tronco cerebral, plenamente reversíveis; pelo menos um episódio de aura se desenvolve gradualmente por mais de 4 minutos ou dois ou mais sintomas ocorrendo sucessivamente; nenhum sintoma de aura demora mais de 60 minutos, caso isso ocorra devemos considerar a possibilidade de migrânea complicada (isquêmica); a dor de cabeça segue geralmente a aura após um intervalo livre de menos de 60 minutos, ela pode, no entanto iniciar-se antes ou durante a aura ou até aparecer de forma isolada (sem a evolução para cefaléia). Os principais tipos de aura são os distúrbios visuais homônimos (Fig.4), parestesias unilaterais, paresias unilaterais e afasia ou algum tipo de desordem inespecífica da fala.

Na prática médica podemos encontrar também alguns tipos pouco freqüentes de manifestações migranosas: migrânea com aura prolongada (mais de 60 minutos e menos de 7 dias); migrânea hemiplégica (na qual a aura inclui algum grau de hemiparesia que tende a ser prolongada e que pode, após reversão, reincidir); Migrânea basilar (associada a sintomas do tronco cerebral como vertigem, visão dupla, tinidos, ataxia, parestesias bilaterais, paresias bilate-

rais e diminuição do nível de consciência); migrânea retinal (associada à escotomas visuais ou cegueira durando menos de 60 minutos) e migrânea oftalmoplégica (associada à paresia de um ou mais nervos cranianos relacionados à mobilidade ocular – III IV e VI- com duração maior que 60 minutos, porém reversível. (Olesen, 1988; 1994; Lipton, 2004).

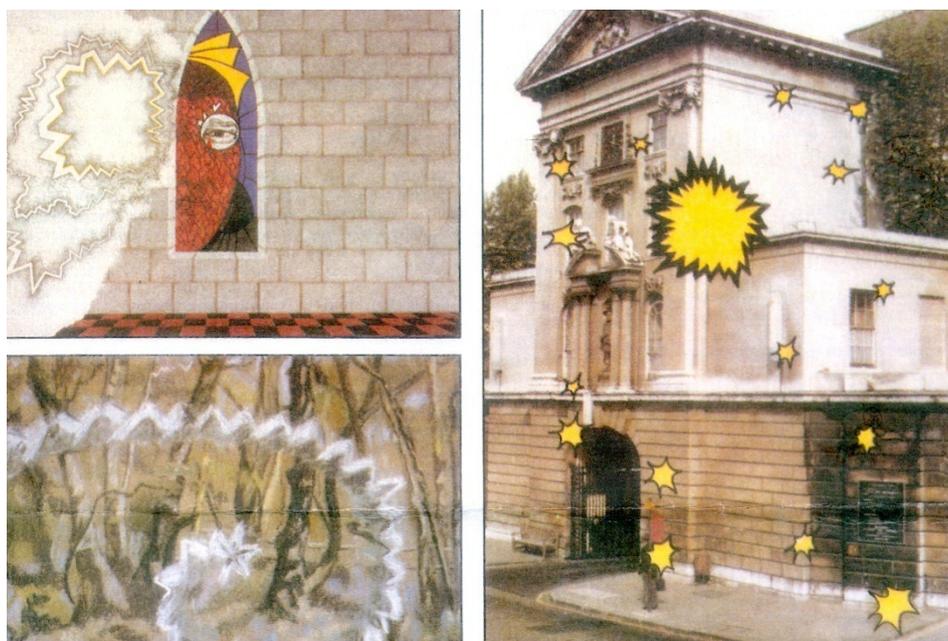


Fig.4) Principais tipos de aura visual observados na prática clínica. Serrilhamento inespecífico; serrilhamento “em castelo” e escotomas difuso. De autor desconhecido, Manual Globo Saúde, 1992. Editora Globo.

Especialistas em cefaléia classificaram os ataques de migrânea em quatro estados distintos: sem migrânea, baixa frequência de episódios migranosos (< 10 cefaléias/mês), alta frequência de episódios migranosos (10 a 14 por mês) e migrânea crônica (MC,  $\geq$  15 ataques por mês). A maioria dos estudos populacionais estima que pacientes que apresentam baixa frequência de episódios ou alta frequência de episódios, deverão evoluir para MC na proporção aproximada de 2,5% por ano. Dois estudos populacionais longitudinais, *The Frequent Headache Epidemiology study* e o *American Migraine Prevalence and Prevention (AMPP) Study* (ainda em andamento) nos proporcionam dados sobre os riscos para a evolução para

MC. Iniciado em 2004 o estudo AMPP tem uma amostra de mais de 10000 pacientes migranosos anualmente por 4 anos. Dados do *Frequent Headache Epidemiology study* e do AMPP mostram que pacientes com MC apresentam baixos níveis educacionais e dificuldades no ambiente familiar além de tenderem a ser mais velhos e terem maior índice de massa corporal. Os principais fatores de risco para a evolução para MC são: alta frequência de ataques migranosos, obesidade, vida estressante e overdose de analgésicos, depressão e ansiedade (Lipton, 2009).

### **1.9: Migrânea – fisiopatologia.**

Durante muito tempo a migrânea foi considerada uma patologia de etiologia vascular (Holff, 1963), em oposição a uma disfunção do parênquima cerebral. Uma isquemia focal induzida por vasoespasm cerebral transitório, com hiperemia reativa intracranial subsequente foram consideradas como causas da enxaqueca. A descoberta da Depressão Alastrante (Leão, 1944a, 1944b) levantou a possibilidade de que um fenômeno predominantemente neural e não vascular, pudesse explicar os fenômenos neurológicos focais da migrânea, fato este que levou a formulação de um grande número de hipóteses para a patogênese da migrânea. (Blau, 1987; 1992; Sandler & Collins, 1990). Infelizmente, a causa e o mecanismo da patologia são frequentemente confundidos. A causa primária da migrânea ainda é desconhecida, da mesma forma que ainda não conhecemos de forma efetiva a real causa do fenômeno de Leão. Alterações metabólicas cerebrais ou fatores circulantes podem ser responsáveis pelo desencadear do processo enxaquecoso; no entanto, a interpretação mais atual do fenômeno é a de que o cérebro é o órgão sede onde o ataque de migrânea se inicia; o controle neurogênico desordenado da circulação intrínseca e extrínseca é um fenômeno secundário a deflagração do ataque mi-

granoso e a cefaléia pode surgir como consequência de uma disfunção transitória ou ameaça de disfunção cerebral (Buzzi, 1995; Hardebo, 1991; Welch, 1987).

As teorias vasculares e neuronais poderiam, portanto, estar associadas, se considerarmos o fato de que a DA cortical, responsável pelos sinais neurológicos focais no início da crise de migrânea viesse a despolarizar fibras trigeminais sensíveis à dor em torno dos vasos sanguíneos da pia-aracnóidea, no nível do gânglio de Grasser e superfície ventral do cérebro (Hardebo, 1991). Esta ativação do sistema trigeminovascular (STV) induziria inflamação neurogênica, com aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação e edema da parede vascular (Moskowitz, 1984). Ao mesmo tempo, ocorreria a liberação de substâncias tais como *calcitonin gene-related peptide* (CGRP), substância P (SP), e outras citocinas como o fator alfa de necrose tumoral ( $\alpha$ TNF), leucotrienos e alguns interferons, a partir de fibras sensitivas. Além disso, os mastócitos locais viriam a degranular. Outros neurotransmissores vasoativos, como o peptídeo intestinal vasoativo (VIP) e o neuropeptídeo Y (NPY) poderiam reflexamente ser liberados de fibras parassimpáticas e simpáticas, respectivamente. A condução ortodrômica de impulsos trigeminais levaria à percepção de dor. Peptídeos vasoativos como a neuroquina A (NKA), somatostatina, VIP e dinorfina já foram identificados em neurônios aferentes primários; SP, CGRP e NKA já foram confirmados como neurotransmissores do sistema trigemino vascular (Limmroty e cols. 1996). Foi demonstrado que a DA cortical provoca a expressão do “protoncogene” c-fos no córtex (Herrera, e cols., 1993) e no núcleo trigeminal (Moskowitz e cols., 1993), sugerindo uma ligação entre a onda de Leão e a ativação do Sistema Trigemino Vascular (STV). Este “protoncogene”, um marcador não específico da atividade neural, é bem caracterizado como marcador de ativação celular após estímulos nocivos e se expressa numa região (lâmina I e II), que sabidamente contém terminações primárias não mielinizadas (Limmroth e cols., 1996). Finalmente, considera-se que esta sucessão de eventos, especificamente a ativação do STV venha a provocar uma vasodilatação arterial extracraniana e uma

alteração da vascularização arteriolar intracraniana, principalmente da circulação no nível da pia-aracnóidea, que poderia explicar as alterações vasculares observadas durante os ataques de migrânea (Moskowitz e cols., 1993; Moskowitz, 1993).

Não podemos deixar de enfatizar a associação entre a migrânea e o aumento da excitabilidade neuronal, fundamental para o contexto da fisiopatologia da migrânea. A migrânea apresenta várias características em comum com as chamadas canalopatias: a ocorrência de forma episódica em pessoas previamente assintomáticas, associação com o stress, a ação de fatores dietéticos, a ação de fatores hormonais, a associação desta com síndromes mitocondriais associadas à canalopatias como a MELAS (acidose láctica associada a vários acidentes vasculares isquêmicos) e a eficácia de alguns fármacos que vêm a atuar sobre canais iônicos (Aleja e cols., 2006).

Atualmente a hipótese da Teoria Glutamaérgica, segundo a qual uma alteração no equilíbrio do glutamato no espaço extracelular possa vir a gerar potenciais excitatórios pós sinápticos em repouso a partir da ativação de receptores AMPA e kainato, ligeiramente aumentados nos pacientes migranosos, os quais viriam a explicar a hiperexcitabilidade cortical observada nos pacientes com migrânea crônica, vem se concretizando (Aleja e cols., 2006; Rogawski, 2008).

### **1.10: DA em humanos e a relação do fenômeno de Leão com a aura da migrânea.**

Büres e cols. (1977) mostraram, pela primeira vez, que a substância cinzenta de seres humanos *in vivo* pode apresentar DA. Os autores aplicaram injeção microiontoforética de KCl no núcleo caudado e hipocampo de pacientes submetidos a procedimentos neurocirúrgicos, e registraram a VLV da DA propagando-se ao longo destas estruturas à razão de 3,2 mm.min<sup>-1</sup>.

Entretanto, o registro da DA em seres humanos apresenta diversas dificuldades metodológicas, apesar dos vários trabalhos mostrando que outras alterações típicas da DA, como as variações de fluxo sanguíneo, ocorrem durante as crises de enxaqueca (Lauritzen, 1987; 1994; Olesen, 1991). Alguns autores (Gloor, 1992) relatam que jamais detectaram DA no córtex cerebral humano exposto para manipulações neurocirúrgicas. Argumentam que, se esse fenômeno realmente ocorresse em humanos, o registro contínuo do EEG desses pacientes revelaria tal depressão. Entretanto, a lenta variação da voltagem do meio extracelular durante a DA não é detectada pelos amplificadores convencionais – do tipo AC – utilizados em eletroencefalografia clínica. Estes amplificadores atenuam fenômenos de baixa frequência, como a VLV da DA. Além disso, a depressão total do EcoG ocorre apenas em uma estreita faixa de tecido no córtex cerebral, cerca de 1,5 a 2,0 cm, que é o comprimento de onda da DA. Esta faixa estreita de tecido em depressão da atividade espontânea não é registrada pelos amplificadores AC devido à falta de resolução espacial dos mesmos. Por outro lado, Mayevsky e cols. (1995), utilizando amplificadores DC, obtiveram registros semelhantes à VLV e à variação da  $[K^+]_o$  durante a DA em pacientes vítimas de traumatismo crânioencefálico. No referido trabalho, doze pacientes foram submetidos à monitoração contínua do “sustained potential” e da  $[K^+]_o$ , e “salvas” de DA foram registradas em um desses pacientes. Em outros estudos, a VLV da DA foi registrada em procedimentos estereotáxicos no hipocampo, durante cirurgias para epilepsia (Sramka e cols., 1977). Em 1991, Avoli e colaboradores demonstraram a ocorrência de DA em fatias de córtex cerebral humano, *in vitro*, expostas à solução sem  $[Mg^{2+}]$ .

Strong e colaboradores (2002) registraram o fenômeno de Leão no córtex cerebral exposto de pacientes com hematomas intracranianos traumáticos ou espontâneos, durante o ato cirúrgico e com a ajuda de microeletrodos. Este trabalho demonstrou de forma inequívoca a ocorrência da DA em humanos, com as mesmas características eletrocorticográficas (i.e. depressão do eletrocorticograma) descritas nos animais de experimentação.

Cerca de 20% dos pacientes com migrânea apresentam manifestações visuais que antecedem as crises de dor (Ropper, 2005), as manifestações visuais caracterizam-se por cintilações que se propagam lentamente pelo campo visual do paciente (espectros de fortificação) que são seguidas por um escotoma. Lashley (1941) analisou a progressão de sua própria aura visual, que consistia de um escotoma com uma borda cintilante, que se propagava lentamente pelo seu campo visual. Ele propôs que o escotoma resultava de uma região de atividade neuronal deprimida no córtex cerebral, e que as cintilações eram as resultantes de uma região de intensa atividade neuronal na periferia desta região. Este fenômeno propagar-se-ia no córtex cerebral, segundo seus cálculos, a uma velocidade de  $3 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$  (Lashley, 1941). A hipótese de Lashley obteve um “suporte” experimental em 1956, quando Grafstein demonstrou no córtex cerebral de coelhos, que a frente de onda da DA, era marcada por uma salva de alta frequência de potenciais de ação, ao passo que na região cortical afetada pela DA, a atividade neuronal encontrava-se diminuída (Grafstein, 1956).

Estudando os traços e linhas que compõem o “espectro fortificado”, W. Richards (1971) considerou serem estas alterações o resultado de atividade neuronal cortical. A partir de mapas eletrofisiológicos da topografia do campo visual no córtex estriado humano, este pode concluir que a velocidade máxima de propagação da onda era de  $3,3 \text{ mm/min}$ ; velocidade esta, como o próprio autor ressalva, concordante com a obtida por Lashley trinta anos antes.

A aura visual é a mais frequente, e tem sua origem no córtex visual primário (área 17), que é a região do córtex com a maior densidade de neurônios. Leão e Morrison (1945) foram os primeiros a sugerir que a DA poderia explicar os escotomas cintilantes da aura da migrânea. Milner (1959) observou a semelhança entre a velocidade de propagação da DA no córtex de coelho ( $3 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$ ) e a velocidade de progressão dos escotomas cintilantes descritos por Lashley (1940) em suas próprias crises de migrânea.

As crises de migrânea são acompanhadas por redução do Fluxo Sanguíneo Cerebral (FSC) inicialmente no pólo occipital, propagando-se então para as regiões anteriores do cérebro a uma velocidade de 3 mm/min. Estas alterações de FSC já foram medidas em pacientes durante uma crise de migrânea, utilizando-se Tomografia por Emissão de Pósitrons (Woods e cols, 1994). A redução máxima do FSC é de 30-40%, muito menor do que a alteração de FSC necessária para acarretar isquemia do córtex cerebral (Pietrobon & Striessnig, 2003), fato este que sugere que as manifestações visuais da aura decorram de isquemia do córtex cerebral.

Olesen e cols. (1981) e Lauritzen e cols. (1983), utilizando  $Xe^{133}$  intracarotídeo, observaram que nos pacientes com migrânea com aura, ocorria durante a crise diminuição do FSC que se iniciava na região occipital e se expandia no sentido anterior do cérebro, por vezes envolvendo todo o hemisfério, com velocidade em torno de 2-3 mm/min. Este “hipofluxo alastrante” é restrito ao córtex, não respeita os territórios supridos pelas grandes artérias, tem a sua progressão bloqueada pelos sulcos central e lateral e a auto-regulação preservada. Além deste fato, a reatividade vascular a estímulos com atividade mental e física está bloqueada, e a resposta às variações do  $CO_2$  diminuídas em 50%. Esta hipoperfusão dura todo o tempo da aura, indo até além da fase inicial de dor, desvinculando, portanto, na migrânea com aura, as alterações da dinâmica vascular dos mecanismos básicos da aura e da dor subsequente. Uma vez que a velocidade e o modo de propagação do hipofluxo apresentavam semelhanças com o fenômeno de Leão, Laurentzen (1987) idealizou algumas experiências em córtex de ratos, demonstrando que as alterações vasculares no decurso da DA apresentavam características semelhantes àquelas observadas nos pacientes com migrânea, tais como: hipoperfusão restrita ao córtex com auto-regulação preservada e respostas reduzidas às variações do  $CO_2$  e abolidas aos estímulos periféricos. Chama-se a atenção para o fato de que uma crise de migrânea pode eventualmente ser abortada pela inalação de uma mistura de  $CO_2$  e  $O_2$  (Marcussen, 1950), que também abole a propagação da DA no córtex de ratos (Gardner-Medwin & Mutch, 1984).

A magnitude do hipofluxo e seu alastramento tornaram-se assuntos em discussão no meio científico. Para alguns pesquisadores (Olsen e cols., 1987), as aferições do FSC teriam sido subestimadas (passivas, portanto, de promover isquemia) e o alastramento não passaria de um artefato devido a um erro metodológico na avaliação da irradiação difundida do território vizinho normoperfundido (Fig.5). Para outros autores (Kronborg e cols., 1990) seria impossível prever por análise teórica qual a importância da irradiação difundida na aferição do FSC, considerando-se a aparelhagem utilizada. Em função dessa polêmica, chamamos a atenção para o trabalho mais atual de Woods e cols, (1994) que, utilizando metodologia moderna que vinha a incluir o uso de tomografia por emissão de pósitrons, sem que houvesse interferência da irradiação difundida de territórios vizinhos, flagraram imagens no exato momento em que uma paciente apresentava um ataque não provocado de enxaqueca com aura típica. Registrou-se, então, claramente, a existência de hipoperfusão alastrante cortical (decremento máximo na ordem de 40%) que caminhou anteriormente a partir da região occipital, com velocidade constante, não respeitando os territórios de irrigação de grandes vasos; semelhante, portanto, em magnitude e duração ao hipofluxo que ocorre após a DA.

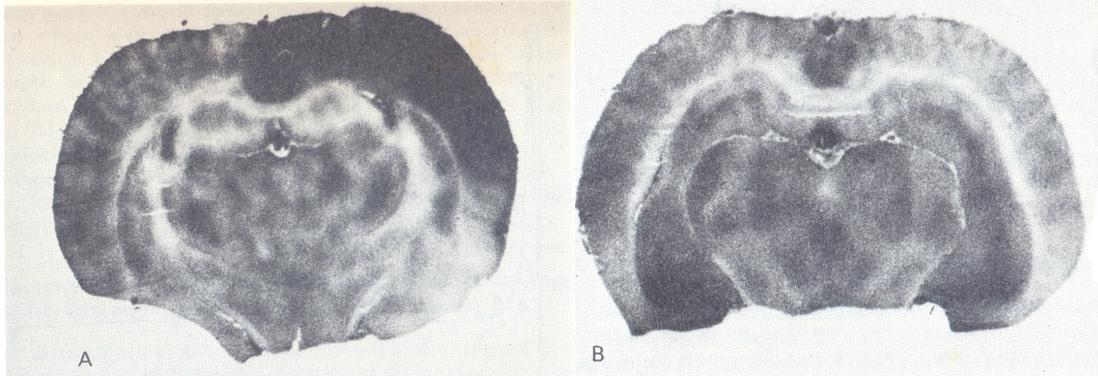


Fig.5) Imagens radiográficas de cérebro de rato mostrando o fluxo sanguíneo cerebral(FSC) . A depressão alastrante (DA) é eliciada pela aplicação iontoforética de  $KCl$  a 1 molar por 30 segundos. Em períodos de tempo selecionados após a eliciação da DA o FSC regional é mensurado pelo método de fracción do indicador ( o rato recebe 150Ci/Kg de 4-(N-methyl-14 C) iodoantipirina em 200  $\mu$ l. de salina rapidamente injetado em sua veia femoral. As imagens mostram secções coronais de 17.5 mm feitas através do lobo parietal : (A) um minuto após DA revela-se a hiperperfusão da linha de “front” da DA no rato anestesiado com barbiturato; (B) 45 minutos após a DA verifica-se a hipoperfusão pós DA . Nota-se que as alterações do fluxo sanguíneo estão restritas ao neocórtex onde a DA foi eliciada. Reproduzido de Lauritzen e cols.(1982) Ann Neurol. 1982;12:469 – 474 .

Finalmente, ressaltamos que a dificuldade em se obter DA no córtex humano durante neurocirurgias (McLachlan & Girvin, 1994; Piper e cols., 1991), em condições semelhantes àquelas nas quais a DA é provocada em animais, reflete muito mais a dificuldade de se modificar de modo apropriado a susceptibilidade do tecido, do que o considerar resistente em expressar o fenômeno. Tentativas mais diretas de se estudar a DA em humanos durante ataques migranosos ou neurocirurgias, são limitadas tanto no aspecto técnico quanto ético (Gardner-Medwin & Mutch, 1984; Wilkinson, 1986), uma vez que estímulos aplicados no córtex normal podem resultar em dano permanente e, o mesmo estímulo, aplicado em tecido patológico, e que vai ser removido, pode não refletir a reação do cérebro normal.

A magnetoencefalografia também já forneceu evidências de que a DA é o mecanismo subjacente da aura da migrânea. Variações lentas do campo magnético cortical, correspondentes à VLV que é produzida pela despolarização neuronal e glial que ocorre durante a DA, já

foram registradas em pacientes migranosos durante uma aura espontânea ou provocada (Bowyer e cols., 2001).

### **1.11: Utilização de drogas antiepilépticas na profilaxia da migrânea.**

Migrânea é uma das formas mais comuns de dor de cabeça. Estima-se que entre 6 a 8% de homens e 12 a 14 % e de mulheres sofram de migrânea (Lipton e cols., 2002; Rasmussen e cols., 1991; Sher e cols., 1998; Silberstein, 1996). A prevalência durante a vida em mulheres e homens é maior que 25%; antes da puberdade esta se encontra entre 4 e 5 %. A maior incidência de “ataques” de migrânea ocorre entre 35 e 45 anos de vida. Nesta fase as mulheres são afetadas três vezes mais que os homens (Olsen 2004). Em função do fato de que os ataques frequentes de migrânea levam a uma importante alteração na qualidade de vida dos pacientes, a World Health Organization (WHO) definiu que a migrânea é uma das 20 maiores causas de “limitação de vida” (*disability*) no mundo (Maytal e cols., 1997). O principal objetivo da profilaxia da migrânea é a redução de sua frequência, severidade, duração dos “ataques” e prevenção de over dosagem de drogas abortivas; a profilaxia da migrânea é considerada efetiva caso haja uma redução na frequência de migrânea de, pelo menos, 50% (Diener, 2007).

Um estudo recente com uso de ratos como modelo experimental nos sugere que a Depressão Alastrante Cortical (DAC) é um alvo terapêutico para a profilaxia da migrânea com o uso de drogas antiepilépticas (DAE) (Ayata e cols., 2006). Neste estudo ratos foram tratados de por semanas (em média três), com DAEs (Topiramato, Divalproato e Gabapentina). O impacto do tratamento é mensurado através da frequência de eventos de DACs provocadas com o uso de estímulo químico (KCl) ou estímulos mecânicos. A administração crônica diária de DAEs suprimiu a frequência de DACs provocados em 40 a 80 %.

O conceito de que a migrânea é um estado de hiperexcitabilidade do sistema nervoso central tem evidências experimentais obtidas com a técnica de Estimulação Magnética Transcraniana (TMS). Nesta técnica, aplica-se um estímulo em diferentes regiões do crânio intacto, e registra-se em seguida uma variação de potencial elétrico na mesma região. Quando a TMS é aplicada sobre o córtex visual de pacientes com migrânea, obtêm-se respostas elétricas (potenciais elétricos registrados no couro cabeludo) e perceptivas (fosfenos no campo visual do paciente acordado) com estímulos de menor intensidade do que em indivíduos normais, fato que traduz um limiar de excitação menor nesta área do córtex (Brighina e cols., 2001; Batteli e cols., 2002; Giffin & Kraube, 2002). Estes dados, além das observações de algumas semelhanças entre migrânea e epilepsia, como por exemplo as variações de Fluxo Sangüíneo Cerebral regional nas duas entidades nosológicas, resultou no uso de anticonvulsivantes como drogas de primeira linha na profilaxia da migrânea (Mathew e cols., 2003).

O Divalproato de Sódio é o único anticonvulsivante aprovado pela FDA (US Food and Drug Administration) para a profilaxia da migrânea. O Divalproato de Sódio é composto de Valproato de Sódio e Ácido Valpróico em uma razão molar de 1:1. O íon Valproato é a forma de circulação do Ácido Valpróico no sangue. O Divalproato de Sódio tem vários mecanismos de ação no SNC, que incluem o aumento da síntese de Ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e a redução da degradação de GABA, pois inibe a enzima GABA-transaminase, que degrada o GABA. Além desses efeitos, também bloqueia canais de  $\text{Na}^+$  voltagem dependente e aumenta a condutância de canais de  $\text{K}^+$  /  $\text{Ca}^{2+}$  dependentes (Cutrer e cols., 1997). Seus principais efeitos colaterais são ganho de peso, principalmente no início do tratamento além de hiperamoniemia e alterações moderadas dos testes de função renal. (Victor & Ropper, 2005)

A Gabapentina (Ácido 1-amino-metilciclohexanoacético) é um novo aminoácido, criado a partir da adição de um radical ciclohexano à estrutura do GABA. A Gabapentina em concentrações de 100  $\mu\text{M}$  interage com a subunidade  $\alpha 2\beta$  dos canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo T, reduzindo

do a corrente por estes canais (Rogawski & Löscher, 2004). A Gabapentina também aumenta a concentração de GABA no cérebro (Yacubian, 1998). Pode estar associada à leucopenia e anemia (Victor & Ropper, 2005).

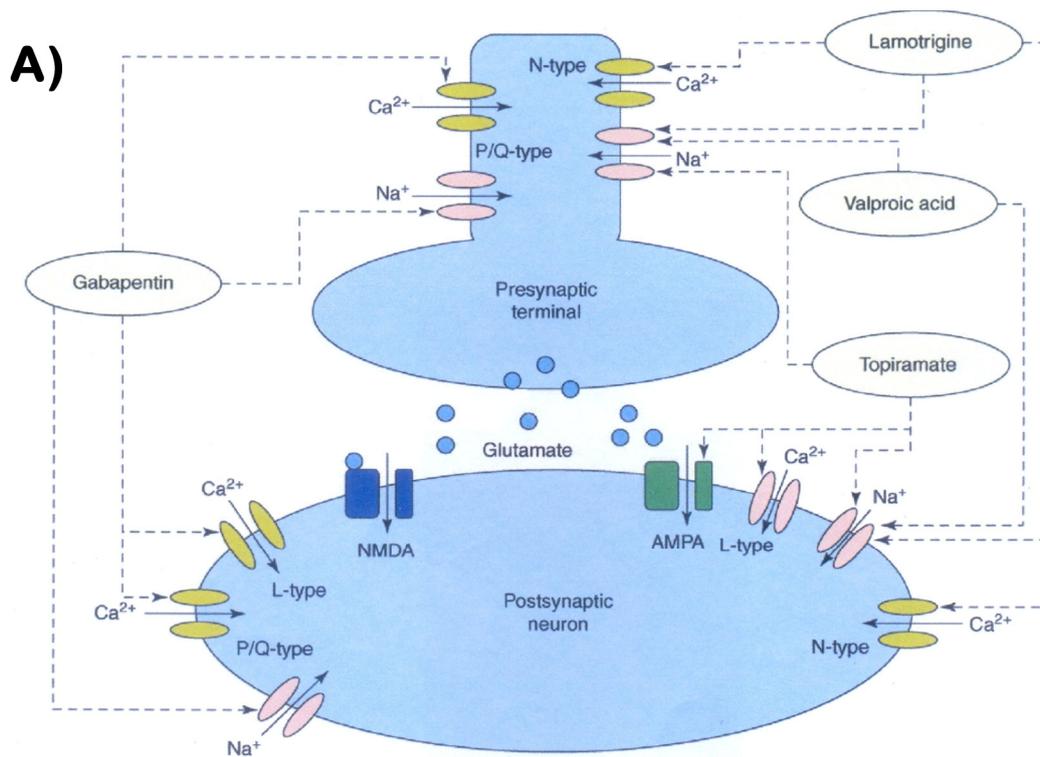
O Topiramato foi licenciado no Reino Unido em 1995 para uso em diversos tipos de epilepsia. É um derivado sulfonato-substituído do monossacarídeo natural D-frutose. Possui múltiplos mecanismos de ação, que incluem bloqueio de canais de  $\text{Na}^+$  voltagem-dependentes, potencialização das correntes  $\text{GABA}_a$  mediada por ação em um local diferente do sítio de ação dos benzodiazepínicos e bloqueio de receptores glutamatérgicos do tipo AMPA e bloqueio de canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L (White, 1997; White e cols., 1997). Está associado ao desenvolvimento de glaucoma e hipercolesterolemia em alguns pacientes. (Victor & Ropper, 2005).

A Lamotrigina além de inibir canais de  $\text{Na}^+$  voltagem-dependentes, estabiliza as membranas neuronais e age na modulação pré-sináptica da liberação de aminoácidos excitatórios (glutamato) e inibitória (GABA) (Wang e cols., 1996; Steiner e cols., 1997). A principal limitação para o uso clínico da droga é a ocorrência de “rash” cutâneo em aproximadamente 1% dos pacientes; têm-se observado, também, casos raros de coréia reversível (Victor & Ropper, 2005).

O Levetiracetam, além de inibir parcialmente canais de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo N, age na oposição da atividade de moduladores negativos sobre correntes  $\text{GABA}_a$ érgicas. Parece que seu sítio de ligação é a proteína sináptica SV2A. Através desta ligação a droga modula a liberação de neurotransmissores excitatórios e facilitar o efeito  $\text{GABA}_a$ érgico (Lynch e cols., 2004). Está associado à ocorrência de sonolência e vertigens. (Victor & Ropper, 2005). (Figs. 6 e 7)

Um aspecto importante no que diz respeito ao uso de drogas anti-epiléticas (DAE) para a prevenção efetiva da migrânea é a capacidade destas de agir através de múltiplos mecanismos pré e pós sinápticos. Em particular chamamos à atenção para a modulação negativa

dos canais voltagem-dependentes de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Na}^{+}$ , para a capacidade destas drogas em inibir, por diferentes mecanismos, a transmissão mediada por glutamato em áreas específicas do cérebro relacionadas com a fisiopatologia da migrânea, como nos núcleos trigeminais e nos núcleos periaquedutais da substância cinzenta, e para a habilidade destas drogas em promover o aumento do tônus GABAérgico endógeno e a modulação de receptores GABA (Calabresi e cols., 2007).



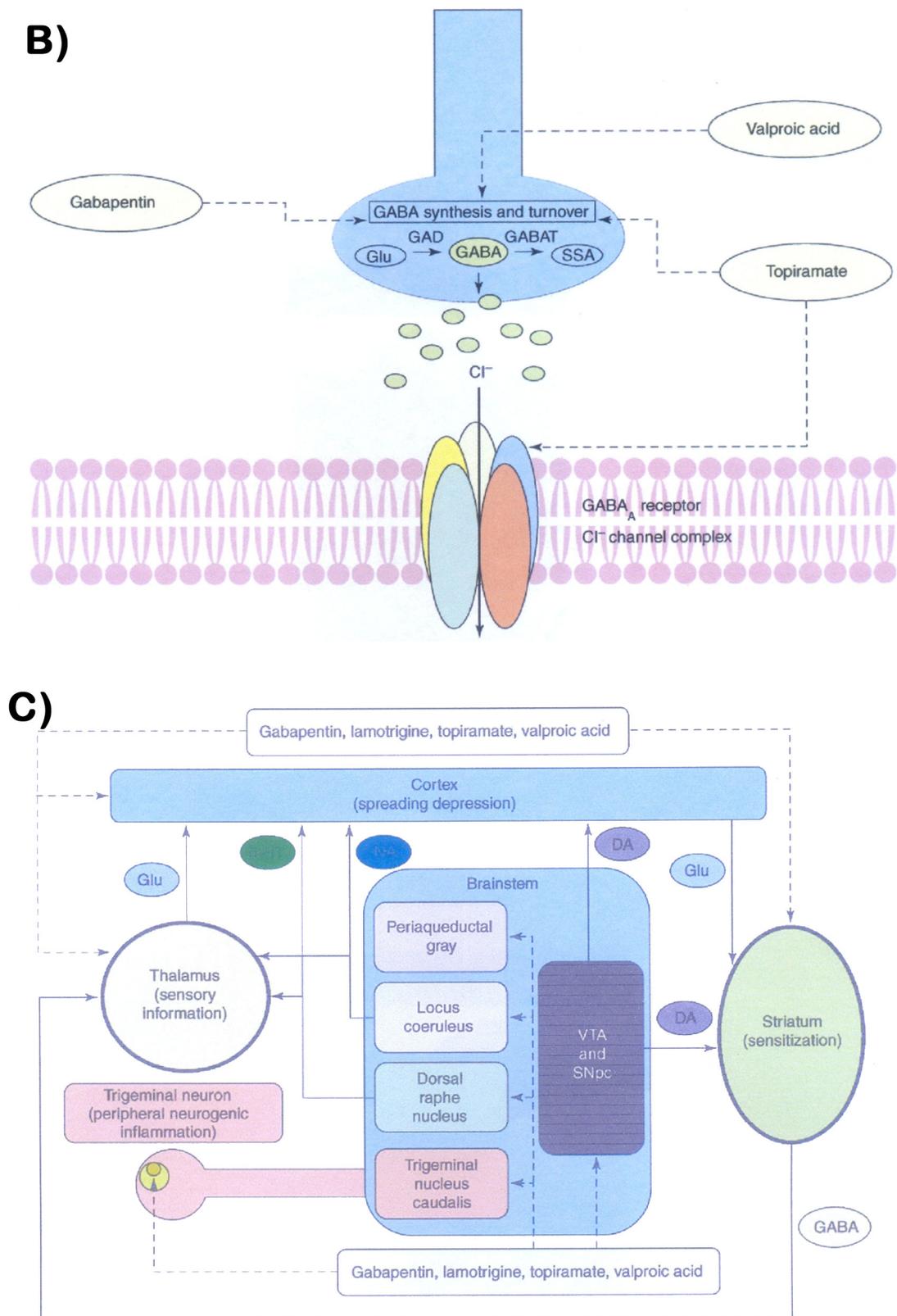


Fig.6) Possíveis mecanismos de ação das DAEs (drogas anti epilépticas) utilizadas na profilaxia da migrânea e locais preferenciais de ação destes no SNC. Modificado de Calabresi e cols, 2007.

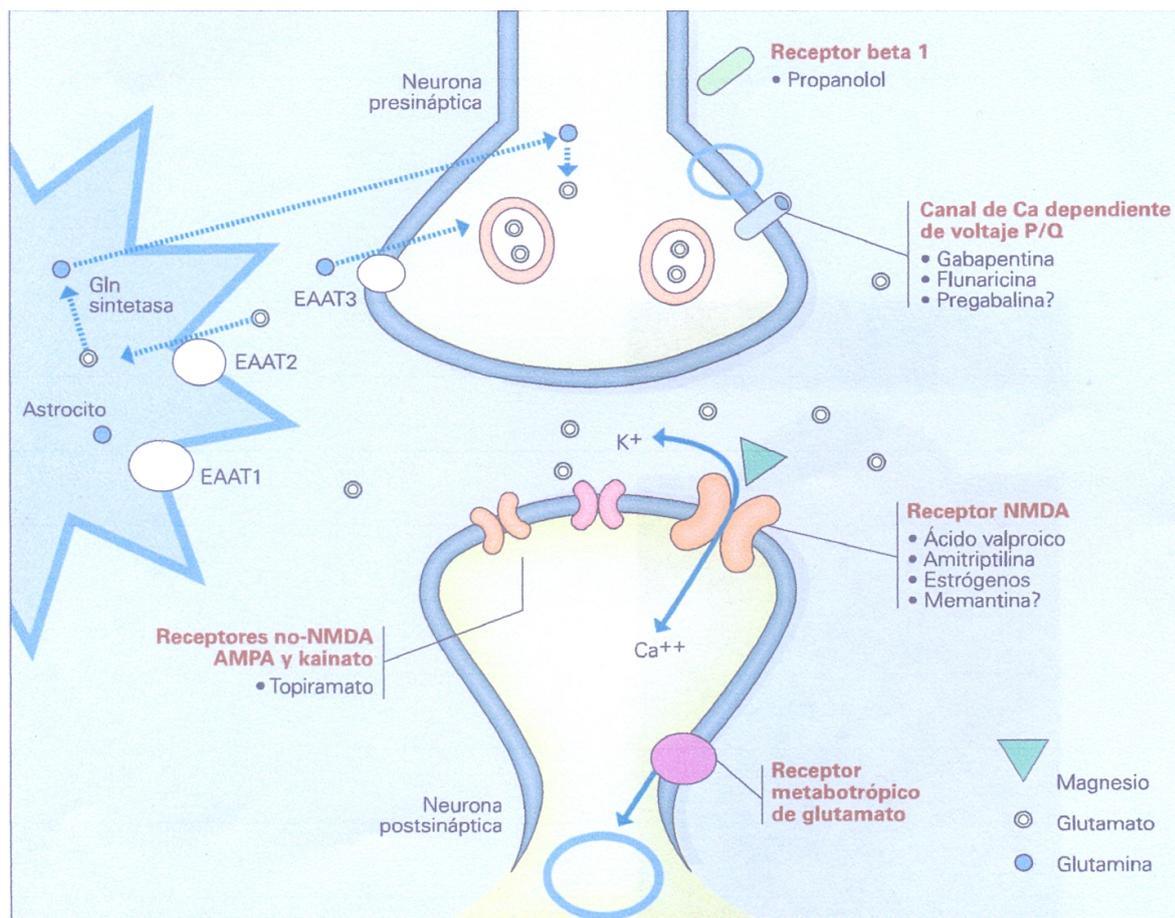


Fig.7) Mecanismos de ação das principais drogas utilizadas para a profilaxia da migração (ênfase nas drogas anti-epilépticas).

Divalproato, Gabapentina e Topiramato já foram avaliados em estudos duplo-cegos, randomizados e multicêntricos, tendo se obtido redução significativa da frequência das crises e dos episódios de aura da migração nos grupos tratados com essas drogas (Mathew e cols., 2003).

Nove estudos controlados (trials) envolvendo cinco anticonvulsivantes diferentes usados como opção para o tratamento preventivo da migração foram incluídos no *AHCPR Technical Review* (Gray e cols., 1999; Massiou e cols., 1997; Steiner, 1997). Cinco estudos nos indicam evidências fortes e consistentes para a eficácia do Divalproato e do Valproato de Sódio (Klaper, 1994, 1997; Mathew e cols., 1995; Hering e cols., 1992; Jensen e cols., 1994;

Kaniecki, 1997). Dois estudos placebos-controlados mostraram resultados significativamente superiores aos obtidos com placebo (Klaper, 1994, 1997; Mathew e cols., 1995; Hering e cols., 1992; Jensen e cols., 1994) (nível de recomendação B, anexo II). Um estudo comparando a eficácia do Divalproato em relação ao Propranolol na prevenção da migrânea mostrou-se bastante favorável ao Divalproato (Klaper, 1994). Um estudo de Dezembro de 1996 também evidenciou resultados favoráveis ao Divalproato em relação a placebo, para prevenção de migrânea em pacientes com migrânea com aura (Kaniecki, 1997). Um estudo classe III, feito com 42 crianças (idade entre 7 e 16 anos) mostrou que mais de 80% destas puderam descontinuar suas medicações abortivas para a migrânea quando tratadas com Divalproato (15 a 45 mg/Kg/ dia). Depois de 4 meses de tratamento, 75,8% dos pacientes referiram uma melhora de 50% no que diz respeito à redução na frequência de ataques de migrânea; 14,2% obtiveram uma redução de 75% e 14,2% apresentaram-se sem qualquer sinal de migrânea (Caruso e cols, 2000). Um segundo estudo de relevância usando divalproato, feito com pacientes entre 9 e 17 anos (Classe III) usando-se uma dosagem entre 500 e 1000 mg da droga mostrou resultados muito animadores: tanto a frequência quanto a severidade da migrânea foram reduzidas. A média de ataques de migrânea foi reduzida de 6/mês para 0.7/mês e a duração média dos ataques foi reduzida de 5,5 horas para 1,1 horas com o tratamento (Serdaroglu e cols., 2002).

O divalproato de sódio também apresenta evidências de eficácia em três estudos placebo-controlado para a prevenção da migrânea (Freitag e cols., 2002; Kaniecki, 1997; Silberstein e cols., 1999). (nível de recomendação B). Um último relato de casos de 2004 demonstra também a efetividade do divalproato na prevenção da migrânea (Landy e cols., 2004) (classe IV). A Gabapentina não foi considerada efetiva para a prevenção da migrânea em um estudo (Wessely e cols., 1987), entretanto "trials" mais recentes mostraram-se positivos no que se refere à efetividade da Gabapentina em relação ao placebo na prevenção da migrânea (Mathew e cols., 1998). Neste estudo randomizado a Gabapentina na dose de 1800-2400 mg foi

superior ao placebo para a redução da frequência dos ataques de migrânea, 50% dos pacientes apresentaram redução na frequência de ocorrência de ataques em relação ao grupo controle (nível de recomendação B).

A eficácia do Topiramato na profilaxia da migrânea foi comprovada em três grandes estudos placebo controlados (Brandes e cols., 2004; Diener e cols., 2004; Silberstein e cols., 2004) (nível de recomendação A). Em um estudo randomizado, duplo-cego e placebo controlado (classe I) feito nos EUA, o Topiramato demonstrou uma eficácia significativa na prevenção de migrânea; 483 pacientes com idade entre 16 e 65 anos, com seis meses de história de migrânea (confirmada pelos critérios da Sociedade Internacional de Dor de Cabeça), e de 3 a 12 ataques de migrânea por mês foram estudados. Os pacientes foram randomizados para receberem Topiramato nas doses de 50, 100 ou 200 mg/dia, respectivamente ou placebo; a média de ataques de migrânea decresceu significativamente no grupo de pacientes que receberam 100 e 200 mg/dia de Topiramato (Brandes e cols., 2004). Em outro estudo randomizado, duplo-cego e placebo controlado, também feito nos EUA, (classe I) com um protocolo semelhante ao estudo anterior, o Topiramato, na dose de 100 a 200 mg/dia, foi considerado efetivo para a prevenção de migrânea; 50 % dos pacientes tratados apresentaram redução dos ataques de migrânea por mês em relação ao grupo controle (Silberstein e cols., 2004). Outro estudo, multinacional randomizado, duplo-cego e placebo controlado avaliou a eficácia e a segurança do Topiramato (100 ou 200 mg/dia) versus placebo para a profilaxia da migrânea, em vários centros; o Propranolol foi utilizado como um controle ativo. Neste estudo, doses baixas de Topiramato e Propranolol exibiram um perfil de efetividade similar, o Topiramato foi superior ao placebo (Diener e cols., 2004). Finalmente, um quarto estudo retrospectivo (classe II) com o uso do Topiramato, utilizando pacientes (75) com “ataques” de migrânea muito frequentes (até 15 por mês), verificou uma redução muito significativa na severidade e duração destes. Foram utilizadas doses diárias entre 1,4 (+/- 0,74) mg/Kg/dia e, a frequência de “ataques” de

migrânea foi reduzida de 16,5 (+/-10) ataques/mês para 11,6 (+/-10) ataques / mês ( $p < 0.001$ ) (Hershey e cols., 2002). A eficácia dos resultados de dois trabalhos duplo-cegos, placebos controlados, randomizados com duração de seis meses e posterior prorrogação por mais oito meses mostrou-se presente visto que foi confirmada uma redução persistente na frequência mensal de episódios de migrânea (Diener e cols., 2005; D'Amico e cols., 2005) (nível de recomendação A). No ano de 2006 e 2007 vários "trials" (classe I e II) com o uso do Topiramato foram desenvolvidos com sucesso (Diener e cols., 2007; Feliu e cols., 2007; Freitag e cols., 2007; Feliu e cols., 2007; Lofland, 2000; Rapoport e cols., Silberstein e cols., 2006, ; 2007<sub>a</sub>; 2007<sub>b</sub>). Em estudo feito pelo grupo de Freitag, em 2007, 937 pacientes foram estudados em dois estudos grandes, duplo-cegos, randomizados e placebos controlados, todos os pacientes apresentavam de 3 a 12 episódios de migrânea por mês e eram randomizados para as dosagens de 50, 100 e 200 mg/dia além de placebo Classe I. Na dosagem diária de 100 mg e 200 mg, a droga foi associada a uma significativa redução na frequência média mensal de migrânea quando comparado com o grupo placebo ( $p < 0.001$ ); de forma significativa, mas pacientes tratados com estas doses de Topiramato exibiram uma percentagem maior de redução na frequência mensal de migrânea ( $\geq 50\%$  -  $P < 0.001$ ,  $\geq 75\%$  -  $p < 0.001$ ,  $100\%$  -  $p < 0.049$  -) (Freitag e cols., 2007). O grupo de Silberstein fez uma importante análise de custo-efetividade em relação ao uso do Topiramato para a prevenção da migrânea, verificando uma efetiva diminuição de custos relacionados com a doença após a introdução do Topiramato (Silberstein e cols., 2007). Finalmente, o grupo do *Chronic Migraine Study* coordenado por Silberstein apresentou, recentemente, em congresso da Academia Americana de Neurologia um importante trabalho multicêntrico, placebo-controlado, randomizado e duplo-cego (classe I) avaliando a eficácia e segurança do Topiramato na dose de 100 mg/dia, comparado com placebo para o tratamento profilático da migrânea; neste estudo foi verificado que em 328 pacientes randomizados, o tratamento com Topiramato resultou em uma redução estatisticamente comprova-

da, de dias com migrânea (Topiramato- 6,4 versus placebo- 4,7,  $p=0.010$ ) (Silberstein e cols., 2007). Em 2007 o Topiramato foi reconhecido como principal droga anticonvulsivante para a profilaxia da migrânea pela ENS (European Neurological Society).

Em um estudo placebo-controlado, duplo-cego a Lamotrigina falhou em mostrar resultados clínicos consistentes para a prevenção da migrânea (Steiner e cols., 1997), porém, em estudo mais recente, esta mesma droga mostrou-se altamente efetiva para a profilaxia da migrânea com aura e para ataques de migrânea; cinquenta e nove pacientes com quadro clínico comprovado de migrânea receberam a Lamotrigina nesse estudo controlado e prospectivo (classe III), a Lamotrigina reduziu tanto a frequência de migrânea com aura (média de 1,5 – intervalo de confiança de 0,6 – para cada mês de estudo,  $p < 0.001$ ) quanto à duração da aura (média de 27 – intervalo de confiança de 11,  $p < 0.001$ ) assim com a frequência dos ataques mensais de migrânea (média de 2,1 – intervalo de confiança de 1,0,  $p < 0.001$ ) (Lampl e cols., 2005). Em 2007, o grupo de d’Onofrio publicou um suplemento mostrando resultados animadores com o uso da Lamotrigina em uma série pequena de pacientes com migrânea do tipo basilar (d’Onofrio e cols., 2007).

O Levetiracetam foi utilizado em um estudo retrospectivo (classe IV) com uma dose de 125 a 250 mg três vezes ao dia em 19 pacientes por 4,1 meses. A frequência média de ataques antes do tratamento era de 6,3/mês, após o tratamento esta caiu para 1,7/mês ( $p < 0.0001$ ) (Miller e cols, 2004). Em 2006 o grupo de Brighina publicou um estudo de casos (nível IV) com 16 pacientes que foram tratados com Levetiracetam na dosagem de 1000mg/dia por 6 meses, todos os pacientes com diagnóstico confirmado de migrânea, em 7 (44%) dos pacientes os ataques de migrânea foram completamente abolidos em 3 meses, nos pacientes restantes houve uma diminuição significativa dos sintomas ao final dos 6 meses de estudo ( $p < 0.001$ ) (Brighina e cols., 2006). Em 2007, o grupo de Pakalnis apresentou novo estudo de

caso (classe IV) com 20 pacientes pediátricos com diagnóstico confirmado de migrânea, tratados com Levetiracetam, destes, 18 apresentaram melhora ou resolução dos sintomas em 6 meses (Pakalnis e cols., 2007).

Existem alguns estudos comparativos que vêm a utilizar dois ou mais tipos de anti-convulsivantes em paciente com diagnóstico confirmado de migrânea; O estudo Lotolamp, do grupo de Gupta, estudou a eficácia e segurança do Topiramato e da Lamotrigina, comparados com placebo para a prevenção da migrânea; trata-se de um estudo de caso (classe I) com 60 pacientes. Os resultados mostraram uma efetividade, respectivamente maior para o Topiramato em relação à Lamotrigina e ao placebo (frequência de ataques: Topiramato *versus* placebo – 63% x 30%,  $p < 0.001$ , Topiramato *versus* Lamotrigina – 50% x 41%,  $p = 0.01$  e intensidade da dor: Topiramato *versus* placebo – 50% x 10%,  $p < 0.001$ , Topiramato *versus* Lamotrigina – 50% x 41%,  $p = 0.01$  -) (Gupta e cols., 2007). O grupo de Bartolini em 2005 e o grupo de Shaygannejad em 2006 compararam a efetividade do Divalproato e do Topiramato para a prevenção e eficácia da migrânea crônica, todos os dois trabalhos obtiveram resultados semelhantes e postularam que o efeito do Topiramato e do Divalproato é semelhante (Shaygannejad e cols., 2006; Bertolini e cols., 2005).

Pelo exposto, parece que de todas as drogas estudadas, as mais efetivas para a prevenção da migrânea parecem ser o Topiramato e o Divalproato, análise esta que é, inclusive, defendida pelo grupo de D'Amico em metanálise revendo vários trabalhos de 1996 até 2007 (D'Amico e cols., 2007). Finalmente, estudos de metanálise feitos com base no *Cochrane Database Syst Review* em 2003 e 2004 mostram resultados efetivos com o uso do Topiramato e do Divalproato para a prevenção da migrânea; estes mesmos estudos defendem mais trabalhos para que possamos definir como efetivo o uso do Levetiracetam e da Lamotrigina para a prevenção da migrânea. No que diz respeito à Gabapentina, os resultados iniciais até 2001

foram pouco animadores, após este ano, o Topiramato, o Divalproato e DAEs novos passaram a ser utilizados na prática clínica, visto que apresentavam menos efeitos colaterais que a Gabapentina. (Victor & Ryan, 2003; Chronicle & Mulleners, 2004). (Anexo – Níveis de recomendação para trabalhos científicos)

### **1.12: Farmacologia gabaérgica e receptores para GABA**

Um grande número de evidências clínicas sugere que alterações do funcionamento do sistema Gabaérgico em doenças neurológicas e psiquiátricas, estão relacionadas, principalmente, à hiperexcitabilidade. (Não podemos esquecer que o GABA é um dos principais neurotransmissores inibitórios do SNC). Entre estas doenças, podemos relatar a epilepsia, vários tipos de retardo mental, adição (especialmente alcoolismo), esquizofrenia, discinesias, coréias e doença de Parkinson. (Olsen, 2001).

Pelo menos três classes de neurônios GABAérgicos podem ser descritos na retina de várias espécies. O GABA está presente de forma predominante nas células amácrinas de mamíferos e células amácrinas e horizontais de não mamíferos (Wu e cols, 1981). Recentemente foram descritas células interplexiformes GABAérgicas em rato e coelho (Pourcho, 1981).

O GABA é formado *in vivo*, pelo chamado “GABA shunt”. O primeiro passo nesse processo bioquímico é a transaminação do  $\alpha$ -cetogluturato, formado pelo metabolismo glicolítico através do ciclo de Krebs, pela enzima  $\alpha$ -cetogluturato transaminase (GABA-T) para l-ácido glutâmico, por sua vez a descarboxilase do ácido glutâmico (GAD) catalisa a descarboxilação do ácido glutâmico para GABA, liberando CO<sup>2</sup>. A GAD parece só se expressar em células que utilizam GABA como neurotransmissor. O GABA, por sua vez é metabolizado

para semialdeído succínico pela GABA-T, geralmente esse processo é feito quando existe  $\alpha$ -cetogluturato suficiente para “aceitar” o grupamento amino removido do GABA, resintetando o ácido glutâmico, realimentando, conseqüentemente, o ciclo reativo. Finalmente, a enzima semialdeído desidrogenase (SSADH) oxida o semialdeído succínico, na presença de NAD, para succinato; o qual entra, novamente, no ciclo de Krebs. (Olsen & DeLorey, 1999; Martin & Olsen, 2000). (Fig. 8). Não podemos deixar de ressaltar, também, o papel da glia neste processo. O GABA na glia é metabolizado para semialdeído succínico pela GABA-T e não pode ser novamente ressintetizado para glutamato visto que, a glia não apresenta a enzima GAD. Neste caso o GABA é convertido em glutamina, a qual é transportada novamente para o neurônio, onde a glutamina é convertida em glutamato pela glutaminase e entra novamente no GABA shunt (Gasnier, 2000).

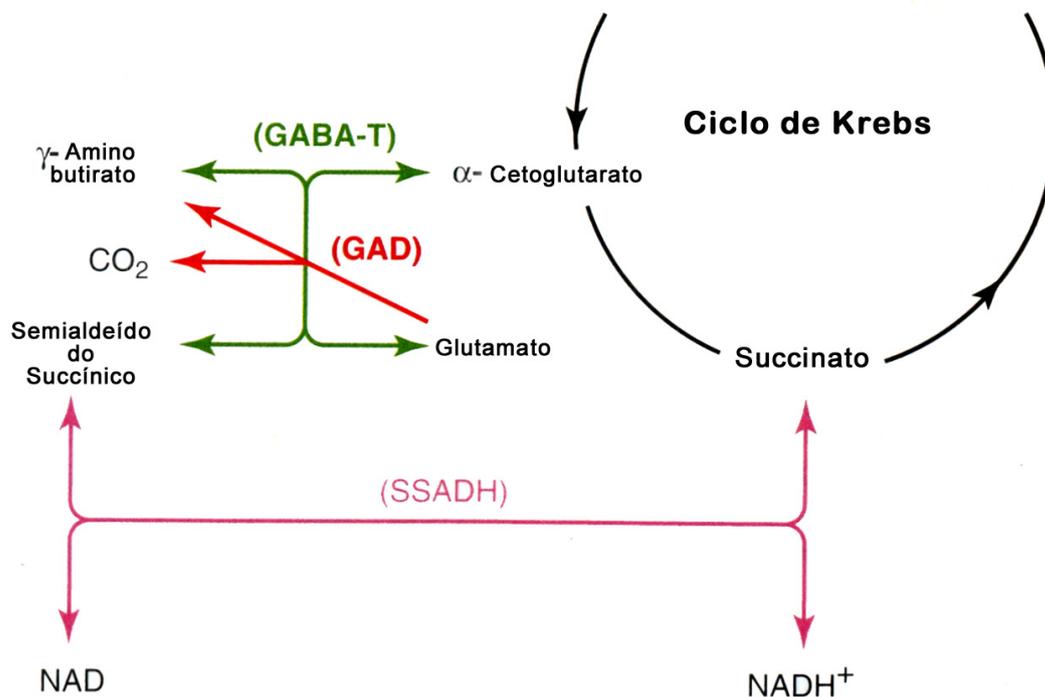


Fig. 8) Esquema representativo do “GABAshunt”. Retirado de George J. Siegel and cols. Basic (Neurochemistry – 2006).

Na retina de pinto, neuroblastos GABA-positivos podem ser claramente identificadas no 6° dia da embriogênese deste animal; em contraste, neuroblastos GAD-positivos não são encontradas antes do 10° dia de embriogênese. Estes dados sugerem que a GAD não se encontra presente, do ponto de vista imunocitoquímico, nas células GABAérgicas novas da retina do animal. Provavelmente estas células GABAérgicas novas venham a sintetizar GABA a partir da putrescina (Hokoç e cols, 1990).

A inativação da GABA-T pela gabaculine (neurotoxina potente e altamente seletiva) leva a consequências neuroquímicas diferentes no cérebro de pinto e na retina de pinto. Naquele os níveis de GABA vêm a subir de forma contínua, atingindo mais de 80% em relação aos controles após 24 horas, levando a uma queda “tempo-dependente” e concomitante da atividade da descarboxilase do glutamato (GAD) e da descarboxilase da cisteína-sulfinato. Nesta, a elevação da concentração de GABA aumenta cerca de 2 a 3 vezes em relação ao controle, após a inativação da GABA-T pela toxina já descrita. Este fato sugere que o metabolismo do GABA na retina é diferente do observado no cérebro visto que na retina não há inibição da descarboxilase da cisteína-sulfinato. Parece que, na retina, tanto a atividade da glutamato transaminase quanto da descarboxilase da cisteína-sulfinato “reside” em moléculas enzimáticas diferentes enquanto que, no cérebro, a atividade das duas enzimas “reside” na mesma molécula enzimática. (Rando e cols, 1982).

Os receptores GABAérgicos podem ser identificados em todas as regiões do SNC como os receptores de acetilcolina e glutamato. Esses receptores ativam tanto canais iônicos, quanto proteínas “acopladas” a receptores (ionotrópicos e metabotrópicos). Podemos identificar no SNC dois tipos de receptores para GABA: GABA<sub>A</sub> e GABA<sub>B</sub>.

A família GABA<sub>A</sub> é modulada por canais de cloreto e é membro de uma superfamília de “ligantes” relacionados a “portões” relacionados a canais iônicos. Trata-se de uma estrutura glicoprotéica heteropentamérica de aproximadamente 275 KDa. A estrutura apresenta vá-

rias subunidades:  $\alpha(1-6)$ ,  $\beta(1-3)$ ,  $\gamma(1-3)$ ,  $\delta$ ,  $\rho(1-3)$ ,  $\epsilon$  e  $\theta$ . Existem, também, várias regiões para ligantes: GABA (agonista – muscimol- e antagonista – bicuculina -); Benzodiazepínica (agonista – flunitrazepam -, antagonista – flumazenil- e agonista inverso (DMCM); Picrotoxina/Convulsivante (TBPS); Anestésica (barbiturato); Esteróide (alfanaxolona e alopregnenalona) e Anestésica volátil (halotano). Como podemos observar, trata-se de uma estrutura protéica bastante complexa a qual é o alvo preferencial para várias drogas que agem no SNC.(Sieghart & Sperk, 2002).

A família GABA<sub>B</sub> é identificada pela sua insensibilidade ao antagonista GABA<sub>A</sub> biculline e por alguns agonistas GABA<sub>A</sub> específicos. Os receptores GABA<sub>B</sub> são receptores acoplados a proteína G e podem mediar inibição tanto pré-sináptica quanto pós-sináptica. Chamamos atenção para o fato de que o baclofen (importante relaxante muscular, muito utilizado para o tratamento de estados hipertônicos) é um potente e seletivo agonista GABA<sub>B</sub> (Bowery, 2002). Os receptores GABA<sub>B</sub> são heterodímeros e apresentam duas unidades: R<sup>1</sup> que contém o sítio de ligação para o GABA e R<sup>2</sup> que interage com a proteína G (Bowery, 2002).

Existem, finalmente, algumas respostas farmacológicas ao GABA que são insensíveis tanto ao biculline quanto ao baclofen. Alguns autores atribuem estas respostas a um possível receptor GABA<sub>C</sub> que, inclusive, é insensível a algumas drogas moduladoras de GABA<sub>A</sub> como é o caso dos benzodiazepínicos e anestésicos e é encontrado preferencialmente na retina (Chebib & Johnston, 2000).

## II. OBJETIVOS

A) Determinar a dose mínima, máxima e média das drogas em questão para alterações do fenômeno da depressão alastrante, sem produzir lesões irreversíveis, possibilitando-se a verificação da potência relativa das drogas em questão neste modelo experimental.

B) Verificar os efeitos da Gabapentina, Ácido Valpróico, Topiramato, Lamotrigina e Levetiracetam nos seguintes parâmetros da DA:

- Velocidade propagação;
- Amplitude da VLV;
- Limiar de deflagração;
- Período refratário absoluto da DA;

C) Verificar o efeito das drogas em questão *in vivo*.

D) Baseado na observação clínica que as cinco drogas em estudo são eficazes no tratamento da migrânea com e sem aura e, também, na epilepsia, verificar o envolvimento da transmissão GABAÉRGICA na DA. Como parâmetro da atividade GABAérgica será mensurada a atividade da **Transaminase do Ácido Aminobutírico (GABA T)** *in vitro*, em retinas isoladas de pintos *Gallus* submetidas de forma mecânica ao Fenômeno de Leão (DA), de forma isolada e na presença das principais drogas em estudo.

### III. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1: Animais.

Todos os experimentos foram realizados de acordo com as normas de segurança estabelecidas pelo comitê de ética para uso de animais (CEUA) da UFRJ, sob o número IBCCF 020. Neste trabalho foram utilizados pintos Gallus gallus (pinto White Leghorn) fêmeas e machos, com idade entre 10 a 20 dias, idade considerada ideal para o estudo de suas retinas. Os animais foram fornecidos pelo centro de criação de animais de laboratório do Biotério Central do IBCCF/UFRJ e do Laboratório de Neuroquímica do IBCCF/UFRJ.

#### 3.2: Preparo do fragmento de retina e soluções.

Os animais, com idade de 10-20 dias após eclosão e peso de 50-90 g. foram sacrificados por decapitação, enucleados e o globo ocular seccionado em sua região equatorial para a retirada do humor vítreo. Em seguida, a calota posterior foi seccionada em fragmentos aproximadamente retangulares de 0,5 x 3,0 cm, e a retina separada das demais camadas oculares com uma pinça de dissecação.

Cada animal foi utilizado para uma única experiência.

A retina foi colocada em placa de Petri contendo solução de Ringer de referência ( $R_{ref}$ ), com a seguinte composição (em mM): NaCl 100; KCl 3; MgSO<sub>4</sub> 1; NaHCO<sub>3</sub> 30; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1; CaCl<sub>2</sub> 1; glicose 15. Neste trabalho, esta composição de Ringer foi definida como ideal após vários experimentos pilotos (aproximadamente 30) feitos com e sem algumas drogas em estudo, cujo objetivo foi à obtenção da composição de Ringer mais efetiva para o estudo ou seja, com uma susceptibilidade média para o eliciação do fenômeno. O tecido foi colocado sobre

um papel de filtro preto e levado a uma câmara de acrílico, com volume aproximado de 0,2 ml, em circuito com volume total de 4.0 ml, o qual foi superfundido com  $R_{ref}$  a um fluxo de 1,0-1,8 ml.min<sup>-1</sup> utilizando-se uma bomba peristáltica *HARVARD*. A temperatura foi mantida em 30-31°C, e o  $R_{ref}$  saturado, ao longo de toda a experiência, com carbogênio (95% O<sub>2</sub>- 5% CO<sub>2</sub>), o pH mantido em 7,4-7,6.

### **3.3: Câmara de superfusão.**

O modelo foi usado tanto para inspeção visual das variações de luz difundida (light-scattering), como para o registro da variação lenta de voltagem, aferição de período refratário absoluto e limiar de deflagração. A câmara de superfusão foi feita a partir de um bloco de acrílico, tendo no compartimento superior um receptáculo hemisférico ou retangular, para acomodar a calota posterior do globo ocular ou fragmento de retina em estudo, respectivamente. Esse compartimento era banhado pela solução de Ringer padrão (Rs), conduzida através de um tubo de poliestireno e impulsionada por meio de uma bomba de infusão (Harvard Apparatus Co.), a um fluxo constante de 1.2 ml/min.

Esse tubo de poliestireno, ao entrar na câmara, é enrolado sobre si mesmo e acomodado em um compartimento existente na parte inferior, antes de ser direcionado ao local da retina em estudo. Esse compartimento inferior era dotado de um fluxo de água aquecida, fornecido por um banho termostático (Forma Scientific Inc), o que vinha a possibilitar o aquecimento da solução de Ringer padrão durante seu trajeto pelo enovelado do tubo de poliestireno, antes desta atingir o compartimento da retina, onde a temperatura era mantida a 30°C, em função de ajuste do banho. O tubo de poliestireno condutor da solução de Ringer padrão era interceptado, entre a bomba de infusão e a câmara, por um sistema de válvulas através do qual era pos-

sível introduzir a solução teste (drogas em estudo) na corrente do Ringer. Na saída da solução de superfusão eram postos os eletródios de registro (Fig.9).

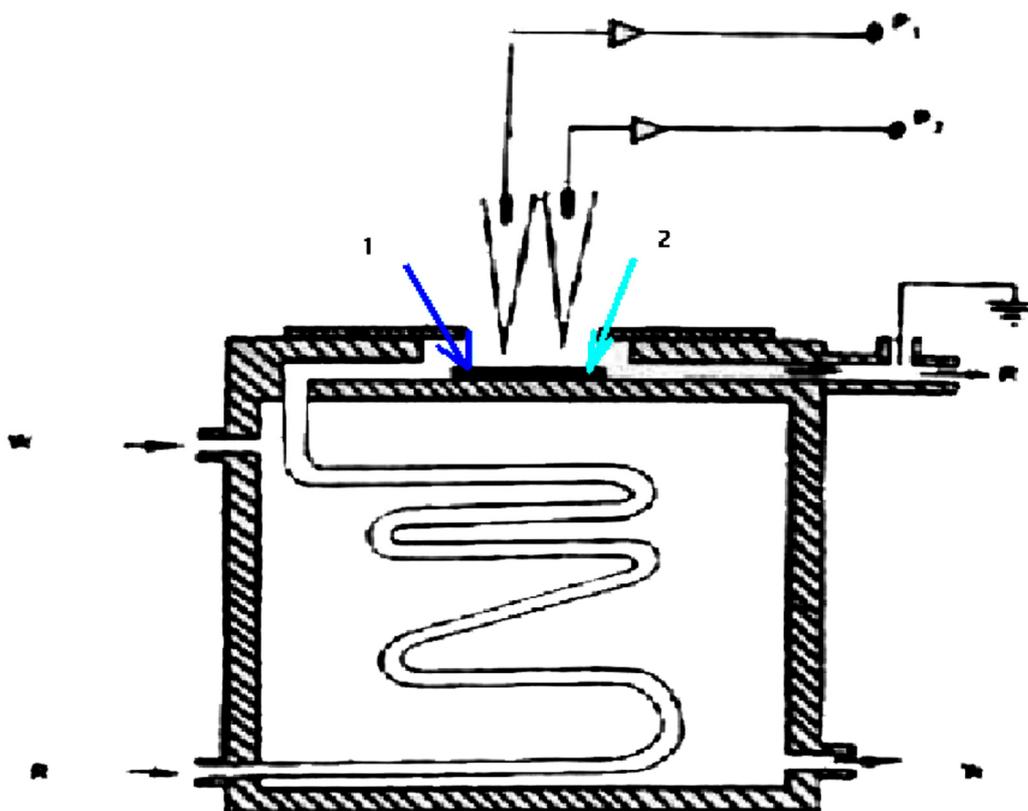


Fig.9) Esquema da câmara de superfusão onde será mantido o fragmento de retina. Os números 1 e 2 representam os dois locais utilizados para estimular o tecido. W- água do banho; R- solução de Ringer; P1 e P2- Eletrodios de registro colocados sobre o “confete” de retina.

### 3.4: Microeletrodios.

Serão utilizados microeletrodios de vidro (capilares com filamento, 1,5 x 0,86 mm, *A-M Systems, Inc.*) com diâmetro externo de ponta entre 1 e 3  $\mu\text{m}$ , estirados em *puller NARISHIGE* (mod. PE-2) e preenchidos com solução de NaCl 150 mM. A ponta do microeletrodio será observada ao microscópio de dissecação até tocar a superfície vítrea da retina.

Os tubos de vidro eram preenchidos através de sua extremidade não capilar, com o auxílio de um tubo de vidro afilado, com diâmetro de ponta em torno de  $70\mu\text{m}$ , conectado a uma seringa. Por fim, os dois tubos do microeletrodo recebiam cada um deles, um fio de  $\text{Ag}^+/\text{AgCl}$ . Esses fios eram ligados à entrada de um eletrômetro de dois canais (Electrometer model FD 223 World Precision Instruments), cuja saída era conectada a um amplificador diferencial. A qualidade da calibração do sistema de amplificação era testada através de pulsos de corrente elétrica, gerados por uma bateria colocada no circuito, em série. Os valores aferidos eram registrados em um polígrafo GRASS, modelo 5D (Grass Instrument Co., USA).

Com o auxílio de um micromanipulador (Narishige Scientific Instrument Lab. Japan) a ponta do microeletrodo era colocada na camada plexiforme interna da retina, ou seja, no local onde foram verificadas as maiores manifestações do fenômeno de Leão. Desta forma foi possível aferir a variação de voltagem durante a reação.

A montagem experimental era provida de um eletrodo de referência, aterrado, com  $\text{Ag}^+/\text{AgCl}_2$ , cujo fio metálico era inserido na luz de um tubo de vidro preenchido com Agar, em solução de  $\text{NaNO}_3$  a 1 M. A extremidade inferior deste tubo era obstruída por um pequeno disco de cerâmica porosa, propiciando contato com a solução de superfusão, no ponto em que ela estava sendo drenada da câmara (Fig.10).

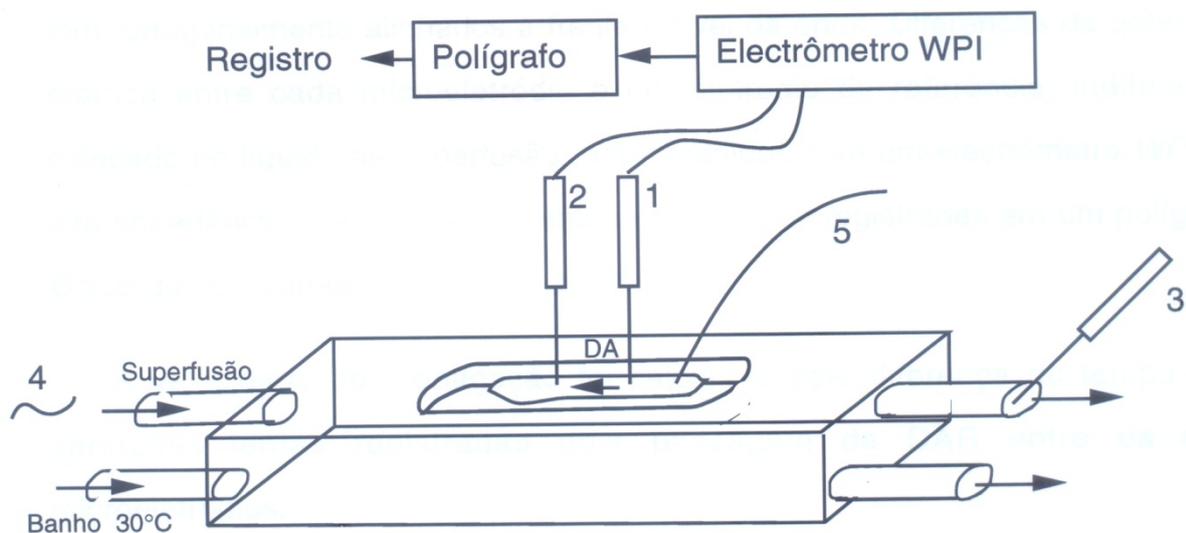


Fig.10) Esquema da preparação de retina isolada: câmara de plexiglas. 1 e 2: eletrodos de registro. 3: eletrodo indifferente. 4: bomba de superfusão. 5: estilete de tungstênio.

### 3.5: Drogas em estudo.

No presente trabalho foram utilizadas as seguintes drogas antiepilépticas: Divalproato de sódio, Gabapentina, Topiramato, Levetiracetam e Lamotrigina. O Divalproato de sódio (Depakote® - Abbott -) utilizado foi o de apresentação em cápsulas de 125mg. O conteúdo das mesmas será dissolvido em Rs e a solução resultante filtrada em filtro do tipo “milipore”. Foram utilizadas concentrações entre 0,07 e 7 mM, tendo como referência a concentração de 0,7 mM, que é a concentração sérica terapêutica da droga em seres humanos (Yasui-Furukori e cols, 2007; Nikitina e cols, 2006; Pucci e cols, 2003). A Gabapentina (Neurontin® - Pfizer -) é comercializada em cápsulas de 300 mg, cujo conteúdo foi dissolvido em Rs e posteriormente filtrado. Foram utilizadas concentrações situadas entre 6 e 600  $\mu$ M, uma vez que a concentração terapêutica desta droga no plasma humano situa-se em torno de 60  $\mu$ M. (Joetta e cols, 2003; Belal e cols, 2002; Ratnaraj e cols, 1998). O Topiramato (Topamax®-Janssen-Cilag -) foi utilizado na forma de comprimidos de 25 mg. Os comprimidos foram macerados e solubilizados em Rs., e a solução resultante filtrada. Foram utilizadas concentrações situadas

entre 3 e 300  $\mu\text{M}$ , uma vez que a concentração terapêutica de Topiramato no plasma humano situa-se próxima de 30  $\mu\text{M}$ . (Bahrami & Mohammadi, 2007; Johannessen & Tomson, 2006). A Lamotrigina (Lamictal® - GlaxoSmithKline -) foi, também, utilizada na forma de comprimidos de 25 mg., os quais foram macerados e solubilizados em Rs para posterior filtragem . Foram utilizadas concentrações situadas entre 1 e 500  $\mu\text{M}$ , uma vez que a concentração terapêutica da Lamotrigina no plasma humano situa-se próxima a 20  $\mu\text{M}$  (Lampl e cols., 2005). Finalmente, o Levetiracetam (Keppra® - UCB -) foi utilizado na forma de comprimidos de 500mg que foram macerados e solubilizados em Rs. para filtragem posterior. Foram utilizadas concentrações situadas entre 10 e 500  $\mu\text{M}$ , visto que a concentração terapêutica da droga no plasma humano situa-se próxima a 100  $\mu\text{M}$  (Coupez e cols., 2003; Patsalos e cols, 2000). Optamos pelo uso da medicação disponível no mercado farmacêutico, com o objetivo de nos aproximarmos das condições reais à disposição dos usuários no dia a dia . Foi feito , entretanto, uma pesquisa de efetividade entre os laboratórios que disponibilizam as drogas em questão.

### **3.6: Deflagrações da Onda de Leão.**

Denomina-se DA espontânea ( $DA_{\text{esp.}}$ ) àquela DA que surge sem que a retina seja submetida a qualquer estímulo. Em todas as experiências, exceto naquelas onde for realizada a medida do limiar de deflagração da DA (estímulo químico), a reação foi eliciada mediante estimulação “mecânica” da retina utilizando um fio de tungstênio com a ponta afilada a aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ . O local estimulado apresenta, frequentemente, uma lesão puntiforme, observada ao microscópio de dissecação. A lesão do tecido no local estimulado confere a esse tipo de estímulo um caráter mais nóstico do que mecânico, caracterizando-o como supra limiar, fato que possibilita a medida do período refratário absoluto.

### **3.7: Registros da variação lenta de voltagem (VLV) da DA.**

Foram utilizados microeletrodos de vidro (capilares com filamento, 1,5 x 0,86 mm, *A-M Systems, Inc.*) com diâmetro externo de ponta entre 1 e 3  $\mu\text{m}$ , estirados em *puller NARISHIGE* (mod. PE-2) e preenchidos com solução de NaCl 150 mM, conforme descrição anterior. A ponta do microeletrodo foi observada ao microscópio de dissecação até tocar a superfície vítrea da retina. A posição da ponta do microeletrodo é dada pela comparação da amplitude e da forma da VLV obtidas com registros anteriores (Martins-Ferreira e Do Carmo, 1987) onde foi feita marcação histológica, servindo de critérios para a localização da ponta na camada plexiforme interna. A leitura na escala de um micro manipulador *NARISHIGE*, à medida que a ponta do microeletrodo penetra no interior do tecido, serve de critério adicional para a localização da ponta, situando-se entre 70 e 120  $\mu\text{m}$  a partir do ponto em que o eletrodo tocava a superfície vítrea da retina. Os eletrodos foram ligados a um eletrômetro *WPI* (FD 223) com alta impedância de entrada ( $10^{13}\text{Ohm}$ ) e a VLV registrada em polígrafo *GRASS* (mod.79) com dois canais. Após o posicionamento dos eletrodos na camada plexiforme interna, a retina permaneceu na câmara por um período de 15 min. sem ser submetida a estímulos mecânicos, antes de começar as medidas de VLV, velocidade da DA período refratário absoluto e limiar da DA.(Fig.11)

### **3.8: Medidas da velocidade de propagação da DA.**

Nestas experiências, a reação foi evocada em uma região da retina nas proximidades do local de saída do Ringer da câmara de superfusão. A velocidade da reação foi calculada medindo o tempo gasto para a DA percorrer a distância (4-5 mm) entre dois microeletrodos de vidro (1-5 micrômetros), posicionados na camada plexiforme interna da retina e alinhados

ortogonalmente à frente de onda. Cada microeletrodo foi conectado a um eletrômetro (WPI). Denomina-se DA propagada ( $DA_{prop.}$ ) àquela DA que, evocada por estímulo mecânico, percorra toda a distância entre os dois microeletrodos, sendo detectada por cada um dos microeletrodos em sequência (Fig.11). A velocidade de DA foi medida em retinas superfundidas por  $R_{ref}$  (controle) e em retinas superfundidas durante 15 min. com a solução de Ringer contendo diferentes concentrações de cada uma das cinco drogas: Divalproato de sódio, Gabapentina, Topiramato, Levetiracetam e Lamotrigina. O estímulo mecânico (alfinetada) foi feito com o uso de um filamento de Tungstênio (100 micrômetros de diâmetro de ponta) de 15 em 15 minutos.

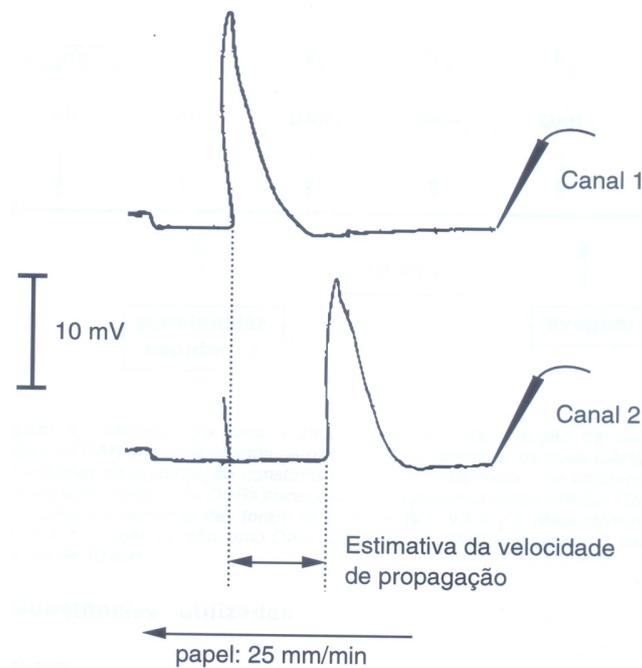


Fig.11) Traçado representativo da variação lenta de voltagem (VLV) registrada por dois eletrodos sucessivos. A velocidade de propagação da DA. é estimada a partir da distância entre os registros nos dois canais, sabendo-se a velocidade de deslocamento do papel que é constante durante todo o experimento. Cálculo da velocidade da DA (propagação): Espaço no papel percorrido pela DA sob ação das drogas dividido por 25 mm/min (velocidade do papel); após, o valor da distância média entre os dois eletrodos é dividido pelo valor encontrado após a primeira operação. Um “confete” ( corte biconvexo de retina) é utilizado.

Em cada preparação de retina foi verificado o efeito de uma determinada concentração da droga em estudo. Após um curto período de equilíbrio na solução de Ringer, foram eliciadas DAs com estímulo mecânico e, a seguir, introduzido no circuito de superfusão, uma determinada concentração da substância em estudo. De três a quatro DAs eram, então, eliciadas com intervalo entre estas de 15 minutos e suas velocidades e amplitudes correspondentes registradas. Ao final, superfundindo a retina com solução de Ringer sem a droga (Rbi), uma DA de controle era obtida (DAref.)(Fig.12).

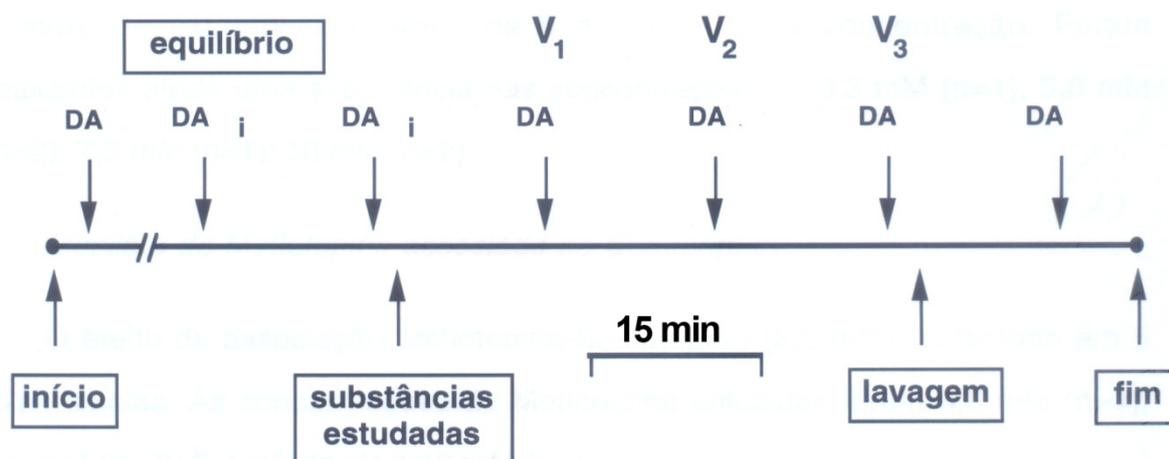


Fig.12) Metodologia para a avaliação do efeito de redução da velocidade de propagação da DA. Em retinas isoladas de pintos. Após a obtenção de duas DAs. Sucessivas com velocidades de propagação constante (DA<sub>i</sub>). A substância, na concentração a ser testada, é adicionada. Três DAs sucessivas são posteriormente obtidas. As velocidades correspondentes são registradas (V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> e V<sub>3</sub>, respectivamente). Após lavagem com a solução padrão (Rbi.), uma DA controle final é obtida. Estimulação mecânica da retina utilizando-se um fio de tungstênio com ponta afiada à aproximadamente 100 micrômetros de 15 em 15 minutos.

### 3.9: Medidas do período refratário absoluto da DA ( $\tau_r$ ).

A partir de um primeiro estímulo mecânico que resulte em DA propagada (estímulo eficaz), foram aplicados vários estímulos em sequência, com intervalos de tempo de 30 seg

entre cada estímulo, até que nova DA propagada fosse obtida. Com este procedimento, mediu-se o menor intervalo de tempo possível entre um par de DAs propagadas ( $\tau_r$ ) evocadas por estímulo mecânico. O tempo foi medido com um cronômetro, que foi acionado quando da aplicação do primeiro estímulo que resultou em DA propagada na retina. Além do  $\tau_r$  foram medidos também a velocidade da primeira e a velocidade da segunda DA ( $V_1$  e  $V_2$ , respectivamente) e a amplitude da variação lenta de voltagem da primeira e da segunda DA ( $VLV_1$  e  $VLV_2$ , respectivamente). Nas experiências em que foi utilizado este protocolo, o estímulo mecânico foi aplicado em uma região da retina próxima à entrada de Ringer na cuba, a DA propagou-se a favor do fluxo de Ringer.

### **3.10: Medidas do limiar de deflagração da DA.**

O limiar de deflagração da DA foi medido utilizando-se um protocolo em que soluções de Ringer contendo diferentes concentrações de  $K^+$  (a partir de 8 mM) serão aplicadas na superfície da retina utilizando-se uma micropipeta conectada a uma bomba ejetora. O local onde foi aplicada a solução de Ringer com  $K^+$  situa-se nas proximidades da saída da câmara de superfusão. O fluxo de ejeção foi de 20-200  $\mu\text{l}/\text{min}$ . e foi considerada eficaz a concentração de  $K^+$  na solução ejetada que deflagrou a DA em até 60 segundos (Martins-Ferreira e cols., 1993). O efeito do Divalproato de sódio, Gabapentina, Topiramato, Lamotrigina e Levetiracetam sobre o limiar de deflagração da DA por soluções contendo várias concentrações de  $K^+$  foi quantificado mediante a aplicação de diferentes concentrações de  $K^+$  em retinas previamente tratadas durante 15 min com estas drogas antiepiléticas.

### **3.11: Experiências com administração de drogas *in vivo*.**

A velocidade de propagação da Onda de Leão (DA), bem como a amplitude do referido fenômeno em estudo (VLV), foram aferidas com o uso das técnicas já descritas nos itens 3.4 e 3.5, em retinas devidamente preparadas de acordo com o já descrito no item 3.1. Cinco grupos de animais (pintos Gallus) com quatro elementos em cada foram preparados; a idade e peso dos animais serão os mesmos já descritos no item 3.1; três animais de cada grupo foram tratados com dose farmacológica ideal para a espécie e equivalente a dose média fisiológica obtida nos experimentos da fase II, de acordo com o grupo, com Topiramato, Gabapentina, Divalproato, Lamotrigina e Levetiracetam, por 15 dias consecutivos, com o uso de aplicações intraperitoneais. O quarto animal de cada grupo foi considerado como controle e, consequentemente, não foi tratado. Após 15 dias os animais foram sacrificados e suas retinas preparadas para a aferição dos parâmetros da DA, como indicado anteriormente.

### **3.12: Dosagem da atividade da GABA-T em retinas controle e após ondas múltiplas de DA com e sem as drogas em estudo.**

Atualmente é estimado que cerca de 20 a 50% das sinapses do SNC, em especial as localizadas na retina, usem o GABA como seu neurotransmissor, dependendo da região estudada (Young e Chu, 1990). O GABA é degradado pela GABA-T, enzima esta que catalisa a transferência do grupamento amino do GABA para o ácido  $\alpha$ -cetoglutárico, vindo a fornecer metabólitos intermediários para o ciclo do ácido tricarboxílico (Krebs) visando o metabolismo oxidativo (shunt do GABA). A GABA-T remove o GABA, convertendo este em semialdeído succínico através de uma transaminação com o  $\alpha$ -cetoglutarato, refazendo a molécula de glutamato. O semialdeído succínico é oxidado pela NAD e pela semialdeído succínico desidro-

genase em  $\text{NADH}^+$  e succinato que, por sua vez, entra novamente no ciclo de Krebs (Figura 8). O GABA liberado nas fendas sinápticas é vinculado à estimulação pré-sináptica dos neurônios GABAérgicos; sua ação sobre receptores alvo na superfície pós-sináptica é terminada com a recaptação deste pelos terminais nervosos pré-sinápticos e pela glia. Este transporte que é mediado pelo sistema de transporte do plasmalema, além de ser bidirecional é dependente de temperatura e de íons extracelulares de  $\text{Na}^+$  e de íons de  $\text{Cl}^-$ . Em situações ideais a razão entre o GABA intracelular e o extracelular é de cerca de 200 vezes; assim, a força responsável por este processo de recaptação é fornecida pelo movimento do  $\text{Na}^+$  contra o seu gradiente (Martin & Olsen, 2000; Chen e cols., 2004). O GABA recaptado pelas terminações nervosas é então, reutilizado ou entra no chamado “GABA shunt”, já descrito (Cooper e cols., 1991; Jung, 1978). O aumento da atividade da GABA-T no SNC, diminui a concentração de GABA levando um paciente a crises convulsivas, coma e morte (Kang e cols., 2001; Hava e cols., 1996); inversamente, é esperado que drogas antiepilépticas e/ou antimigranosas, que venham a aumentar a concentração de GABA como é o caso das drogas em estudo (Topiramato, Divalproato, Lamotrigina, Gabapentina e Levetiracetam), em função de suas ações farmacológicas, possam vir a interferir e possivelmente diminuir a atividade da GABA-T ou venham a bloquear diretamente esta enzima, como é o caso da Vigabatrina (Metacalf, 1979; Sherif & Orelund, 1995). Para testar a eficácia das drogas antiepilépticas em estudo, aferimos a atividade da GABA-T com um método baseado na análise cinética da atividade da GABA-T com o uso da espectrofotometria. (Nascimento e cols., 2007).

Pintos com aproximadamente 14 dias de vida, com peso aproximado de 200 gramas e livre acesso a comida e água, foram separados em biotério com temperatura aproximada de  $25^\circ \text{C}$ , sobre regime normal de ciclo de luz/escuro. Foram separados aproximadamente 50 animais para esta fase do experimento.

As drogas e equipamentos utilizados nesta fase foram os seguintes: i-ácido n-Gama-Amino-Butyrico-GABA-(A-2129); ii-Tetrazolium Nitro Blue “NBT” (N-6876); iii-Nicotinamide Dinucleotídeo-NAD (N-0632); iv-Dimethyl Sulfoxide (D-8418), v-Acetic Acid (A-4508); vi-Tris (hydroxymethyl) amino-methane (T-1378) e vii- $\alpha$ -ketoglutaric Acid (4210); obtidos da Sigma (St. Louis, MO, USA). Ácido sulfúrico(Vitek) foi cedido pelo Laboratório de Neurobiologia do IBCCF/UFRJ. Foi utilizado também um homogenizador ultrasônico (HD2070, Bandelin, Berlim,); uma centrífuga refrigerada (3K 30, Sigma, St. Louis, MO, USA), e um espectrofotômetro (SPEKOL 1100, ZEISS).

A preparação de enzima foi feita a partir da própria cuia da preparação padrão para os experimentos já descritos anteriormente. Antes da preparação específica, estas retinas foram submetidas à deflagração da DA por estímulo mecânico, conforme o protocolo já descrito, sem e com tratamento prévio por 15 minutos com as drogas em estudo (Topiramato, Gabapentina e Divalproato), em dose média já utilizada nas fases II, III e IV já descritas, de acordo com o grupo de animais selecionados para controle e para cada droga. Após esta fase, a retina foi “lavada” com Ringer e a parte pigmentada desta retirada manualmente do restante. As retinas foram então trituradas com o uso de cutelo mecânico e/ou homogenizador ultrasônico. O homogenado foi centrifugado com uma solução tampão de 4 ml de Tris-HCl a 50 mM (pH aproximado de 8,4) por 1000g por 10 minutos a 4°C. O precipitado foi então descartado e o sobrenadante recentrifugado a 14000g por 20 minutos a 4°C. O “pellet” foi tratado novamente com 4 ml de tampão (como já descrito) e usado diretamente para a determinação da atividade da GABA-T.

A determinação da proteína (dosagem da proteína) do homogenado foi determinada de acordo com o método de Bradford (Bradford,1976).

A atividade da GABA-T é determinada pela incubação média de 0,05 ml de 50mM de Tris-HCl (pH 8,4), 0.05 ml de substrato (contendo GABA, ácido  $\alpha$ -cetoglutárico, NAD e

NBT) e 0,1 ml de homogenado (0,1mg de proteína). A reação enzimática ocorre por 20 minutos a 37°C. Após este período interrompemos a reação com 1,7 ml de ácido sulfúrico a 100mM. O produto da reação é aferido com o auxílio do espectrofotômetro a 540nm.

Finalmente, determinamos a curva que demonstra o efeito da concentração de GABA e do ácido  $\alpha$ -cetoglutárico sobre a atividade da GABA-T, em função do substrato. A razão entre o GABA e o ácido  $\alpha$ -cetoglutárico foi sempre mantida em 1/0,7. As concentrações utilizadas de GABA foram de 1mM, 10mM, 24mM e 97mM, respectivamente. Coordenadas das curvas em: **X- (S)mM ( concentração de GABA ) e Y-H/PTN.-mg/U( atividade da GABA-T)**. A curva do efeito da concentração de proteína em função da atividade da GABA-T também foi feita, seguindo-se as concentrações de proteína de 50, 100, 150 e 200  $\mu$ g. Coordenadas da curva em: **X -  $\mu$ g PTN e Y – H/U**.

A unidade enzimática utilizada é **arbitrária**. "Quando temos a enzima purificada fica fácil definir-se a unidade enzimática; quando temos um tecido a unidade é definida como unidade arbitrária. Por esta razão temos que dosar a proteína e normalizá-la para 1 hora, visto que a reação ocorre por 20 minutos." (Nascimento e cols.,2007).

A curva que demonstra o efeito da concentração de GABA e do ácido  $\alpha$ -cetoglutárico sobre a atividade da GABA-T em função do substrato foi feita de acordo com a seguinte metodologia: reação média contendo 50mM de Tris-HCl (pH 8,4), 2,9 mM de NAD, 1,2mM de NBT diluídos em 20  $\mu$ l de Dimetil Sulfoxido (DMSO) e diferentes concentrações de GABA e ácido  $\alpha$ -cetoglutárico, a saber – GABA (1, 10, 24 e 97 mM), ácido  $\alpha$ -cetoglutárico (0,7, 7, 17 e 68mM). Conforme já exposto, a razão entre o GABA e o ácido  $\alpha$ -cetoglutárico foi sempre mantida em 1/0,7 ou seja: *para 1mM de GABA -> 0,7 mM de ácido  $\alpha$ -cetoglutárico foi utilizado*. Nas reações as quais foram testadas as doses médias das drogas em estudo, estas drogas, em dose média efetiva, conforme já descrito anteriormente, foram acrescentadas ao substrato .

As curvas resultantes são analisadas com auxílio do programa “GRAPHPAD Prism” versão 5.0. A análise estatística foi feita, também, com o auxílio do GRAPHPAD PRISM versão 5.0. Foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis - one-way ANOVA - seguido do teste de Dunn’s para comparações múltiplas “versus” grupo controle e o teste de Friedman, considerando-se os valores controles, em cada grupo de experimento, igual a 100% com o objetivo de evitarem-se variações de causas não identificáveis nas faixas de resultados dos diferentes experimentos.

#### **IV. FASES DO TRABALHO**

- **Fase I: Experiências “piloto” visando o apuramento da técnica e obtenção de uma solução de Ringer ideal para o trabalho. Total: 30;**
- **Fase II: Experiências visando à determinação da velocidade da DA em mM/min e a amplitude da DA em mV. Total: 120;**
- **Fase III: Experiências visando à determinação do limiar de deflagração da DA. Total: 30;**
- **Fase IV: Experiências visando à determinação do período refratário absoluto e a deflagração da DA. Total: 30;**
- **Fase V: Experiências com cobaias vivas (pintos). Total: 30;**
- **Fase VI: Experiências visando à dosagem da atividade da GABA-T na DA, com e sem as drogas principais em estudo. Total: 30;**

## V. RESULTADOS

### 5.1: FASE I

Esta fase teve como objetivo o treinamento da técnica proposta e a correta preparação dos modelos de retina. O fundamental deste período inicial do trabalho foi a definição do Ringer de referência ( $R_{ref}$ ) ou Ringer padrão (Rb3K), utilizado no estudo, com a seguinte composição (em mM): NaCl 100; KCl<sup>-</sup> 3; MgSO<sub>4</sub> 1; NaHCO<sub>3</sub> 30; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1; CaCl<sub>2</sub> 1; glicose 15. Esta solução foi definida por um processo de “tentativa e erro”. Foram feitos cerca de 50 experimentos, visando a obtenção do Ringer mais adequado para o trabalho. Nesta sequência de experimentos foram feitas pequenas variações ou na concentração de KCl<sup>-</sup> ou na concentração de glicose a partir do Ringer padrão definido por Martins-Ferreira, cuja composição, em mM era a seguinte: NaCl 100; KCl<sup>-</sup> 6; MgSO<sub>4</sub> 1; NaHCO<sub>3</sub> 30; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1; CaCl<sub>2</sub> 1; glicose 30 (Martins-Ferreira e cols., 1974), visando-se a obtenção de um Ringer com uma susceptibilidade baixa, fato este que veio a proporcionar uma maior estabilidade para os experimentos e, conseqüentemente uma obtenção de dados mais efetiva.

## 5.2: FASE II

Os resultados obtidos com o término da Fase II do trabalho podem ser analisados de forma objetiva com a ajuda da tabela abaixo (tabela 1), onde estão representados os dados obtidos, em percentagens , após análise de todos os experimentos desta fase.

Tabela 1 :

Drogas:	V(mm/min)	VLV (Mv)	Concentração Máxima
Levetiracetam	21,6%	11,6%	10 mM
Lamotrigina	41,2%	11,3%	1 mM
Divalproato	47,1%	23,7%	6 mM
Gabapentina	35,6%	28,4%	1.12 mM
Topiramato	67,9%	21,1%	600 mM

Tabela 1 : Percentagem de redução da velocidade em mm/min. e de amplitude em mV da variação lenta de voltagem, em relação às DAs iniciais. Todas as variações de concentrações são significativas em relação ao primeiro estímulo (DAs iniciais).

As variações da velocidade de propagação da DA, bem como da amplitude da VLV, em relação às drogas utilizadas no estudo, podem ser visualizadas, com nitidez, nas tabelas do apêndice II. Durante esta fase do trabalho foram feitos, por parâmetro, quatro estímulos mecânicos, com estilete de tungstênio e com intervalo de tempo de 15 minutos entre estes, iniciando-se pelo controle, solução de Ringer “básica” (RB) e progredindo-se, na maioria das vezes, por seis fases, com a concentração dos fármacos aumentando progressivamente, de acordo com as concentrações farmacológicas das drogas, já descritas anteriormente. Existem, também, algumas aferições isoladas, também descritas, em algumas drogas (Topiramato e Divalproato), feitas em concentrações extremas (medidas isoladas).

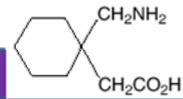
Ao final de cada sequência, a retina é “lavada” com o Ringer básico, obtendo-se uma solução de Ringer após lavagem (Rbi.), durante este processo, mais quatro estímulos mecânicos são feitos (Fig. 12); durante esta fase dos experimentos, a velocidade e amplitude da DA

inexoravelmente sobem, porém não atingem o padrão inicial observado antes da introdução das drogas. É possível que, se as experiências pudessem ser prolongadas por um período maior que 6 horas (média de tempo utilizado para cada experimento) até, no mínimo, 24 horas os parâmetros avaliados por droga possam vir a voltar à normalidade; este procedimento se mostrou, entretanto, inapropriado em função da falta de disponibilidade de tempo para o mesmo e, também, em função do fato de que as retinas mantidas na preparação em questão tendem a morrer após 12 horas de utilização.

As doses utilizadas nos experimentos foram baseadas nas doses farmacológicas utilizadas para o tratamento profilático da migrânea e para o tratamento da epilepsia, conforme já discutido na página 59 e 60.

Os resultados obtidos por droga podem ser vistos abaixo:

## Resultados - Gabapentina:



Nesta fase foram analisados a velocidade de propagação e a amplitude da DA, respectivamente em mm/min e mV. A concentração utilizada da droga em questão variou de 7µM até 1,12 mM, aumentando progressivamente em 60, 70, 120, 140, 240, 280, 480, 580, 960 e 1,12 mM. Os resultados obtidos em relação aos parâmetros estudados revelam uma diminuição de 35,5% da velocidade e de 28,8% da amplitude da DA, desde o início do experimento até a concentração de 1,12 mM. Após este limite passamos a ter DAs irregulares e finalmente bloqueio completo do fenômeno.

Ao todo foram feitos 30 experimentos com a droga Gabapentina, porém foram considerados válidos 19 experimentos. Os critérios para validação dos experimentos foram respectivamente a estabilidade da linha de base e a homogeneidade da curva da VLV. As principais razões para a exclusão de 11 experimentos foram variações de temperatura, variações não prevista na composição do Ringer padrão e “causas diversas”.

Todos os resultados obtidos nesta fase com a droga Gabapentina foram considerados efetivos e relevantes.

Gráfico 1  
(velocidade/concentração):

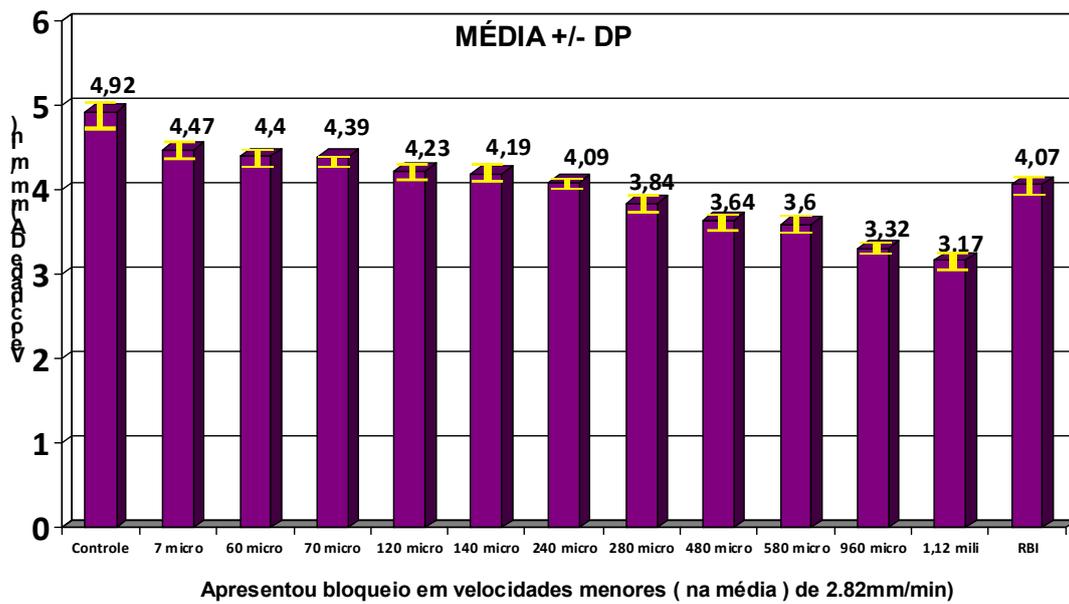
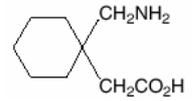


Gráfico 1: Verificamos uma diminuição de 35,5% na velocidade da DA ( mm/min ) com o uso da droga Gabapentina na concentração de 1,12 milimolar. Concentrações variando de 7µM até 1,12mM.

Gráfico 2 (amplitude/concentração) :

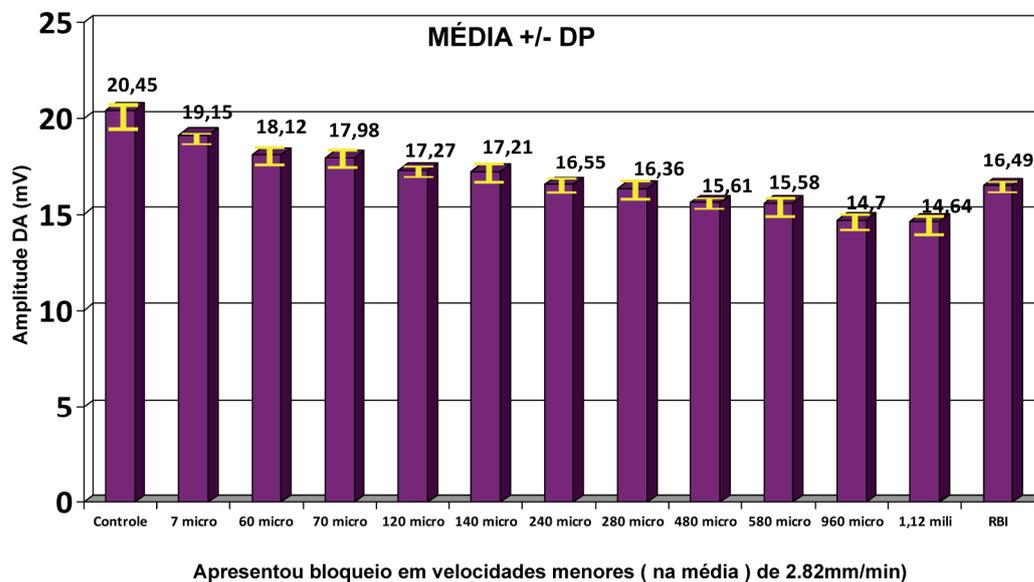
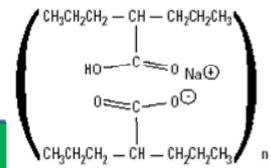


Gráfico 2 : Verificamos uma diminuição de 28,4% na amplitude da DA ( mV ) com o uso da droga Gabapentina ( maior redução de amplitude observada ). Concentrações variando de 7 $\mu$ M até 1,12mM.

## Resultados - Divalproato :



Nesta fase foram analisados a velocidade de propagação e a amplitude da DA, respectivamente em mm/min e mV. A concentração utilizada da droga em questão variou de 1mM até 6mM, aumentando progressivamente em 2, 3, 4, 5 e 6mM. Os resultados obtidos em relação ao parâmetros estudados revelam uma diminuição de 47,1% da velocidade e de 23,7% da amplitude da DA, desde o início do experimento até a concentração de 6mM. Após este limite passamos a ter DAs irregulares e finalmente bloqueio completo do fenômeno. Foram feitos, também, com esta droga aferições em situações de concentrações “limítrofes” ou seja, ou concentrações muito baixas, com poucos resultados efetivos, ou concentrações muito altas apresentando DAs irregulares e, finalmente, bloqueio do fenômeno.

Ao todo foram feitos 30 experimentos com a droga Divalproato, porém foram considerados válidos 26 experimentos. Os critérios para validação dos experimentos foram os mesmos já descritos anteriormente na página 72. As principais razões para a exclusão de 4 experimentos foram variações de temperatura, variações não prevista na composição do Ringer padrão, “causas diversas” e a contaminação de uma “preparação”(diluição e filtragem) da droga para o uso.

Todos os resultados obtidos nesta fase com a droga Divalproato foram considerados efetivos e relevantes.

Gráfico 3 (velocidade/concentração) :

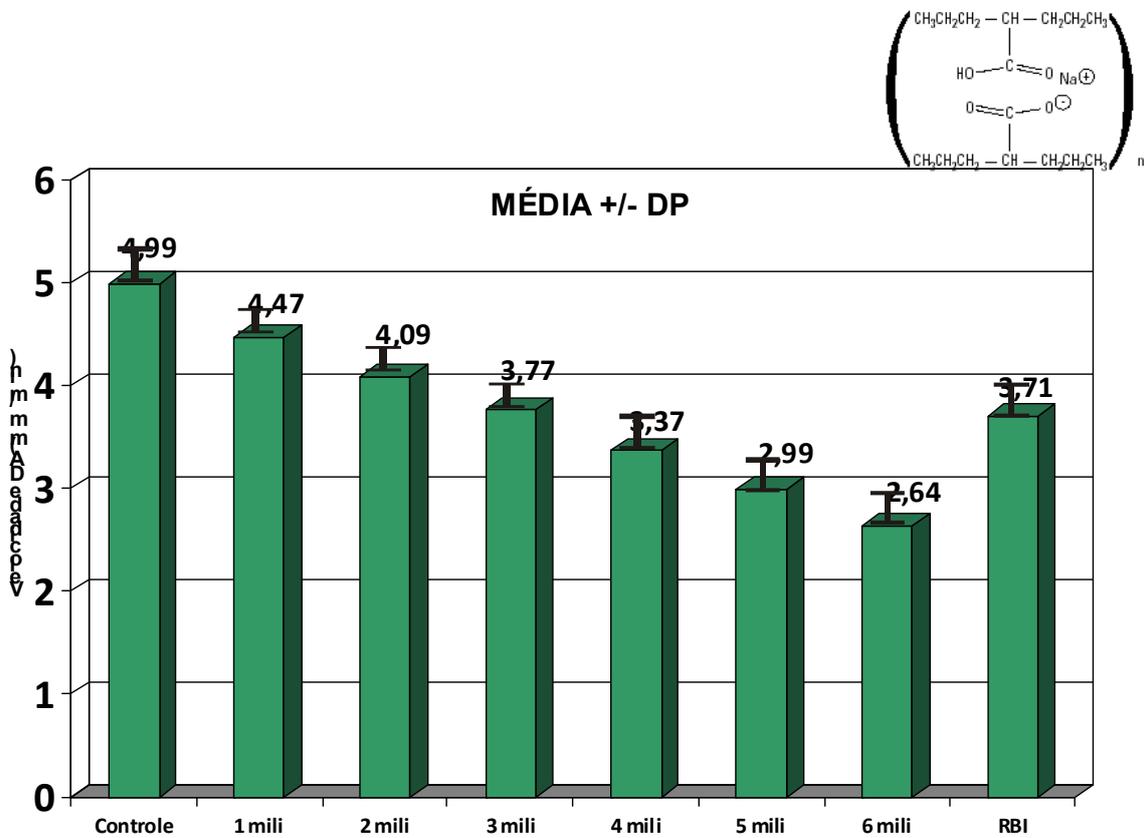


Gráfico 3: Verificamos uma diminuição de 47,1% na velocidade da DA ( mm/min ) com o uso da droga Divalproato na concentração de 6 mM. Concentrações variando de 1mM até 6 mM.

Gráfico 4 (amplitude/concentração) :

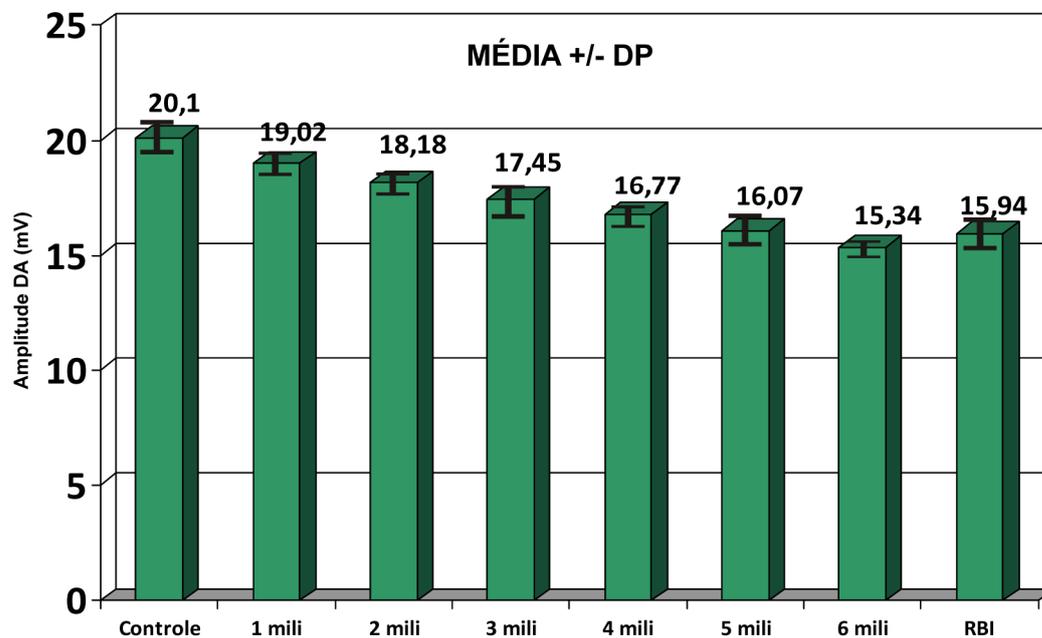


Gráfico 4: Verificamos uma diminuição de 23,7% na amplitude da DA ( mV ) com o uso da droga Divalproato. Concentrações variando de 1mM até 6mM.

Gráfico 5 (velocidade/”concentrações extremas”):

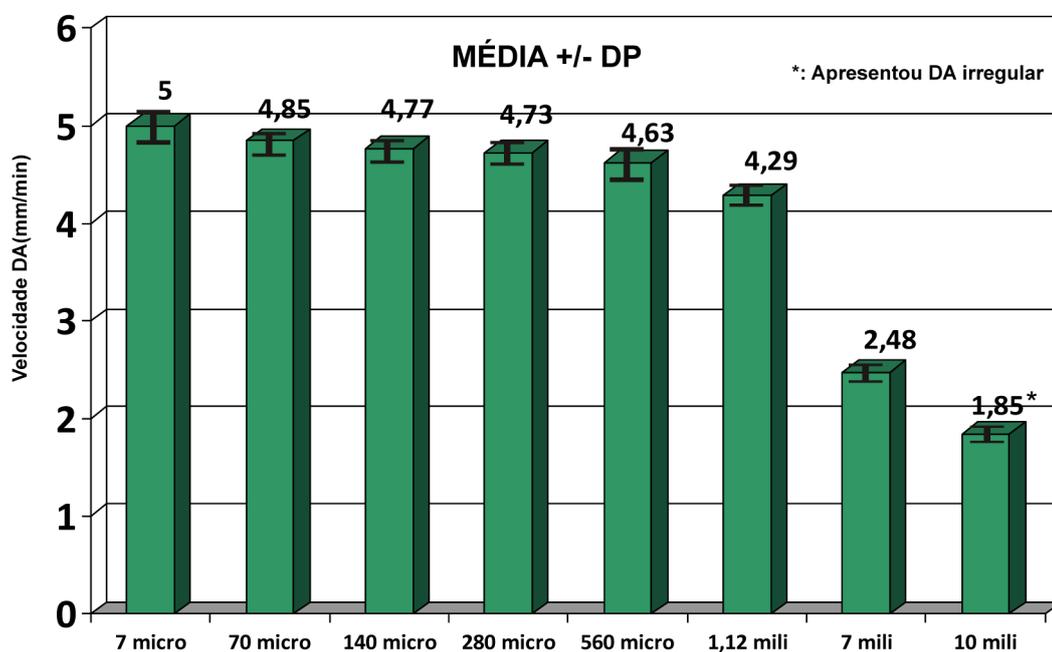


Gráfico 5: Verificamos uma variação de velocidade muito pequena em concentrações da droga abaixo de 1,12 milimolares. Em concentrações maiores que 6 milimolares ocorrem DAs irregulares (velocidades em mm/min) com o uso da droga Divalproato.

Gráfico 6 (amplitude/"concentrações extremas") :

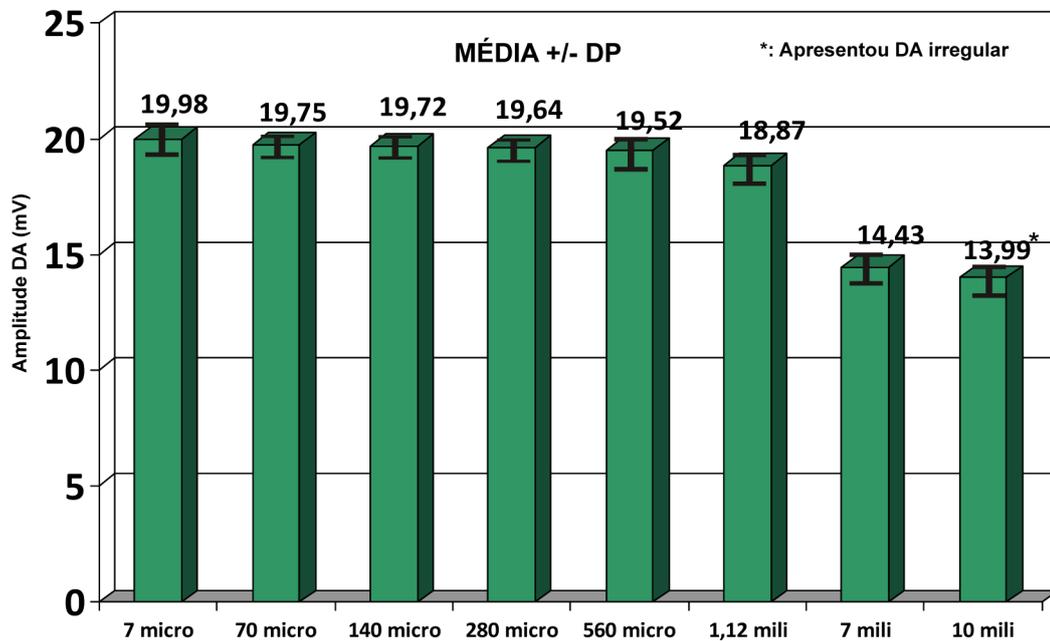
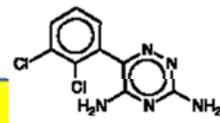


Gráfico 6: Verificamos uma variação de amplitude muito pequena em concentrações da droga abaixo de 1,12 milimolares. Em concentrações maiores que 6 milimolares ocorrem DAs irregulares (amplitudes em mV) com o uso da droga Divalproato.

## Resultados - Lamotrigina :



Analisamos nesta etapa a velocidade de propagação e a amplitude da DA, respectivamente em mm/min e mV. A concentração utilizada da droga em questão variou de 1 $\mu$ M até 1mM, aumentando progressivamente em 10, 100, 500, e 1mM. Os resultados obtidos em relação aos parâmetros estudados revelam uma diminuição de 41,2% da velocidade e de 11,3% da amplitude da DA, desde o início do experimento até a concentração de 1mM. Após este limite passamos a ter DAs irregulares e finalmente bloqueio completo do fenômeno.

Ao todo foram feitos 15 experimentos com a droga Lamotrigina, porém foram considerados válidos 11 experimentos. Os critérios para validação dos experimentos foram os mesmos já descritos anteriormente na página 72. As principais razões para a exclusão de 4 experimentos foram variações de temperatura e variações não previstas na composição do Ringer padrão.

Todos os resultados obtidos nesta fase com a droga Lamotrigina foram considerados efetivos e relevantes.

Gráfico 7 (velocidade/concentração) :

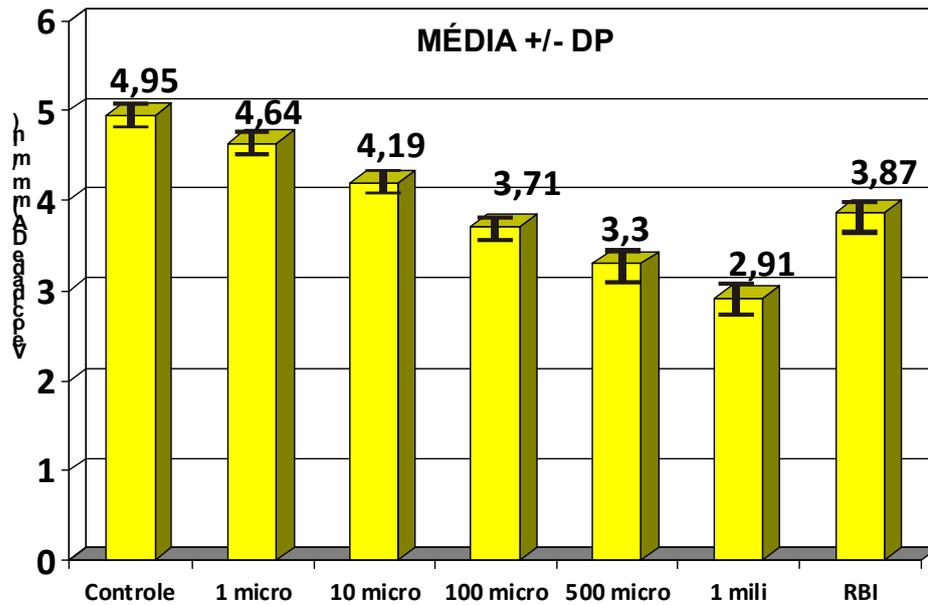
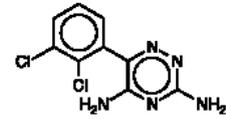


Gráfico 7: Verificamos uma diminuição de 41,2% na velocidade da DA ( mm/min ) com o uso da droga Lamotrigina na dose de 1mM. Concentrações variando de 1 $\mu$ M até 1 mM.

Gráfico 8 (amplitude/concentração) :

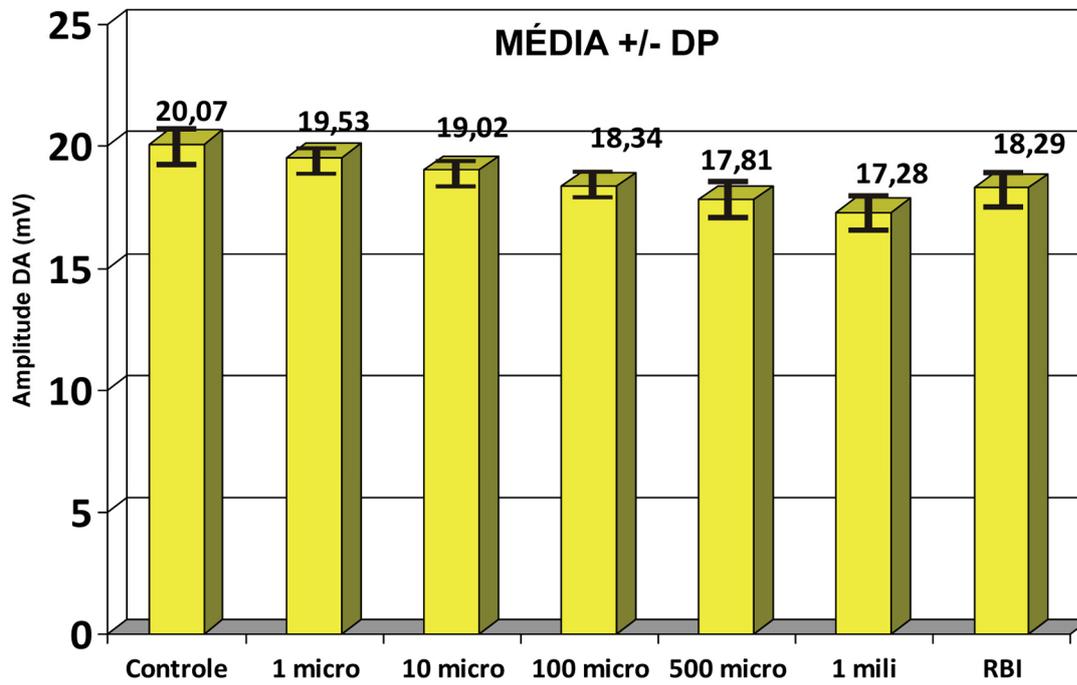
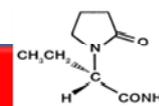


Gráfico 8: Verificamos uma diminuição de 11,3% na amplitude da DA ( mV ) com o uso da droga Lamotrigina. Concentrações variando de 1 $\mu$ M até 1mM.

## Resultados - Levetiracetam



Foram analisadas nesta etapa a velocidade de propagação e a amplitude da DA, respectivamente em mm/min e mV. A concentração utilizada da droga em questão variou de 10 $\mu$ M até 10mM, aumentando progressivamente em 100, 500, 1mM e 10mM. Os resultados obtidos em relação aos parâmetros estudados revelam uma diminuição de 21,6% da velocidade e de 11,6% da amplitude da DA, desde o início do experimento até a concentração de 10mM. Após este limite passamos a ter DAs irregulares e finalmente bloqueio completo do fenômeno.

Ao todo foram feitos 15 experimentos com a droga Levetiracetam porém foram considerados válidos 10 experimentos. Os critérios para validação dos experimentos foram os mesmos já descritos anteriormente na página 72. As principais razões para a exclusão de 5 experimentos foram variações de temperatura, variações não previstas na composição do Ringer padrão e uma “pane” elétrica no laboratório.

Todos os resultados obtidos nesta fase com a droga Levetiracetam foram considerados efetivos e relevantes.

Chamamos a atenção para o fato de que os resultados obtidos com a análise desta droga foram efetivos porém menos relevantes em relação às outras drogas estudadas. É possível que este achado possa ser explicado pelo mecanismo inovador da droga, já descrito na página 41.

Gráfico 9 (velocidade/concentração) :

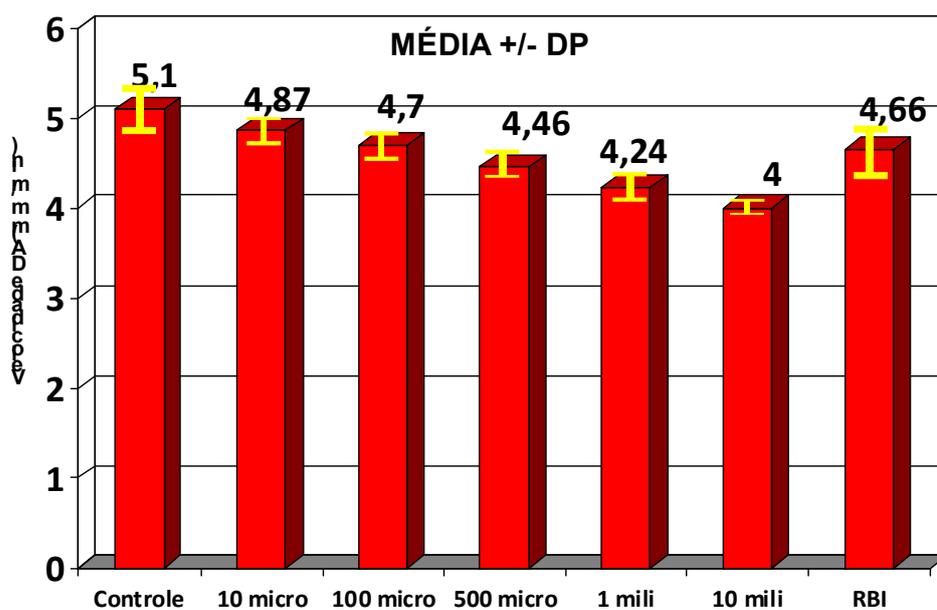
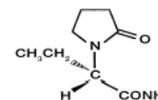


Gráfico 9: Verificamos uma diminuição de 21,6% na velocidade da DA ( mm/min ) com o uso da droga Levetiracetam na concentração de 10 mM. Concentrações variando de 10µM até 10mM.

Gráfico 10 (amplitude/concentração) :

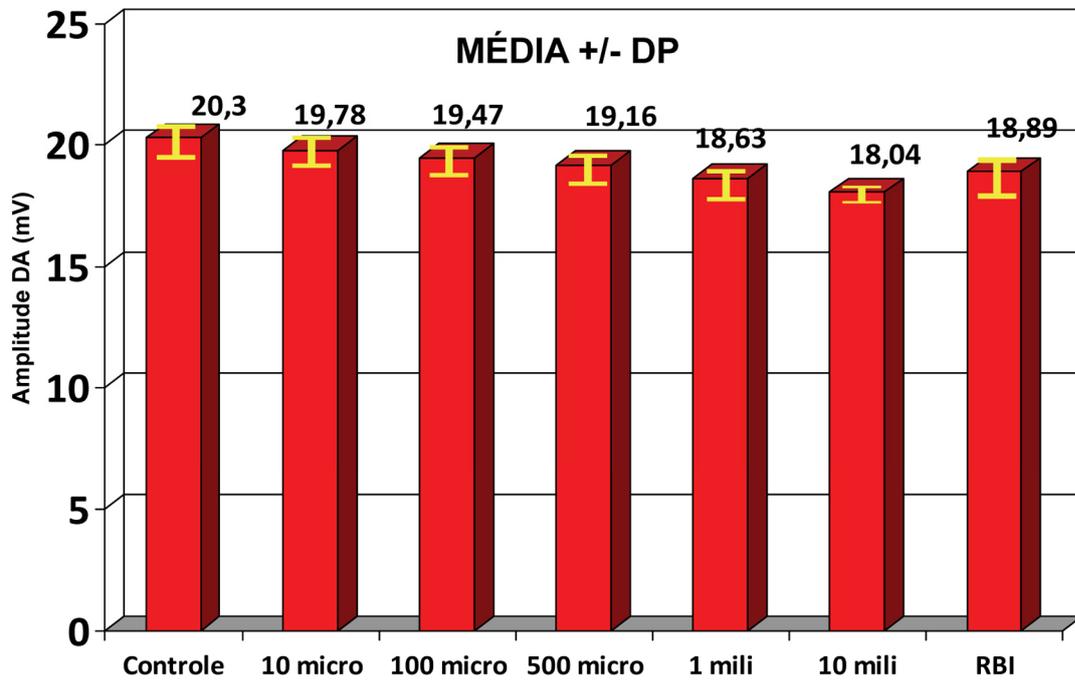
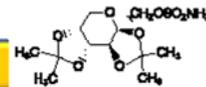


Gráfico 10: Verificamos uma diminuição de 11,6% na amplitude da DA ( mV ) com o uso da droga Levetiracetam. Concentrações variando de 10 $\mu$ M até 10mM.

## Resultados - Topiramato :



Finalmente, analisamos a velocidade de propagação e a amplitude da DA, respectivamente em mm/min e mV. do Topiramato. A concentração utilizada da droga em questão variou de 100 $\mu$ M até 600 $\mu$ M, aumentando progressivamente em 200, 300, 400 e 500 $\mu$ M. Os resultados obtidos em relação aos parâmetros estudados revelam uma diminuição de 67,9% da velocidade e de 21,1% da amplitude da DA, desde o início do experimento até a concentração de 600 $\mu$ M. Após este limite passamos a ter DAs irregulares e finalmente bloqueio completo do fenômeno. Foram feitos, também, com esta droga aferições em situações de concentrações “limítrofes” ou seja, ou concentrações muito baixas, com poucos resultados efetivos, ou concentrações muito altas apresentando DAs irregulares e, finalmente, bloqueio do fenômeno.

Ao todo foram feitos 35 experimentos com a droga Topiramato, porém foram considerados válidos 31 experimentos. Os critérios para validação dos experimentos foram os mesmos já descritos anteriormente na página 72. As principais razões para a exclusão de 4 experimentos foram variações de temperatura e variações não previstas na composição do Ringer padrão.

Todos os resultados obtidos nesta fase com a droga Topiramato foram considerados efetivos e relevantes. Observamos que a droga em questão foi definitivamente a mais “potente” para a diminuição da velocidade de propagação da VLV e, conseqüentemente, bloqueio do fenômeno. Esta observação está de acordo com a literatura revista que reporta o fato de que o Topiramato parece ser a droga anticonvulsivante mais eficaz para o tratamento profilático da migrânea.

Gráfico 11 (velocidade/concentração) :

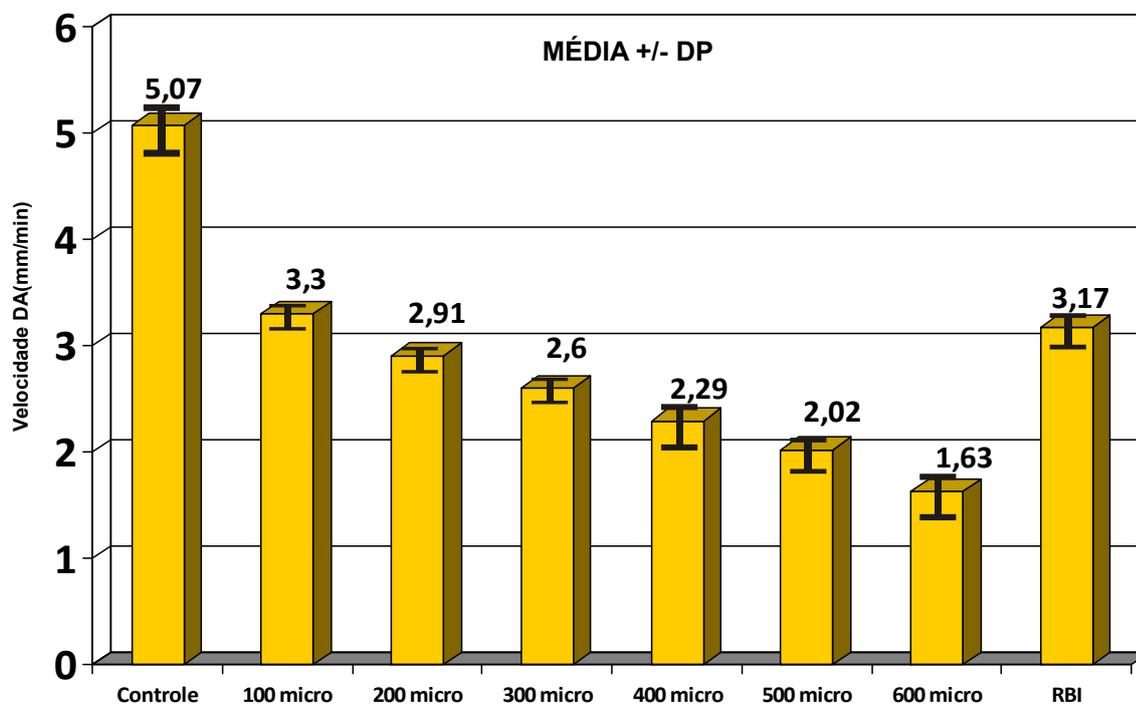
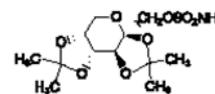


Gráfico 11: Verificamos uma diminuição de 67,9% na velocidade da DA ( mm/min ) com o uso da droga Topiramato na concentração de 600 $\mu$ M ( maior redução de velocidade observada ).  
Concentrações variando de 100 $\mu$ M até 600 $\mu$ M.

Gráfico 12 (amplitude/concentração) :

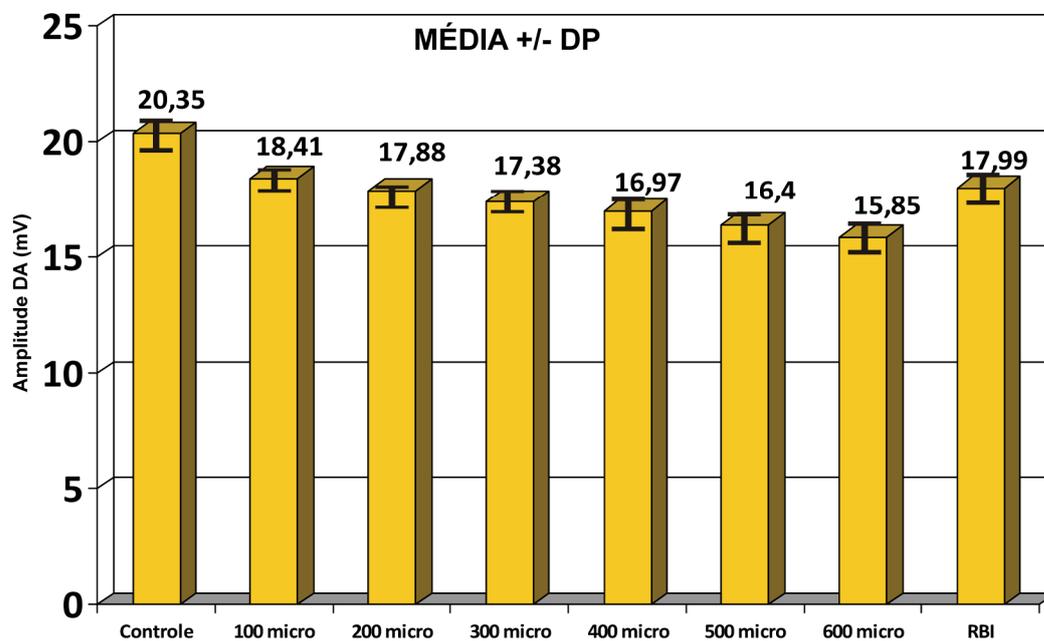


Gráfico 12: Verificamos uma diminuição de 21,1% na amplitude da DA ( mV ) com o uso da droga Topiramato. Concentrações variando de 100 $\mu$ M até 600 $\mu$ M.

Gráfico 13 (velocidade/"concentrações extremas") :

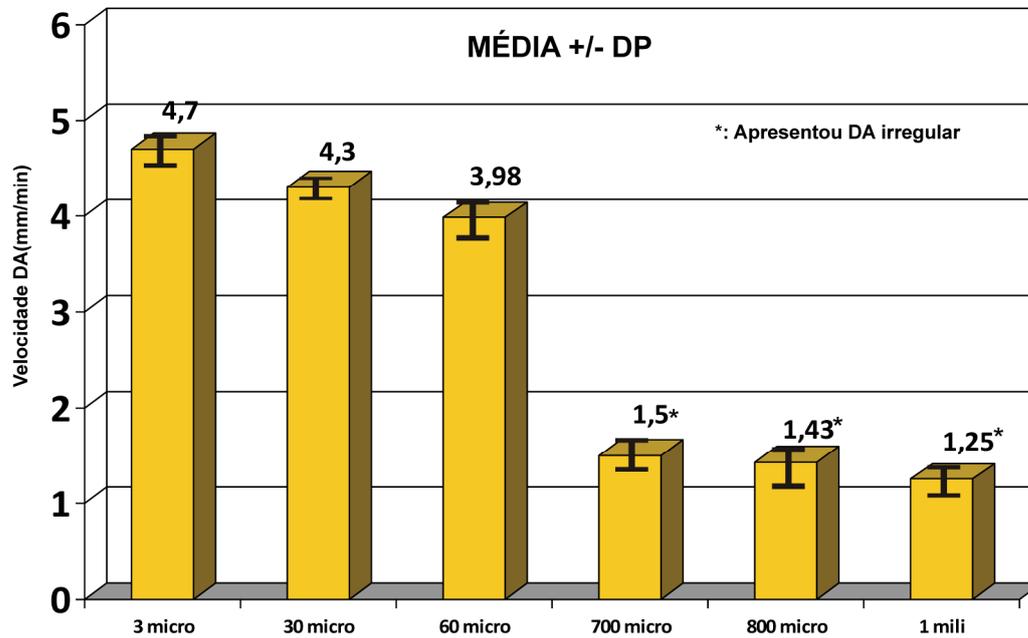


Gráfico 13: Verificamos uma variação de velocidade muito pequena em concentrações da droga abaixo de 60 micromolares. Em concentrações maiores que 700 micromolares ocorrem DAs irregulares ( velocidades em mm/min ) com o uso da droga Topiramato.

Gráfico 14 (amplitude/"concentrações extremas") :

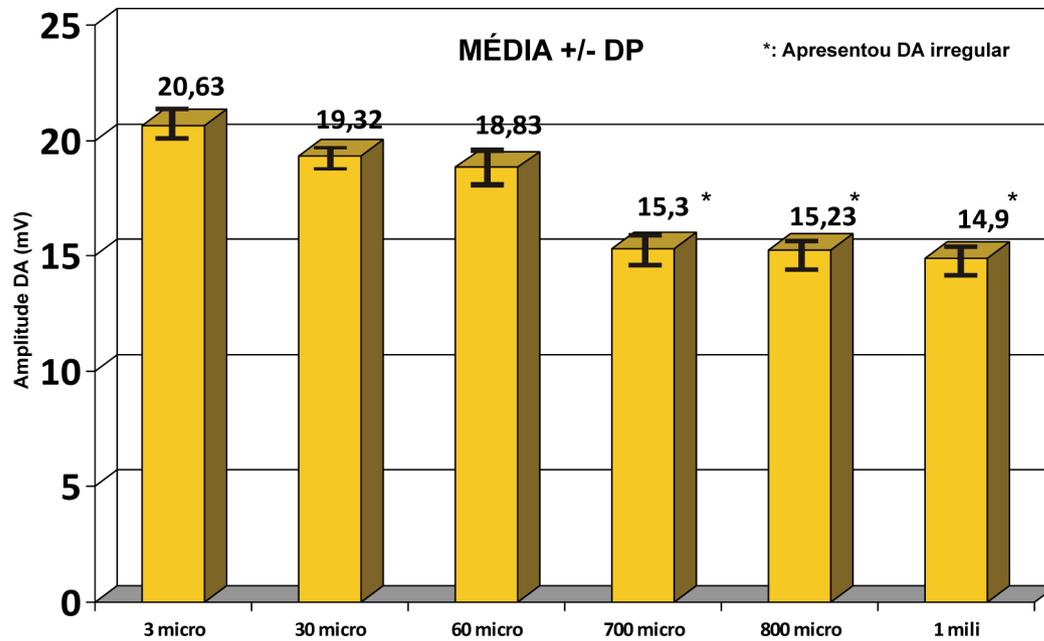


Gráfico 14: Verificamos uma variação de amplitude muito pequena em concentrações da droga abaixo de 60 micromolares. Em concentrações maiores que 700 micromolares ocorrem DAs irregulares ( amplitudes em mV ) com o uso da droga Topiramato.

### 5.3: Fase III

Nesta fase foram aferidas, por droga em estudo, as medidas do limiar de deflagração em relação a um estímulo químico feito com  $KCl^-$ , em diferentes concentrações, a partir de 8 mM. As características e concentrações de droga, bem como as características físicas do meio em estudo, estão explicitadas antes de cada sequência de experimentos. Para cada substância foram feitos dez experimentos. O limiar de deflagração foi aferido, por droga, em relação à concentração de  $KCl^-$  (mM) mínima que foi efetiva em gerar DAs, para cada fármaco em estudo. Um gráfico comparativo foi feito ao final desta fase. A concentração das drogas em estudo foi obtida pela mediana das concentrações farmacológicas utilizadas na fase II e 50% desta concentração mais a concentração média.

Tabela 2: Limiar de deflagração do Divalproato.

#### DIVALPROATO

3,5 mM(milimolares)

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de  $KCl^-$  : 100 microlitros/min.

Experiência 1	V(mm/min)	VLV (mV)	Estimulo ( $KCl^-$ )
Rb3K. Controle.	5,1	20,1	
3,5 mM.	0	0	8K
5,3 mM.	0	0	8K

Experiência 2			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,8	
3,5 mM.	0	0	10K
5,3 mM.	0	0	10K

Experiência 3			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	20	
3,5 mM.	0	0	12K
5,3 mM.	0	0	12K

Experiência 4			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,2	20,1	
3,5 mM.	0	0	14K
5,3 mM.	0	0	14K

Experiência 5			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	20,2	
3,5 mM.	3,5	17,1	16K
5,3 mM.	2,8	14,9	16K

Experiência 6			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,6	
3,5 mM.	0	0	15K
5,3 mM.	0	0	15K

Experiência 7			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5	19,8	
3,5 mM.	3,6	17,2	16K
5,3 mM.	3	15,1	16K

Experiência 8			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	20,2	
3,5 mM.	5,4	16,8	16K
5,3 mM.	2,9	15,1	16K

Experiência 9			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	20,2	
3,5 mM.	3,2	16,6	16K
5,3 mM.	2,7	15,3	16K

Experiência 10			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,7	
3,5 mM.	3,4	16,7	16K
5,3 mM.	2,8	15,5	16K

Tabela 2: Limiar de deflagração da DA. Com dose média de Divalproato (3,5 mM), com estímulo químico, em 16 mM de Kcl<sup>-</sup>.

Tabela 3: Limiar de deflagração da Gabapentina.

## GABAPENTINA

365 µM

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1			
	V(mm/min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,2	19,5	
365 µM	0	0	8K
548 µM	0	0	8K

Experiência 2			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	19,2	
365 μM	0	0	10K
548 μM	0	0	10K

Experiência 3			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	18,9	
365 μM	0	0	12K
548 μM	0	0	12K

Experiência 4			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,7	18,6	
365 μM	0	0	14K
548 μM	0	0	14K

Experiência 5			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,1	
365 μM	0	0	16K
548 μM	0	0	16K

Experiência 6			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	19,3	
365 μM	3,8	16,5	18K
548 μM	3,2	14,6	18K

Experiência 7			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,1	
365 μM	0	0	17K
548 μM	0	0	17K

Experiência 8			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	20,4	
365 μM	3,6	16,6	18K
548 μM	3,3	15,1	18K

Experiência 9			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,8	19,4	
365 μM	3,8	16,7	18K
548 μM	3,1	14,9	18K

Experiência 10			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,2	
365 μM	3,7	16,4	18K
548 μM	3,0	15,2	18K

Tabela 3: Limiar de deflagração da DA. Com dose média de Gabapentina (365 μM), com estímulo químico, em 18 mM de Kcl<sup>-</sup>.

Tabela 4: Limiar de deflagração do Topiramato.

## TOPIRAMATO

350 μM

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1			
	V(mm/min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	20,6	
350 μM	0	0	8K
525 μM	0	0	8K

Experiência 2			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	20,1	
350 μM	0	0	10K
525 μM	0	0	10K

Experiência 3			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,2	19,9	
350 μM	0	0	12K
525 μM	0	0	12K

Experiência 4			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	20,1	
350 μM	0	0	14K
525 μM	0	0	14K

Experiência 5			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,8	
350 μM	0	0	16K
525 μM	0	0	16K

Experiência 6			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	19,3	
350 μM	3,8	16,5	18K
525 μM	3,2	14,6	18K

Experiência 7			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,8	
350 μM	0	0	17K
525 μM	0	0	17K

Experiência 8			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	20,2	
350 μM	2,8	17,2	19K
525 μM	2,2	16,4	19K

Experiência 9			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	20,1	
350 μM	2,6	17,1	19K
525 μM	2,2	16,3	19K

Experiência 10			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,8	
350 μM	2,3	17,3	19K
525 μM	1,9	16,3	19K

Tabela 4: Limiar de deflagração da DA. Com dose média de Topiramato (350 μM), com estímulo químico, em 19 mM de KCl<sup>-</sup>.

Tabela 5: Limiar de deflagração da Lamotrigina.

### LAMOTRIGINA

320 μM

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	20,1	
320 μM	0	0	8K
480 μM	0	0	8K

Experiência 2			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,8	
320 μM	0	0	10K
480 μM	0	0	10K

Experiência 3			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,2	20,3	
320 μM	0	0	12K
480 μM	0	0	12K

Experiência 4			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	19,7	
320 μM	3,5	18,5	14K
480 μM	3,2	17,4	14K

Experiência 5			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo(KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,8	19,9	
320 μM	3,6	18,2	13K
480 μM	3,3	17,6	13K

Experiência 6			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo(KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	19,7	
320 μM	3,4	18,3	13K
480 μM	3,0	17,3	13K

Experiência 7			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,5	
320 μM	3,6	18,3	13K
480 μM	3,2	17,5	13K

Experiência 8			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo(KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	19,8	
320 μM	3,6	18,3	13K
480 μM	3,1	17,6	13K

Experiência 9			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,8	19,8	
320 μM	3,4	18,1	13K
480 μM	3,0	17,4	13K

Experiência 10			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	20,2	
320 μM	3,4	18,0	13K
480 μM	2,9	17,2	13K

Tabela 5: Limiar de deflagração da DA. Com dose média de Lamotrigina (320 μM), com estímulo químico, em 13 mM de KCl<sup>-</sup>.

Tabela 6: Limiar de deflagração da Levetiracetam.

### LEVETIRACETAM

2,3 mM.

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1			
	V(mm/min)	VLV (mV)	Estimulo(KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	20,2	
2.3 mM	0	0	8K
3.5 mM	0	0	8K

Experiência 2			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	20,0	
2.3 mM	0	0	10K
3.5 mM	0	0	10K

Experiência 3			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	19,8	
2.3 mM	4,2	18,9	12K
3.5 mM	4,0	18,3	12K

Experiência 4			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,1	20,1	
2.3 mM	4,3	18,5	11K
3.5 mM	4,0	18,1	11K

Experiência 5			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,8	
2.3 mM	4,1	18,6	11K
3.5 mM	3,9	17,9	11K

Experiência 6			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	20,3	
2.3 mM	4,2	18,4	11K
3.5 mM	3,9	18,2	11K

Experiência 7			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,2	20,3	
2.3 mM	4,1	18,4	11K
3.5 mM	4,0	18,0	11K

Experiência 8			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (KCl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	5,0	20,0	
2.3 mM	4,3	18,7	11K
3.5 mM	3,9	18,0	11K

Experiência 9			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	19,8	
2.3 mM	4,3	18,6	11K
3.5 mM	3,9	17,9	11K

Experiência 10			
	V(mm /min)	VLV (mV)	Estimulo (Kcl <sup>-</sup> )
Rb3K. Controle.	4,9	20,2	
2.3 mM	41	18,5	11K
3.5 mM	4,0	18,0	11K

Tabela 6: Limiar de deflagração da DA. Com dose média de Levetiracetam (2,3 mM), com estímulo químico, em 11 mM de Kcl<sup>-</sup>.

## AFERIÇÃO DO LIMIAR DE DEFLAGRAÇÃO DA DEPRESSÃO

### ALASTRANTE.

Da análise dos dados obtidos nesta fase do trabalho, podemos facilmente verificar que o Topiramato foi a droga que determinou um maior limiar de deflagração para o fenômeno. Foi necessário um estímulo químico de 19mM de  $KCl^-$  para a eliciação da DA com o uso desta droga. Este achado reforça os achados da fase II deste trabalho.

Tabela 7: Comparação dos efeitos das 5 drogas em relação ao limiar de deflagração por estímulo químico ( $KCl^-$ ).

1- Levetiracetam	2,3 mM	11 mM/ $K^+$
2 - Lamotrigina	320 $\mu$ M	13 mM/ $K^+$
3 - Divalproato	3,5 mM	16 mM/ $K^+$
4 - Gabapentina	365 $\mu$ M	18 mM/ $K^+$
5 - Topiramato	350 $\mu$ M	19 mM/ $K^+$

Tabela 7 : Verificamos que o Topiramato foi a droga na qual o limiar de deflagração da DA foi maior (maior concentração de  $K^+$ ) e o Levetiracetam foi a droga na qual o limiar de deflagração da DA foi menor (menor concentração de  $K^+$ ).

Gráfico 15: Histograma revelando uma comparação dos efeitos das 5 drogas em relação ao limiar de deflagração por estímulo químico (Kcl).

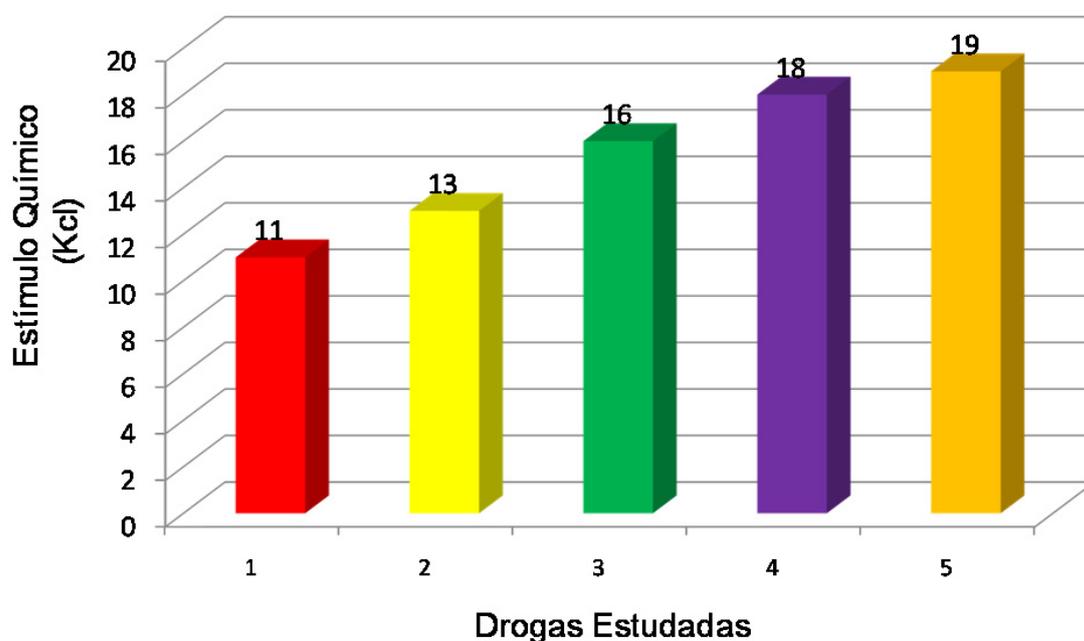


Gráfico 15: Histograma revelando os resultados descritos na tabela 7.

#### 5.4: FASE IV

Nesta fase foram aferidas, por droga em estudo, as medidas do período refratário absoluto (em unidades de tempo) em relação a um estímulo mecânico, feito sem qualquer droga, após o uso de cada uma das drogas em estudo, em concentração média eficaz – já determinada, pela média simples das concentrações de cada droga na Fase II do estudo – e após “lavagem” com Rbi. As características e concentrações de cada droga em estudo, bem como as características físicas do meio em estudo, estão explicitadas antes de cada sequência de experiências. Para cada droga foram feitos cinco experimentos; após cada um destes experimentos, foi calculada a média simples em relação aos dados de cada experimento. Estes dados compa-

rativos, por droga, foram utilizados como padrão para comparação. Um gráfico comparativo foi feito no final desta fase.

## MEDIDA DO PERÍODO REFRACTÁRIO ABSOLUTO DA DEPRESSÃO

### ALASTRANTE:

Tabela 8: Período Refratário Absoluto - Divalproato.

#### DIVALPROATO

3,5 mM

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1					
	V1 (mm/min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,9	3,4	19,8	18,4	15 seg.
3,5 mM.	3,8	2,9	17,6	15,7	4min. e 30 seg.
Rbi.	4,3	3,6	18,2	15,9	3 min. e 45 seg.

Experiência 2					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,7	3,3	19,9	18,2	15 seg.
3,5 mM.	3,9	3,0	17,9	15,3	4min. e 25 seg.
Rbi.	4,3	3,2	18,3	15,8	3 min. e 45 seg.

Experiência 3					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,1	3,2	19,9	18,1	14 seg.
3,5 mM.	3,4	2,8	16,7	15,5	4min. e 15 seg.
Rbi.	4,6	3,0	18,1	15,8	3 min. e 40 seg.

Experiência 4					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,8	3,4	20,3	18,0	15 seg.
3,5 mM.	3,6	2,8	17,2	15,1	4min. e 25 seg.
Rbi.	4,3	3,4	18,0	15,6	3 min. e 45 seg.

Experiência 5					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,8	3,2	19,7	18,4	15 seg.
3,5 mM.	3,2	2,6	17,5	15,3	4min. e 30 seg.
Rbi.	4,0	3,4	17,9	15,4	3 min. e 45 seg.

Média Divalproato (simples)					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,9	3,3	19,9	18,2	15 seg.
3,5 mM.	3,6	2,8	17,4	15,4	4min. e 26 seg.
Rbi.	4,3	3,3	18,1	15,9	3 min. e 45 seg.

Tabela 8: Período refratário absoluto em unidades de tempo da droga Divalproato.

Tabela 9: Período Refratário Absoluto – Gabapentina.

## GABAPENTINA

365 µM

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1					
	V1 (mm/min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,7	3,4	19,0	18,3	15 seg.
365 µ/M	3,8	3,2	17,5	16,2	5 min. e 15 seg.
Rbi.	4,2	3,3	18,0	16,5	2 min. e 30 seg.

Experiência 2					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,9	3,8	19,5	18,0	15 seg.
365 µ/M	3,8	3,5	17,5	17,5	4min. e 30 seg.
Rbi.	4,3	3,9	19,0	19,0	2 min. e 15 seg.

Experiência 3					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,5	3,3	19,0	16,5	15 seg.
365 µ/M	4,1	2,8	17,0	15,8	4 min.
Rbi.	4,3	3,1	18,2	16,2	2 min. e 50 seg.

Experiência 4					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,4	3,6	18,5	17,0	13 seg.
365 µ/M	3,9	2,9	16,3	15,6	4 min. e 15 seg.
Rbi.	4,1	3,2	16,9	16,5	2 min. e 40 seg.

Experiência 5					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,1	3,9	19,0	18,0	14 seg.
365 µ/M	4,0	3,1	16,0	15,2	3 min. e 45 seg.
Rbi.	4,3	3,5	17,1	16,3	2 min. e 30 seg.

Média Gabapentina (simples)					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,7	3,6	19,0	17,5	14 seg.
365 µ/M	3,9	3,1	16,7	15,7	4 min. e 21 seg.
Rbi.	4,2	3,4	17,8	16,6	2 min. e 33 seg.

Tabela 9: Período Refratário Absoluto em unidades de tempo da droga Gabapentina.

Tabela 10: Período Refratário Absoluto – Topiramato.

**TOPIRAMATO**

350 µ/M

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1					
	V1(mm/min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,8	3,3	20,1	18,2	15 seg.
350 µ/M	2,6	1,7	17,2	15,1	5 min. e 15 seg.
Rbi.	3,3	2,6	17,8	17,1	4 min. e 15 seg.

Experiência 2					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,7	3,1	19,8	17,9	14 seg.
350 µ/M	2,4	1,5	16,9	14,7	5 min. e 40 seg.
Rbi.	3,5	2,6	17,4	15,9	4 min. e 10 seg.

Experiência 3					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,0	3,2	2,1	18,3	15 seg.
350 µ/M	2,7	1,9	17,0	14,9	5 min. e 35 seg.
Rbi.	3,7	2,8	17,2	16,2	4 min. e 05 seg.

Experiência 4					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,8	3,5	19,9	17,8	14 seg.
350 µ/M	2,4	1,6	16,7	14,7	5 min. e 50 seg.
Rbi.	3,5	2,9	18,3	17,1	4 min. e 25 seg

Experiência 5					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,0	3,2	20,2	18,4	15 seg.
350 µ/M	2,3	1,5	16,6	14,9	5 min. e 45 seg.
Rbi.	3,1	2,6	17,8	18,1	4 min. e 10 seg.

Média Topiramato (simples)					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	$\Gamma$
Rb3K.	4,9	3,3	20,0	18,1	15 seg.
350 $\mu$ /M	2,5	1,6	16,9	14,7	5 min. e 37 seg.
Rbi.	3,4	2,7	17,8	16,9	4 min. e 10 seg.

Tabela 10: Período Refratário Absoluto em unidades de tempo da droga Topiramato.

Tabela 11: Período Refratário Absoluto – Lamotrigina.

### LAMOTRIGINA

320  $\mu$ / M

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K. : 100 microlitros/min.

Experiência 1					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	$\Gamma$
Rb3K.	5,0	3,7	20,1	17,5	14 seg.
320 $\mu$ / M	3,6	2,8	17,8	17,2	3 min. e 45 seg.
Rbi.	3,9	3,3	18,8	17,8	2 min. e 05 seg.

Experiência 2					
	V1 (mm /min)	V2(mm min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	$\Gamma$
Rb3K.	5,3	3,6	19,6	18,5	15 seg.
320 $\mu$ / M	3,5	3,0	18,3	17,4	2 min. e 50 seg.
Rbi.	4,6	3,3	18,9	17,8	1 min. e 50 seg.

Experiência 3					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	$\Gamma$
Rb3K.	4,9	3,8	19,0	17,8	14 seg.
320 $\mu$ / M	3,4	2,9	17,9	17,1	3 min. e 15 seg.
Rbi.	3,9	3,2	18,6	18,0	2 min. e 05 seg.

Experiência 4					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	$\Gamma$
Rb3K.	5,2	3,5	20,0	18,4	13 seg.
320 $\mu$ / M	3,6	3,2	18,4	17,3	3 min. e 05 seg.
Rbi.	4,2	3,4	18,9	17,8	1 min. e 40 seg.

Experiência 5					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,8	3,5	18,8	18,1	15 seg.
320 μ/ M	3,6	2,8	17,9	17,0	2 min. e 40 seg.
Rbi.	4,4	3,1	18,4	17,6	1 min. e 45 seg.

Média Lamotrigina (simples)					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,0	3,6	19,5	18,1	14 seg.
320 μ/ M	3,5	2,9	18,1	17,2	3 min. e 07 seg.
Rbi.	4,2	3,3	18,7	17,8	1 min. e 53 seg.

Tabela 11: Período Refratário Absoluto em unidades de tempo da droga Lamotrigina.

Tabela 12: Período Refratário Absoluto – Levetiracetam.

## LEVETIRACETAM

2,3 mM

Temperatura: 31°C

Fluxo: 1,2 ml/min

Carbogênio

Rb3K.

Fluxo de ejeção de K.: 100 microlitros/min.

Experiência 1					
	V1 (mm/min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,0	3,5	20,1	18,5	15 seg.
2,3 mM	4,2	3,1	18,6	16,5	3 min, e 15 seg.
Rbi.	4,6	3,2	19,1	18,6	3 min, e 00 seg.

Experiência 2					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	4,9	3,6	19,8	18,1	14 seg.
2,3mM	4,6	2,9	18,9	17,8	3 min. e 30 seg.
Rbi.	4,7	3,4	19,2	18,0	3 min. e 05 seg.

Experiência 3					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,1	3,8	19,6	18,4	14 seg.
2,3 mM	4,5	3,0	18,6	17,2	3 min. e 15 seg.
Rbi.	4,8	3,6	19,4	18,2	3 min. e 10 seg.

Experiência 4					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,2	3,8	20,1	18,8	15 seg,
2,3 mM	4,7	3,2	17,8	16,7	3 min. e 45 seg.
Rbi.	4,9	3,6	18,4	17,6	3 min. e 30 seg.

Experiência 5					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,1	3,9	19,9	18,0	15 seg.
2,3 mM	3,9	3,0	17,8	16,6	3 min. e 25 seg.
Rbi.	4,3	3,7	18,7	17,8	3 min. e 05 seg.

Média Levetiracetam (simples)					
	V1 (mm /min)	V2(mm /min)	VLV1(mV)	VLV2(mV)	Γ
Rb3K.	5,1	3,7	19,9	18,4	15 seg.
2,3 mM	4,4	3,0	18,3	17,0	3 min. e 26 seg.
Rbi.	4,7	3,5	19,0	18,0	3 min. e 10 seg.

Tabela 12: Período Refratário Absoluto em unidades de tempo da droga Levetiracetam.

Da análise dos dados obtidos nesta fase do trabalho, podemos facilmente verificar que o Topiramato foi também a droga que determinou um maior período refratário absoluto para o fenômeno. Foi verificado um período refratário absoluto de 5 minutos e trinta e sete segundos para a eliciação da DA com o uso desta droga. Este achado reforça os achados da fase II e III deste trabalho.

Tabela 13: Comparação dos efeitos das 5 drogas em relação ao período refratário absoluto por estímulo mecânico.

1 - Levetiracetam	0:03:26
2 - Lamotrigina	0:03:07
3 - Divalproato	0:04:26
4 - Gabapentina	0:04:21
5 - Topiramato	0:05:37

Tabela 13: Comparativo – Período refratário absoluto, Verificamos que o Topiramato foi a droga na qual o período refratário absoluto foi maior (0:05:37) e a Lamotrigina foi a droga na qual o período refratário absoluto da DA foi menor (0:03:07).

Gráfico 16: Histograma revelando uma comparação dos efeitos das 5 drogas em relação ao período refratário absoluto por estímulo mecânico.

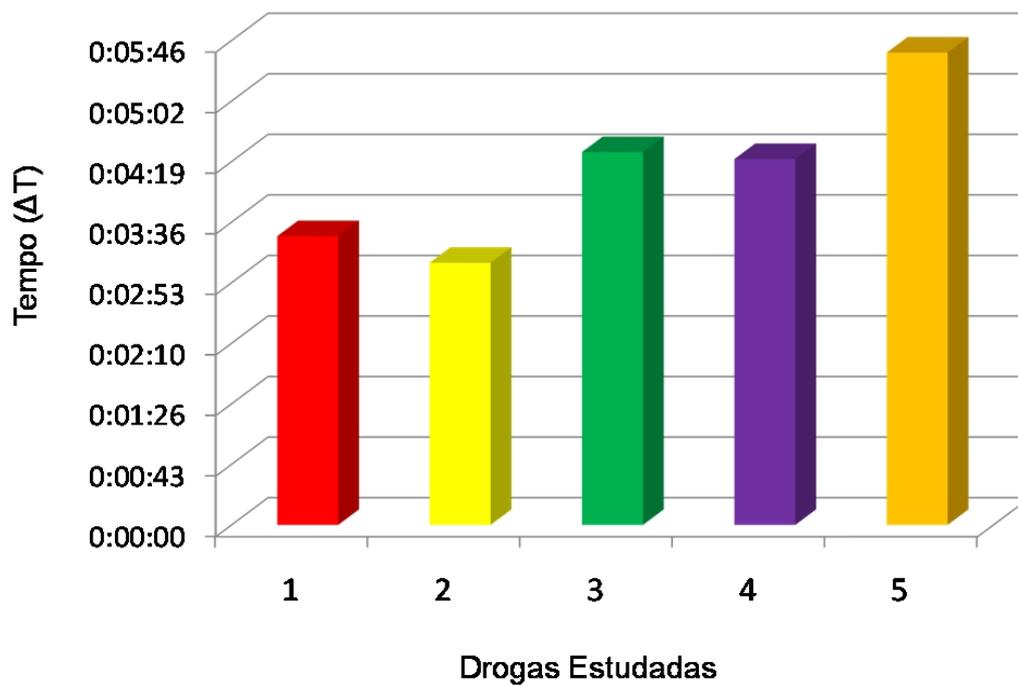


Gráfico 16: Histograma revelando os resultados descritos na tabela 13.

## 5.5: FASE V

### Experiências *in vivo*.

Nesta fase foram aferidas, por droga em estudo, as medidas da velocidade (mm/min) e da variação lenta de voltagem (mV) em retinas de pinto Gallus, com idade média de 15 dias tratados *in vivo*, durante quinze dias com Topiramato, Gabapentina, Divalproato, Lamotrigina ou Levetiracetam em concentração média efetiva e dose média adequada ao peso médio de cada animal, com o uso de injeções intraperitoneais diárias. Os animais permaneceram em ambiente fechado sob aquecimento por lâmpadas de 60 watts, Após 15 dias os animais foram sacrificados por decapitação e os fragmentos de retina superfundidos com Rb3K (Ringer padrão definido para este estudo), descrito na página 70. Estímulos mecânicos foram feitos de 15 em 15 minutos, Para cada droga foram estudados 4 animais, sendo que 1 entre estes foi considerado controle, não recebendo, conseqüentemente, o “tratamento” com as drogas em estudo, Após todos os experimentos, foi calculada a média simples em relação à velocidade da DA (mm/min.) e amplitude da variação lenta de voltagem da DA (mV), Estes dados comparativos, por droga, foram utilizados como padrão para comparação, Dois gráficos comparativos foram feitos, no final desta fase.

Tabela 14: Resultados de experimentos *in vivo* – Divalproato.

DIVALPROATO	1º estímulo		2º estímulo		3º estímulo		4º estímulo	
	V(mm/min)	VLV (mV)	V(mm /min)	VLV (mV)	V(mm /min)	VLV (mV)	V(mm /min)	VLV (mV)
1º Animal	4,2	18,3	4,0	17,9	4,0	17,9	4,1	18,1
2º Animal	4,1	18,2	4,1	18,0	3,9	17,9	3,9	18,0
3º Animal	4,3	18,4	4,1	18,1	4,0	17,9	4,0	17,9
Controle	5,0	20,3	4,9	20,0	4,9	19,8	4,9	19,8

Tabela 14: Resultados de experimentos *in vivo* com o Divalproato, Aferidos a velocidade (mm/min) e a amplitude (mV) da DA.

Tabela 15: Resultados de experimentos *in vivo* – Gabapentina.

GABAPENTINA	1º estímulo		2º estímulo		3º estímulo		4º estímulo	
	V(mm /min)	VLV (mV)						
1º Animal	4,4	18,7	4,5	18,9	4,4	18,6	4,3	18,6
2º Animal	4,6	19,2	4,4	18,7	4,2	18,5	4,2	18,5
3º Animal	4,3	18,6	4,3	18,4	4,2	18,4	4,1	18,4
Controle	5,1	20,4	5,1	20,2	5,0	20,1	5,0	20,0

Tabela 15: Resultados de experimentos *in vivo* com a Gabapentina, Aferidos a velocidade (mm/min) e a amplitude (mV) da DA.

Tabela 16: Resultados de experimentos *in vivo* – Topiramato.

TOPIRAMATO	1º estímulo		2º estímulo		3º estímulo		4º estímulo	
	V(mm /min)	VLV (mV)						
1º Animal	3,2	18,3	3,0	18,1	3,0	18,1	2,9	18,0
2º Animal	3,1	18,2	2,9	18,0	2,8	17,9	3,0	18,2
3º Animal	3,2	18,1	3,0	17,9	2,9	17,9	2,9	18,0
Controle	5,0	20,6	4,9	20,3	4,9	20,4	5,0	20,0

Tabela 16: Resultados de experimentos *in vivo* com o Topiramato, Aferidos a velocidade (mm/min) e a amplitude (mV) da DA.

Tabela 17: Resultados de experimentos *in vivo* – Lamotrigina.

LAMOTRIGINA	1º estímulo		2º estímulo		3º estímulo		4º estímulo	
	V(mm /min)	VLV (mV)						
1º Animal	4,4	18,7	4,5	18,9	4,4	18,6	4,3	18,6
2º Animal	4,6	19,2	4,4	18,7	4,2	18,5	4,2	18,5
3º Animal	4,3	18,6	4,3	18,4	4,2	18,4	4,1	18,4
Controle	5,1	20,4	5,1	20,2	5,0	20,1	5,0	20,0

Tabela 17: Resultados de experimentos *in vivo* com a Lamotrigina, Aferidos a velocidade (mm/min) e a amplitude (mV) da DA.

Tabela 18: Resultados de experimentos *in vivo* – Levetiracetam.

LEVETIRACETAM	1º estímulo		2º estímulo		3º estímulo		4º estímulo	
	V(mm/min)	VLV (mV)						
1º Animal	4,9	19,8	4,8	19,6	4,8	19,6	4,7	19,5
2º Animal	4,8	19,7	4,8	19,4	4,7	19,3	4,6	19,2
3º Animal	4,8	19,5	4,6	19,1	4,6	19,0	4,6	18,8
Controle	5,1	20,4	5,0	20,2	5,0	20,1	4,9	20,1

Tabela 18: Resultados de experimentos *in vivo* com o Levetiracetam, Aferidos a velocidade (mm/min) e a amplitude (mV) da DA.

Da análise dos dados obtidos nesta fase do trabalho, podemos verificar que todas as drogas estudadas, em concentrações farmacológicas corrigidas para peso e massa corpórea dos animais tratados, não provocaram efeitos colaterais e/ou toxicidade importante que tenha levado à morte de algum animal. Todas as drogas efetivamente atravessaram a barreira hemato-retineana e provavelmente também a barreira hemato-encefálica. O Topiramato foi considerado também, nesta fase do trabalho, a droga mais efetiva e o Levetiracetam a menos efetiva em relação às drogas estudadas. Este achado reforça os achados da fase II, III e IV deste trabalho.

Tabela 19: Comparação dos efeitos das 5 drogas em relação a velocidade de propagação em mm/min e a amplitude em mV. *in vivo*.

	V(mm/min)	VLV (mV)
1 - Levetiracetam (2,3 mM,)	4,7	19,4
2 - Lamotrigina (320 µM)	4,3	18,6
3 - Divalproato (3,5 mM,)	4,1	18,0
4 - Gabapentina (365 µM)	4,6	17,4
5 - Topiramato (350 µM)	3,0	18,1

Tabela 19: Verificamos que o Topiramato foi a droga na qual a velocidade da DA foi menor ( maior efeito sobre esta variável), a Gabapentina foi a droga na qual a amplitude foi menor e o Levetiracetam foi a droga na qual tanto a velocidade quanto a amplitude foram maiores (menor efeito sobre estas variáveis). Estes resultados além de significativos são semelhantes aos obtidos na Fase II deste trabalho.

Gráfico 17: Comparativo – Experimentos *in vivo* (velocidade).

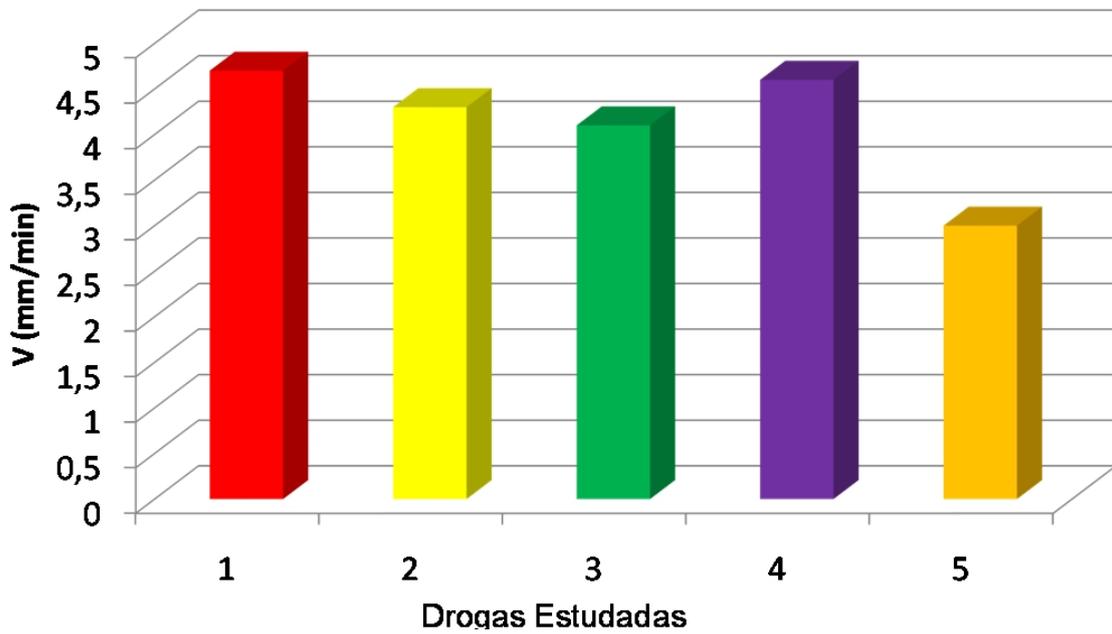


Gráfico 17: Histograma revelando os resultados descritos na tabela 19.

Gráfico 18: Comparativo – Experimentos *in vivo* (amplitude).

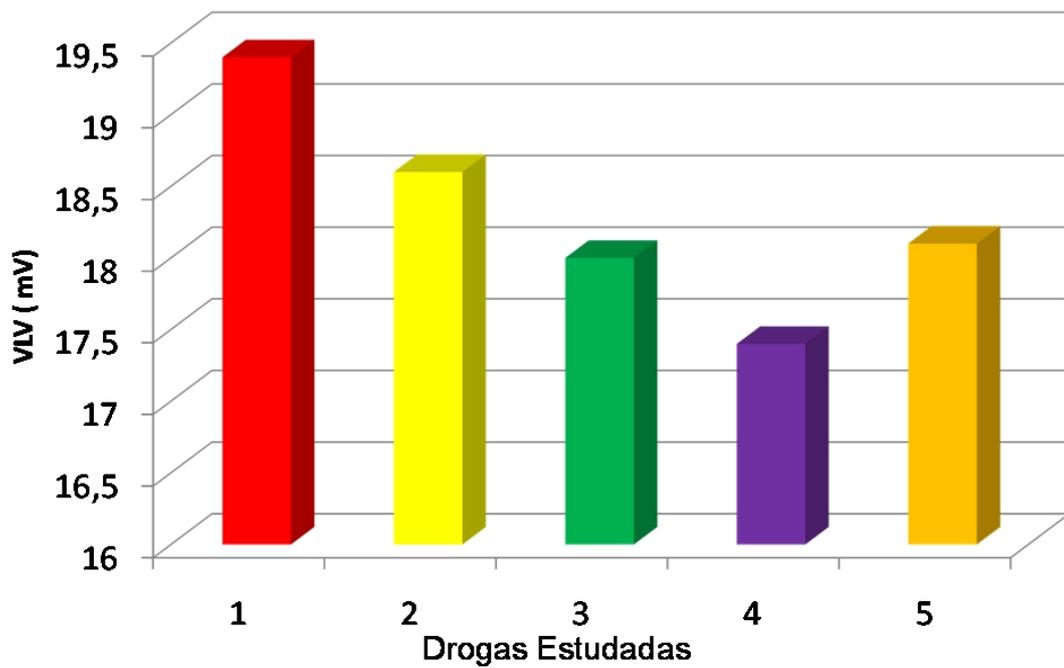


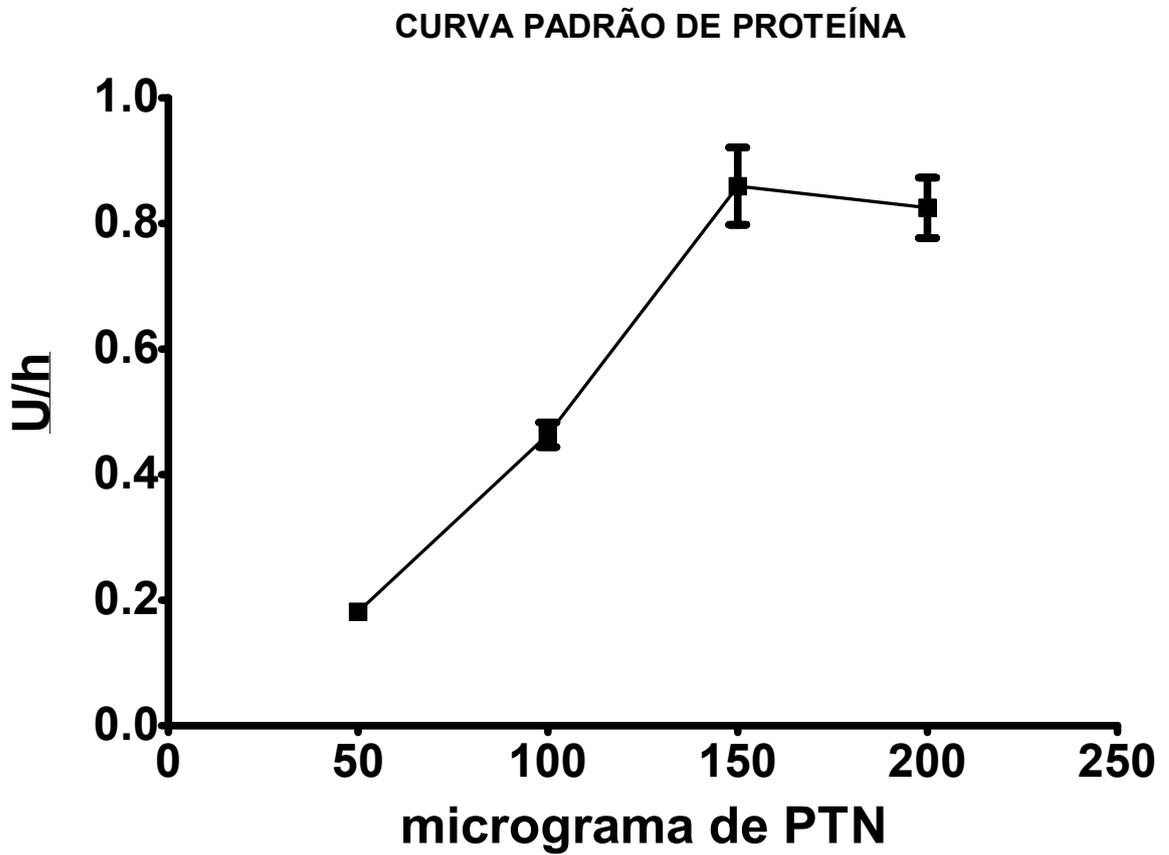
Gráfico 18: Histograma revelando os resultados descritos na tabela 19.

## 5.6: FASE VI

Nesta fase foi estudada a atividade da enzima GABA-T (transaminase do ácido  $\alpha$ -cetoglutárico) pelo método já descrito no item 3,12 ( materiais e métodos ).

A) Curva padrão de proteína:

Gráfico 19:



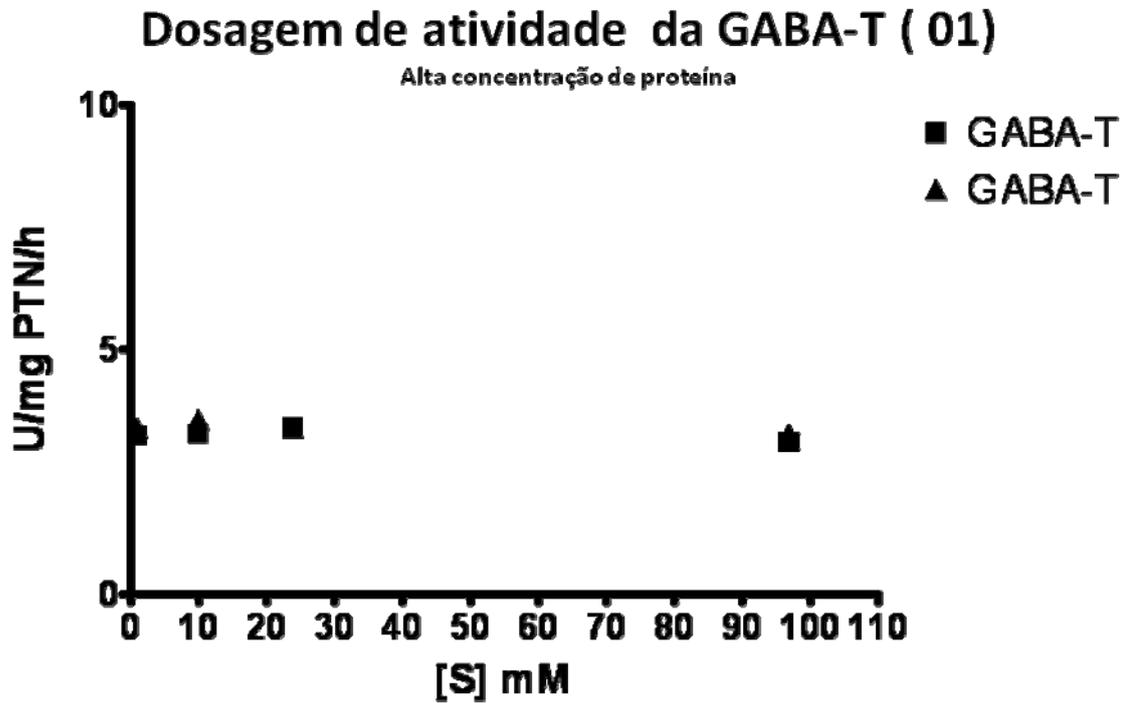
## Curva Padrão de Proteína

PTN	U/h	
50,00	0,18	0,18
100,00	0,44	0,48
150,00	0,92	0,80
200,00	0,78	0,87

Gráfico 19: Podemos observar uma linearidade no intervalo de 50 até 150 microgramas de proteína.

B) Dosagem da atividade da GABA-T de acordo com concentração média, alta, baixa e média de proteína, Escolha da faixa de trabalho ideal, Fase piloto da dosagem da atividade da enzima.

Gráfico 20:



Concentração de PTN: 0.920 mg/tubo

### Dosagem de atividade da GABA-T ( 01)

Alta concentração de proteína

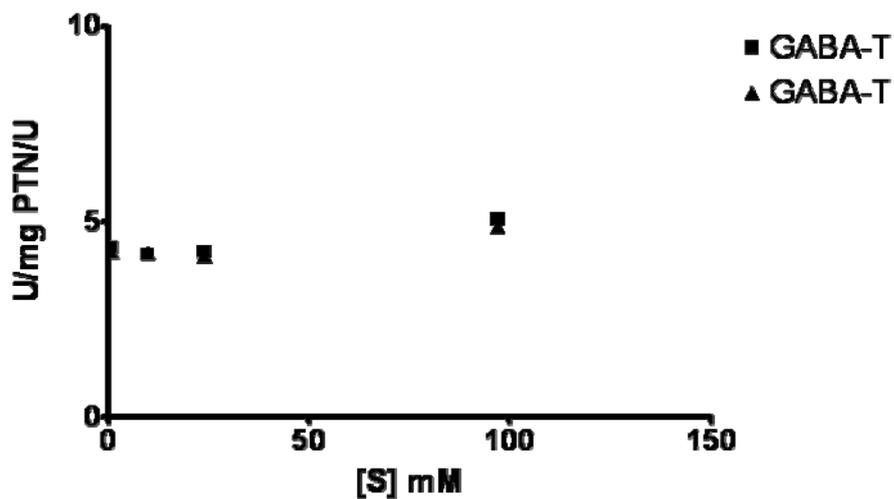
GABA	GABA-T	GABA-T
1	3,24	3,40
10	3,27	3,58
24	3,40	3,40
97	3,11	3,29

Gráfico 20: Dosagem da atividade da GABA-T, Foi utilizada uma concentração elevada de proteína (0,920mg/tubo).

Gráfico 21:

## Dosagem de atividade da GABA-T ( 02)

Baixa concentração de proteína



Concentração de PTN: 0.043 mg/tubo

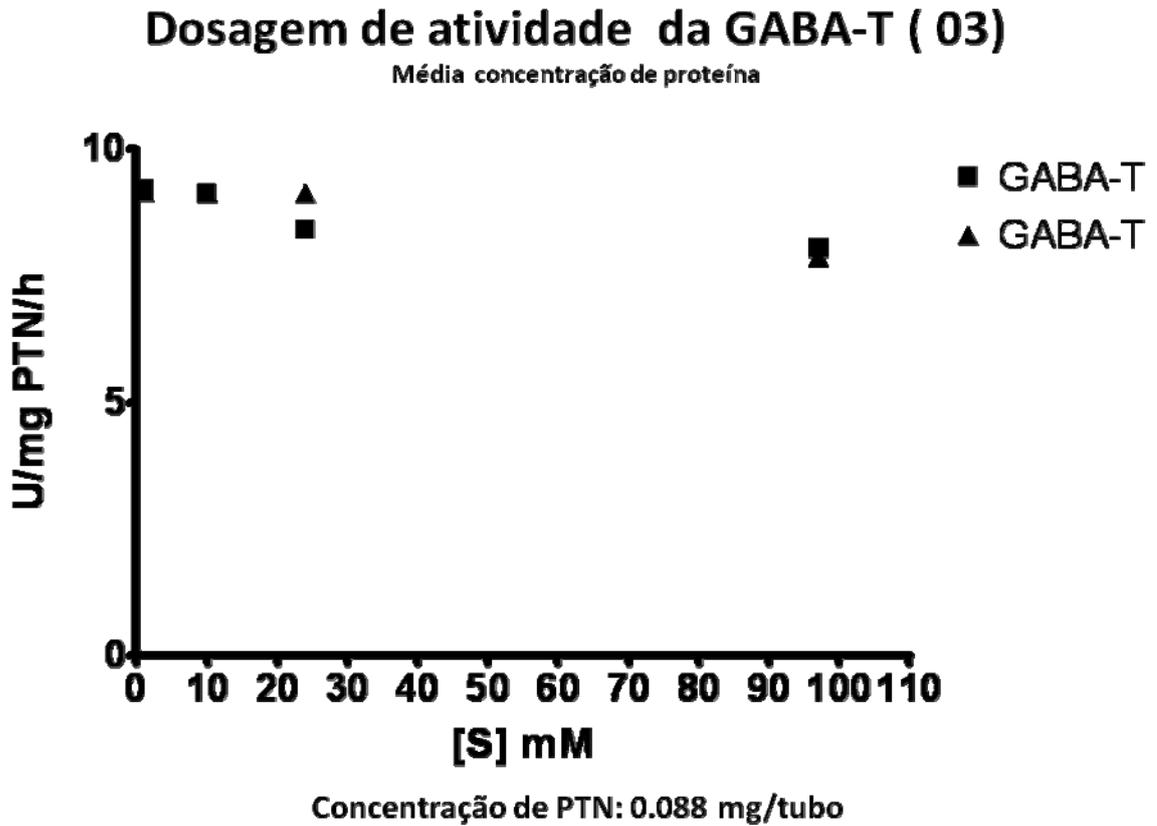
## Dosagem de atividade da GABA-T ( 02)

Baixa concentração de proteína

GABA	GABA-T	GABA-T
1	4.36	4.25
10	4.16	4.21
24	4.25	4.14
97	5.08	4.84

Gráfico 21: Dosagem da atividade da GABA-T, Foi utilizada uma concentração baixa de proteína (0,043mg/tubo).

Gráfico 22:



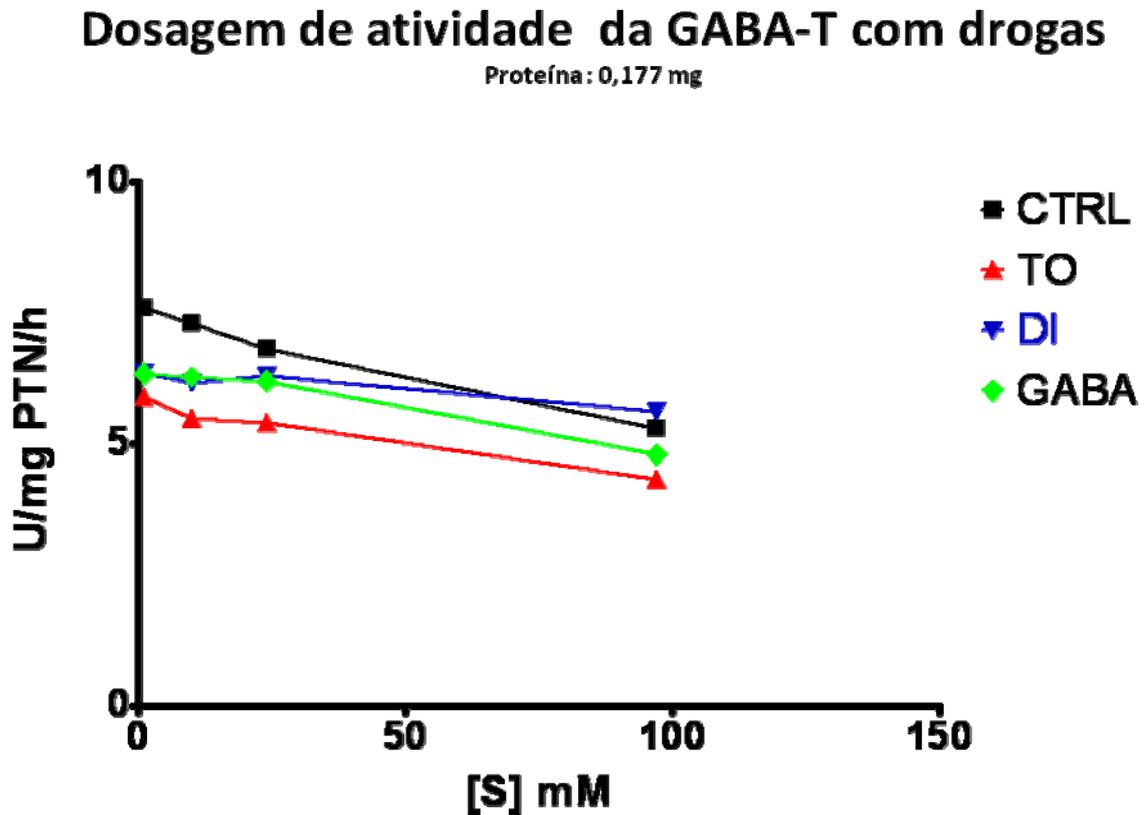
**Dosagem de atividade da GABA-T ( 03)**  
Média concentração de proteína

GABA	GABA-T	GABA-T
1	9,20	9,17
10	9,13	9,13
24	8,42	9,13
97	8,04	7,88

Gráfico 22: Dosagem da atividade da GABA-T, Foi utilizada uma concentração média de proteína (0,088mg/tubo).

C) Dosagem da GABA-T com o uso de três drogas em estudo: Topiramato, Gabapentina e Divalproato, além de controle sem o uso de droga, A faixa de proteína utilizada foi, rigorosamente, dentro da linearidade, Foram feitos seis experimentos nesta fase. As doses das drogas utilizadas nesta fase corresponderam rigorosamente à dose média efetiva observada na Fase II deste trabalho, ou seja, 350 $\mu$ M de Topiramato, 365 $\mu$ M de Gabapentina e 3,5 mM de Divalproato. Pudemos observar que, após a análise dos dados obtidos nos seis experimentos feitos com o uso das drogas Topiramato, Gabapentina e Divalproato, existe uma tendência clara para a diminuição da atividade da enzima GABA-T. Este fato sugere que, de alguma forma estas drogas agem ou diretamente ou indiretamente sobre a atividade desta enzima. Este fato foi comprovado, neste estudo, pela análise estatística feita no item D desta fase do trabalho, onde foram obtidos resultados estatisticamente relevantes com o uso dos testes estatísticos propostos (Kruskal-Wallis - one-way ANOVA - seguido do teste de Dunn para comparações múltiplas “versus” grupo controle e o teste de Friedman).

Gráfico 23:



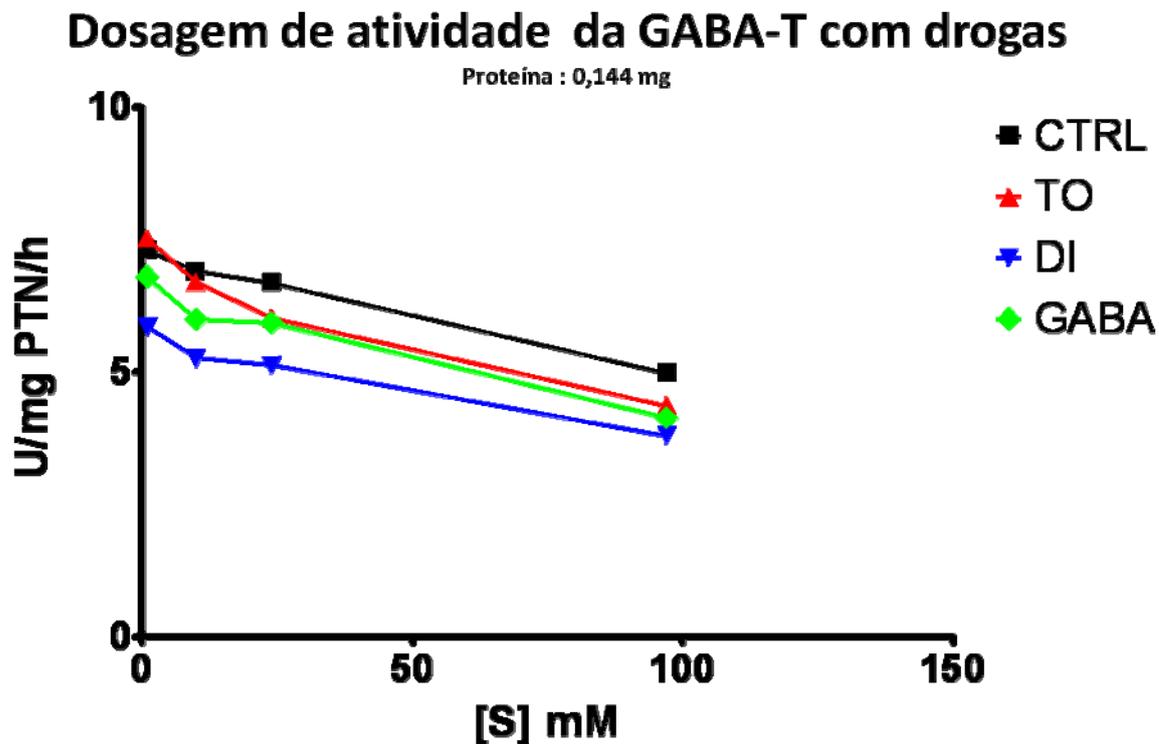
**Dosagem de atividade da GABA-T com drogas**

Proteína : 0,177 mg

	CTRL	TO	DI	GABA
1	7,60	5,88	6,35	6,33
10	7,30	5,48	6,17	6,27
24	6,80	5,40	6,30	6,20
97	5,30	4,33	5,62	4,80

Gráfico 23: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo ( Topiramato , Divalproato e Gabapentina ). Proteína de 0,177mg, (a).

Gráfico 24:



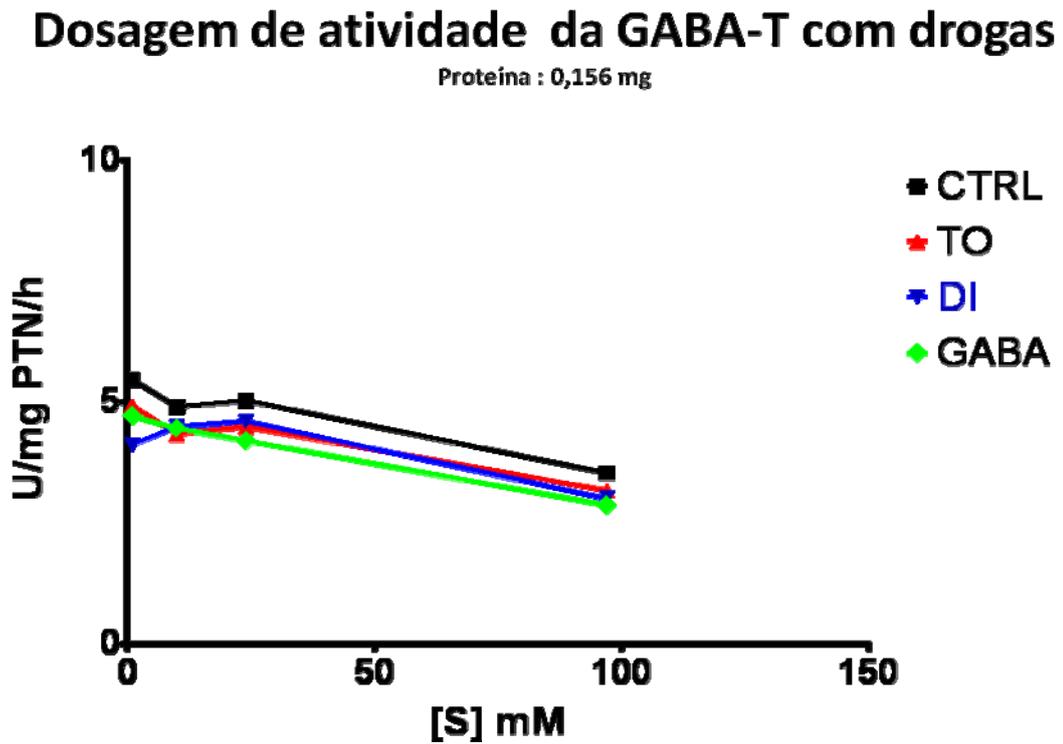
### Dosagem de atividade da GABA-T com drogas

Proteína : 0,144 mg

	CTRL	TO	DI	GABA
1	7,30	7,52	5,85	6,80
10	6,90	6,70	5,26	6,00
24	6,69	6,02	5,13	5,93
97	4,98	4,37	3,80	4,13

Gráfico 24: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo ( Topiramato . Divalproato e Gabapentina ) . Proteína de 0,144mg.

Gráfico 25:



### Dosagem de atividade da GABA-T com drogas

Proteína : 0,156 mg

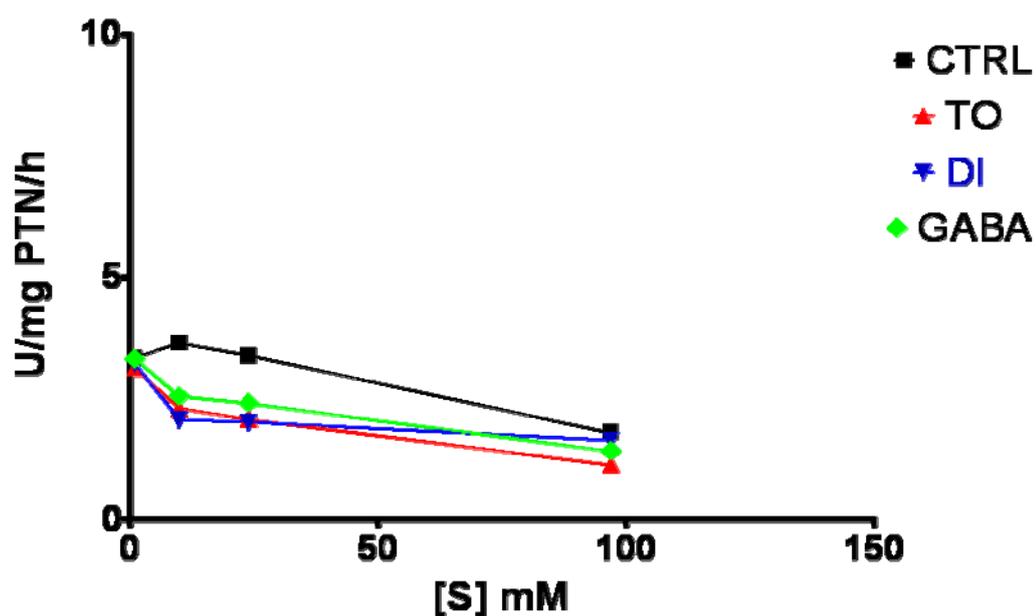
	CTRL	TO	DI	GABA
1	5,46	4,92	4,12	4,71
10	4,90	4,34	4,49	4,45
24	5,03	4,49	4,60	4,20
97	3,53	3,17	3,00	2,87

Gráfico 25: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo ( Topiramato . Divalproato e Gabapentina ) . Proteína de 0,156mg.

Gráfico 26:

### Dosagem de atividade da GABA-T com drogas

Proteína : 0,166 mg



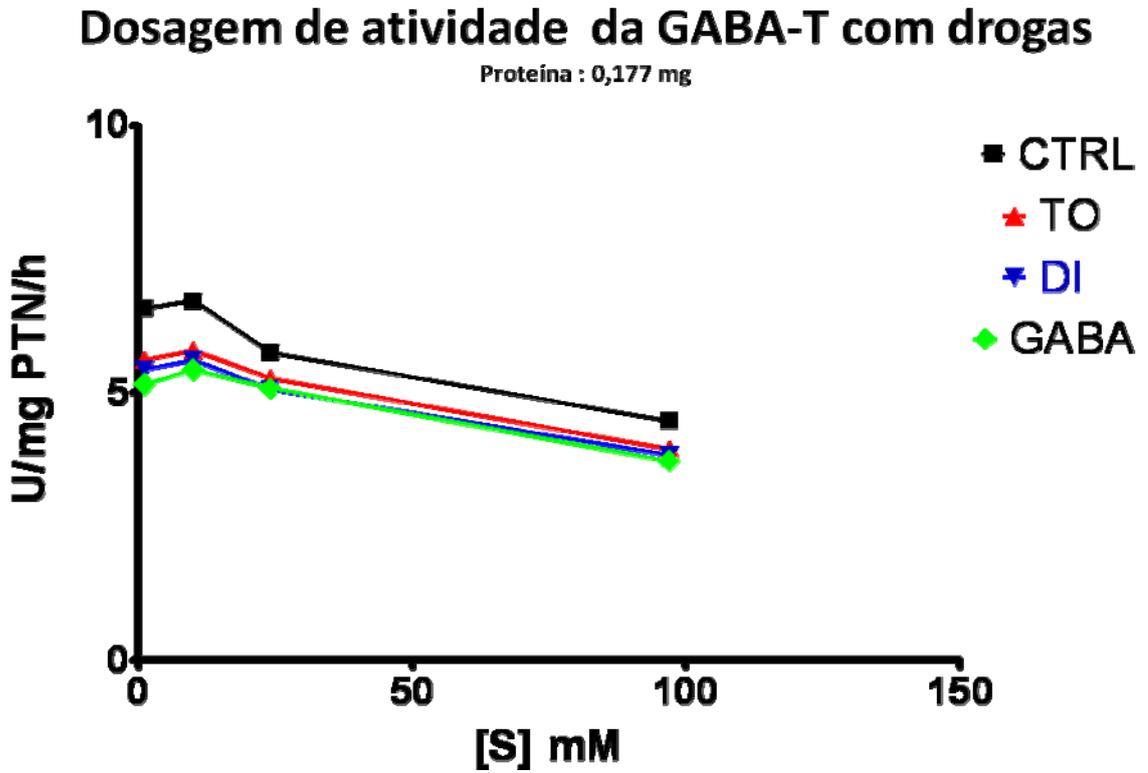
### Dosagem de atividade da GABA-T com drogas

Proteína : 0,166 mg

	CTRL	TO	DI	GABA
1	3,33	3,11	3,20	3,31
10	3,65	2,29	2,06	2,54
24	3,38	2,08	2,01	2,41
97	1,80	1,14	1,64	1,42

Gráfico 26: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo ( Topiramato . Divalproato e Gabapentina ) . Proteína de 0.166mg.

Gráfico 27:



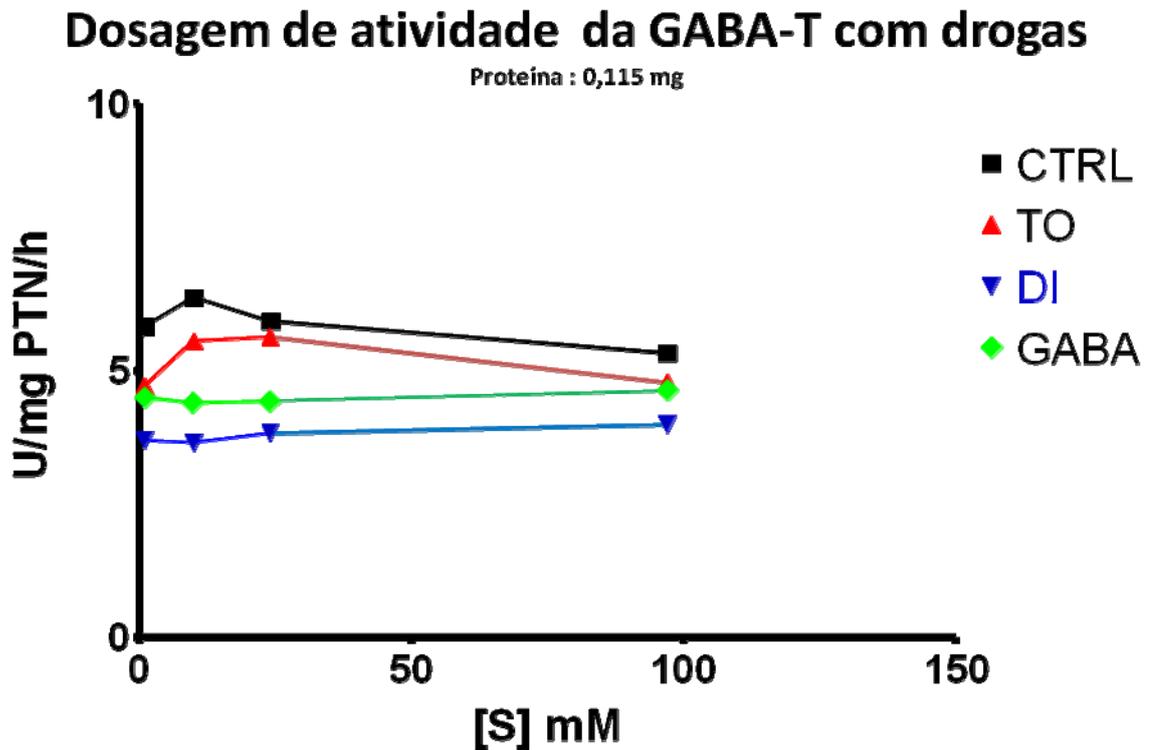
### Dosagem de atividade da GABA-T com drogas

Proteína : 0,177 mg

	CTRL	TO	DI	GABA
1	6,58	5,61	5,43	5,16
10	6,72	5,79	5,61	5,43
24	5,75	5,28	5,07	5,08
97	4,48	3,96	3,84	3,73

Gráfico 27: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo ( Topiramato , Divalproato e Gabapentina ). Proteína de 0,177mg, (b).

Gráfico 28:



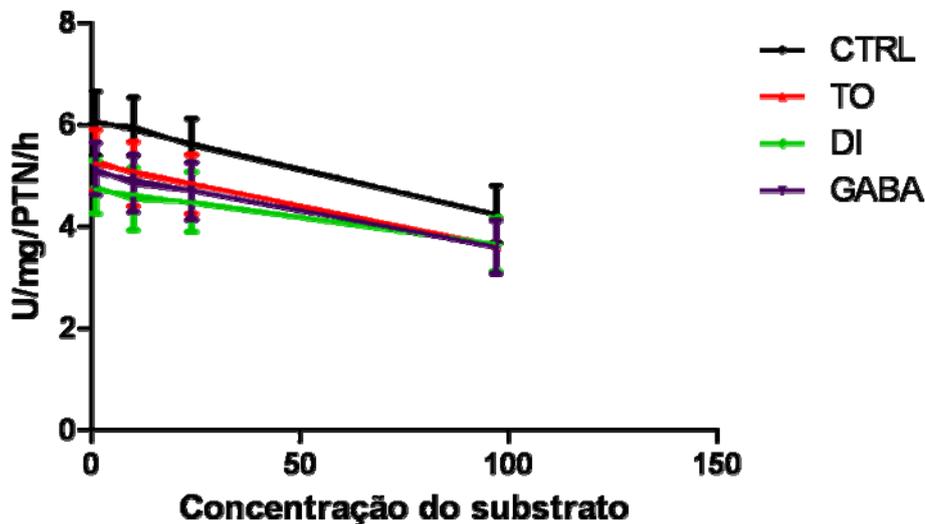
**Dosagem de atividade da GABA-T com drogas**  
Proteína : 0,115 mg

	CTRL	TO	DI	GABA
1	5,83	4,71	3,70	4,50
10	6,37	5,56	3,65	4,40
24	5,93	5,63	3,83	4,43
97	5,33	4,78	3,99	4,63

Gráfico 28: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo ( Topiramato , Divalproato e Gabapentina ). Proteína de 0,115mg.

Gráfico 29:

## Atividades da GABA-T (Curvas Comparativas)



### Atividade da GABA- T (Curvas Comparativos)

	Controle		Topiramato		Divalproato		Gabapentina	
	Média	DP +/-	Média	DP +/-	Média	DP +/-	Média	DP +/-
1	6,02	0,63	5,29	0,6	4,77	0,52	5,13	0,52
10	5,97	0,57	5,03	0,63	4,54	0,61	4,84	0,56
24	5,6	0,52	4,82	0,58	4,49	0,59	4,7	0,56
97	4,24	0,56	3,63	0,54	3,65	0,53	3,6	0,52

Gráfico 29: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo (Topiramato, Divalproato e Gabapentina). Curvas comparativas dos seis experimentos feitos e descritos acima.

D) Análise estatística dos dados da atividade da GABA-T. Foram utilizados os testes de Kruskal-Wallis - one-way ANOVA - seguido do teste de Dunn para comparações múltiplas “versus” grupo controle e o teste de Friedman. Devido a variações de causa não identificada nas faixas de resultados em alguns experimentos foi feita uma transformação considerando-se os valores controles para cada sequência de dados, dentro da mesma concentração de GABA, utilizada para a obtenção da atividade específica da GABA-T, em cada grupo de experimento, igual a 100%.

Gráfico 30:

Análise de dados para a concentração de GABA em 1mM :

Tabela com dados em percentual, 100% - controle.

CTRL	TO	DI	GA
100	77,4	83,6	83,3
100	103	80,1	93,2
100	90,1	75,5	86,3
100	94,2	97	100,3
100	85,9	82,5	78,4
100	80,6	63,5	77,2

Gráfico de Distribuição

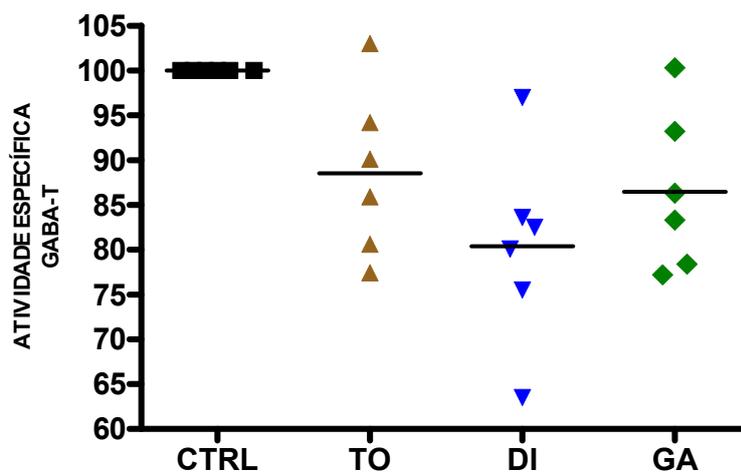


Gráfico 30: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo (Topiramato, Divalproato e Gabapentina). Gráfico de distribuição para a concentração de GABA em 1mM.

Teste de Kruskal-Wallis:

$P = 0,0212$ , aproximação gaussiana. ( $P < 0,05$ ).

Teste de Friedman:

$P = 0,0412$ , valor exato. ( $P < 0,05$ ).

Gráfico 31:

Análise de dados para a concentração de GABA em 10 mM :

Tabela com dados em percentual, 100% - controle.

CTRL	TO	DI	GA
100	75,1	84,5	85,9
100	97,1	76,2	86,9
100	88,6	91,6	90,8
100	63,7	56,4	70
100	84,8	83,5	80,8
100	88,4	57,3	69,1

Gráfico de Distribuição

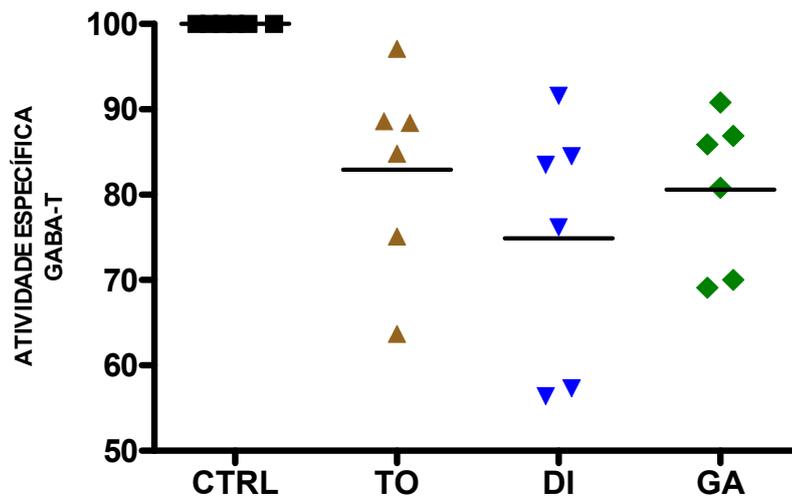


Gráfico 31: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo (Topiramato, Divalproato e Gabapentina ), Gráfico de distribuição para a concentração de GABA em 10mM.

Teste de Kruskal-Wallis:

$P = 0,0030$ , aproximação gaussiana. ( $P < 0,05$ ).

Teste de Friedman:

$P = 0,0040$ , valor exato. ( $P < 0,05$ ).

Gráfico 32:

Análise de dados para a concentração de GABA em 24 mM :

Tabela com dados em percentual, 100% - controle.

CTRL	TO	DI	GA
100	79,4	92,6	91,1
100	90	76,7	88,6
100	89,3	91,4	83,5
100	61,5	59,5	71,3
100	91,8	88,2	88,3
100	95	64,6	74,7

Gráfico de Distribuição

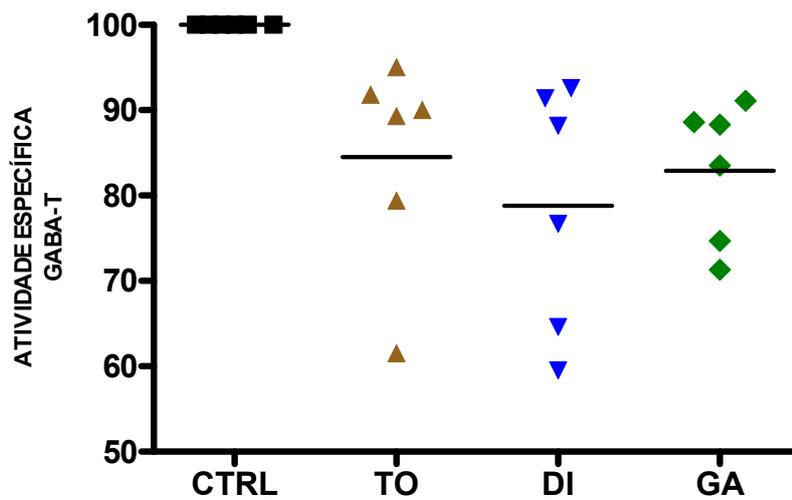


Gráfico 32: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo (Topiramato, Divalproato e Gabapentina) . Gráfico de distribuição para a concentração de GABA em 27mM.

Teste de Kruskal-Wallis:

$P = 0,0032$ , aproximação gaussiana. ( $P < 0,05$ ).

Teste de Friedman:

$P = 0,0033$ , valor exato. ( $P < 0,05$ ).

Gráfico 33:

Análise de dados para a concentração de GABA em 97 mM:

Tabela com dados em percentual, 100% - controle.

CTRL	TO	DI	GA
100	82,2	106	90,5
100	87,7	76,3	82,9
100	89,8	84,9	81,3
100	63,3	91,1	79
100	88,4	85,7	83,3
100	89,5	75	86,7

Gráfico de Distribuição

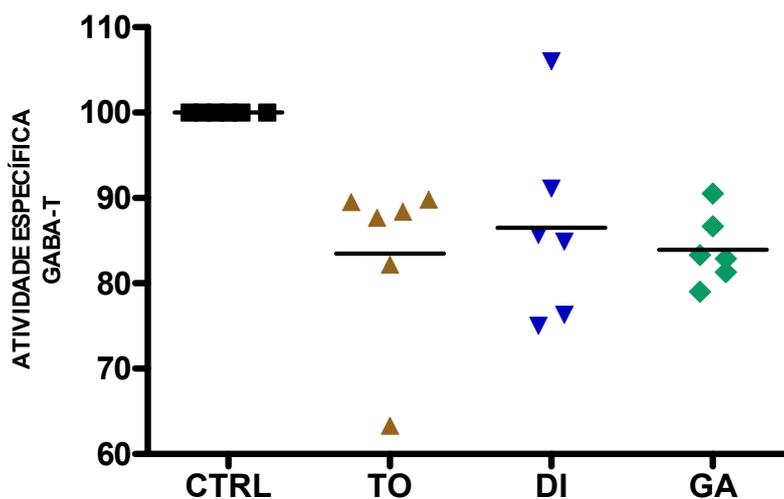


Gráfico 33: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo (Topiramato,

Divalproato e Gabapentina ). Gráfico de distribuição para a concentração de GABA em 97mM.

Teste de Kruskal-Wallis:

$P = 0,00132$ , aproximação gaussiana. ( $P < 0,05$ ).

Teste de Friedman:

$P = 0,0168$ , valor exato. ( $P < 0,05$ ).

Gráfico 34:

Análise de dados para todas as concentrações de GABA ( 1 , 10 , 24 e 97 mMs. ) :

**Tabela com dados em percentual, 100% - controle.**

<b>CTRL</b>	<b>TO</b>	<b>DI</b>	<b>GA</b>
100	77,4	83,6	83,3
100	103	80,1	93,2
100	90,1	75,5	86,3
100	94,2	97	100,3
100	85,9	82,5	78,4
100	80,6	63,5	77,2
100	75,1	84,5	85,9
100	97,1	76,2	86,9
100	88,6	91,6	90,8
100	63,7	56,4	70
100	84,8	83,5	80,8
100	88,4	57,3	69,1
100	79,4	92,6	91,1
100	90	76,7	88,6
100	89,3	91,4	83,5
100	61,5	59,5	71,3
100	91,8	88,2	88,3
100	95	64,6	74,7
100	82	106	90,5
100	87,7	76,3	82,9
100	89,8	84,9	81,3
100	63,3	91,1	79
100	88,4	85,7	83,3
100	89,5	75	86,7

**Gráfico de Distribuição**

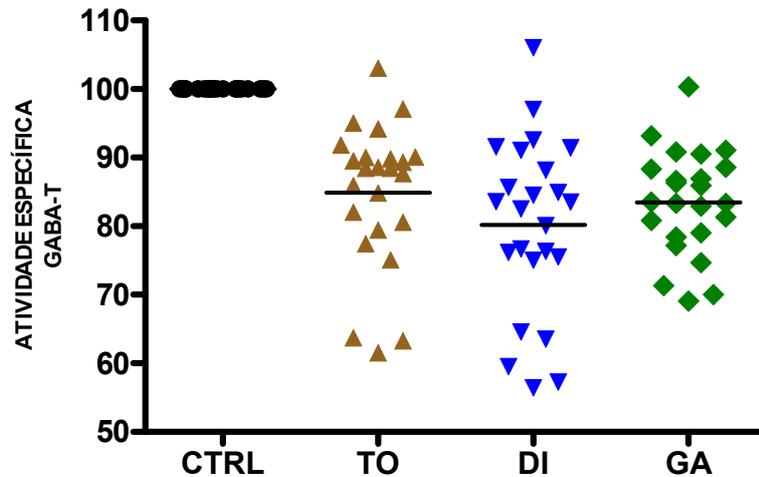


Gráfico 34: Dosagem da atividade da GABA-T com três drogas em estudo (Topiramato , Divalproato e Gabapentina ). Gráfico de distribuição para todas as concentração de GABA estudadas.

**Teste de Kruskal-Wallis:**

**$P < 0, 0001$ , aproximação gaussiana. ( $P < 0,05$ ).**

**Teste para comparação múltipla de Dunn's:**

**CTRL X TO: 38, 75 ( $P < 0, 05$ ).**

**CTRL X DI : 48, 58 ( $P < 0, 05$ ).**

**CTRL X GABAP: 44, 67 ( $P < 0, 05$ ).**

**Teste de Friedman:**

**$P < 0, 0001$ , aproximação gaussiana. ( $P < 0,05$ ).**

**Teste para comparação múltipla de Dunn's:**

**CTRL X TO: 37, 00 ( $P < 0, 05$ ).**

**CTRL X DI : 50, 00 ( $P < 0, 05$ ).**

**CTRL X GABAP: 45, 00 ( $P < 0, 05$ ).**

## VI. DISCUSSÃO

Este trabalho sugere basicamente que no modelo estudado e em concentrações clinicamente efetivas, drogas antiepilépticas com um mecanismo de ação preferencialmente modulador de fenômenos GABAérgicos (MGF) (Wiedemann e cols. 1996; Calabresi e cols. 2007), que têm sido utilizadas para o tratamento crônico da migrânea, podem interferir no fenômeno de Leão, de forma concentração-dependente. Esta interferência pode levar a uma diminuição não só da velocidade de propagação da DA, mas, também de sua amplitude, limiar de deflagração e período refratário absoluto.

A migrânea é uma desordem hereditária multifatorial que, no cérebro, envolve uma disfunção das estruturas subcorticiais que modulam estímulos sensitivos aferentes. Atualmente, a migrânea não é explicada só por um mecanismo vascular, mas, também, por uma canalopatia heterogênea relacionada a alguns íons, resultando no fenômeno de depressão alastrante. O desenvolvimento de drogas que venham a proporcionar uma redução dos estados de hipersensibilidade cortical (ação sobre canais iônicos) parece ser um bom caminho para o tratamento profilático e até agudo da migrânea. Baseado neste ponto de vista, o uso de drogas GABAérgicas foi aprovado para o tratamento profilático da migrânea a partir de 2003 (Puppe & Limmroth, 2007).

O mecanismo de ação das drogas que agem na prevenção da migrânea são muitos, porém postula-se que estes venham a convergir em dois alvos: inibição da excitação cortical e controle sobre a desmodulação nociceptiva. Parece que a falta de uma modulação correta do sistema de inibição GABAérgico, em algumas áreas do cérebro vem a ter um papel fundamental para a patogênese da doença (Calabresi e cols, 2007). As drogas antiepilépticas MGF, principalmente o Topiramato, Divalproato, Gabapentina, Levetiracetan e Lamotrigina, os quais agem como inibidores da Onda de Leão, são exemplos evidentes de drogas que reduzem

a hiperexcitabilidade cortical, Por outro lado, moduladores do sistema colinérgico e serotoninérgico parecem ter, também, algum papel para a prevenção da migrânea uma vez que podem restaurar a inibição nociceptiva descendente (Ramadan, 2007).

Existe uma série de trabalhos experimentais que, utilizando modelos *in vivo*, mostram a eficácia de drogas MGF para a inibição da depressão alastrante e consequente profilaxia da migrânea (Sanchez-Del-Rio e cols., 2006; Akerman & Goadsby, 2005). Segundo Ayata e cols. (2006), a administração crônica diária destas drogas, em dose dependente, diminui a frequência de DAs corticais de 40 a 80%, além de aumentar o limiar de estimulação para a obtenção destas. Este trabalho demonstra, fundamentalmente, que, no modelo desenvolvido por Martins-Ferreira e colaboradores, drogas MGF podem vir a bloquear a DA de forma concentração dependente, mesmo numa estrutura avascular.

Em virtude de uma conexão putativa entre a DA e a migrânea (Leão, 1944a), estudos prévios utilizaram o modelo de retina isolada de pinto para avaliar o efeito de uma droga anti epiléptica clássica, difenilhidantoína (DFH), sobre a depressão alastrante induzida por estímulo mecânico e/ou químico (Chebabo & Do Carmo, 1991). Observou-se, no estudo, que a DFH não só aumenta o limiar de concentração do  $KCl$  para a deflagração do fenômeno como, também, diminui a velocidade de propagação da DA. Não foi feito, entretanto, uma associação entre o observado e a profilaxia da migrânea, talvez pelo fato de que, até hoje, não saibamos o correto mecanismo de ação da DFH. Em verdade, a literatura não faz nenhuma referência ao uso profilático da DFH na migrânea, embora várias drogas usadas nesta profilaxia sejam anti epilépticos.

Martins-Ferreira e Ribeiro efetuaram experiências preliminares de aplicação tópica no córtex cerebral de coelhos (1 mM) e injeção endovenosa (6 mM) de Sumatriptan, uma droga usada clinicamente como “abortiva” na fase aguda migrânea. Com essa metodologia não houve nem bloqueio, nem redução da velocidade da VLV. Entretanto, o bloqueio da DA era obti-

do com Sumatriptan, Serotonina e/ou Ergotamina, na faixa de 0,5 – 5,0 mM, em retina isolada de pinto (Maranhão-Filho, 1997). Por outro lado, Wiedemann e cols, (1996), obtiveram resultados semelhantes com o Sumatriptan, mas, não com a Ergotamina.

Em 1993, Martins-Ferreira e cols, além de verificar a ação de diversos bloqueadores de canais, compararam a redução de velocidade provocada pela Serotonina e pelo Sumatriptan. Foi concluído que a Serotonina na concentração de 3 mM causava uma redução drástica da velocidade de propagação da DA, seguindo-se a um bloqueio total da DA circulante, enquanto o Sumatriptan, na mesma concentração, mostrou-se mais efetivo em bloquear a DA em 2-5 min.

Em 2005, Akerman e Goadsby, estudaram o efeito do Topiramato sobre a DA em córtex de rato e gato e constataram que a droga, na dose de 30 mg/Kg, pode inibir a DA em 90% dos animais estudados. Margineanu e Klitgaard, em 2009, também estudando modelos de córtex de rato, obtiveram resultados significativos no que diz respeito à inibição da DA com o uso de Brivaracetam (ucb-34714), droga experimental com altíssima afinidade de ligação para a proteína sináptica SV2A e parente próximo, porém mais potente, do Levetiracetan. Este trabalho apresenta resultados mais completos do que os descritos acima visto que, neste foram utilizadas dosagens “clínicas” de drogas MGF utilizadas para o tratamento profilático da migração. Além deste fato, o modelo utilizado no trabalho (retinas de pinto) parece ser mais reprodutível do que os utilizados naqueles trabalhos visto que, a retina de pinto é uma estrutura avascular, vindo a permitir a ocorrência de um “efeito neural – sobre neurônios e/ou glia -” das drogas em estudo.

Ademais, todos os nossos resultados com as drogas testadas, tanto nos modelos *in vitro* quanto nos modelos *in vivo*, foram efetivos, independente da passagem da droga pela barreira hemato-encefálica e/ou barreira hemato-retineana, neste caso não desconsiderada.

Verificamos, inicialmente, após finalização da Fase II do trabalho que todas as drogas interagem, de alguma forma, com o fenômeno descrito, dentro do contexto experimental proposto (retina isolada de pinto). Há diminuição, em proporções diferentes, tanto da velocidade de propagação da DA como da amplitude da DA, após estímulo mecânico, em todas as preparações em função do efeito das drogas propostas. Este fato reforça o conceito de que a transmissão Gabaérgica, além de ser um fenômeno relevante para Depressão Alastrante (tanto geração quanto propagação) é relevante para a fisiopatologia da migrânea,

### **6.1: Efeito sobre a velocidade de propagação.**

Os resultados experimentais iniciais parecem estar em comum acordo com a literatura médica revista (profilaxia da migrânea). A droga que, segundo os experimentos feitos neste trabalho, apresenta o melhor resultado no contexto da diminuição da velocidade de propagação da DA é o Topiramato (diminuição de 67,9% na velocidade de propagação). Este fato, além de ser relevante, está de acordo com a maioria dos trabalhos descritos na literatura médica.

Recentemente, o Topiramato foi considerado pela European Neurological Society a droga de escolha, dentro do grupo dos antiepilépticos, para o tratamento profilático da migrânea. A segunda droga com melhor desempenho neste estudo é o Divalproato (diminuição de 47,1% na velocidade de propagação), fato este que também está de acordo com os principais estudos revistos. Hoje o Divalproato é a segunda droga mais utilizada na Europa, dentro do grupo de drogas antiepilépticas, para a profilaxia da migrânea e a primeira opção, dentro deste grupo, nos EUA. A Gabapentina apresentou uma redução de 35,6% na velocidade de propagação da DA; este fato revela um resultado parcial apenas razoável para a droga em questão. A revisão de literatura para a Gabapentina nos revela que esta droga foi conside-

rada, no final da última década, bastante promissora para a profilaxia da migrânea. No entanto, os principais estudos clínicos feitos na época não apresentaram resultados animadores, fato este que, somado aos vários efeitos colaterais da droga, foi de relevância para a colocação desta droga em segundo plano, no contexto da prevenção da migrânea com o uso de drogas antiepilépticas.

Neste estudo experimental, a Lamotrigina apresentou uma redução de 41,2% na velocidade de propagação da DA fato este que, além de estar coerente com a literatura médica, é bastante animador visto que, estamos lidando com uma droga nova. A Lamotrigina tem sido foco de importantes estudos clínicos nos últimos cinco anos, todos com resultados animadores. Várias propostas terapêuticas têm surgido para o uso desta droga em protocolos de prevenção da migrânea na Europa; entretanto, por se tratar de uma droga relativamente nova, novos estudos devem ser desenvolvidos. Neste trabalho experimental, o Levetiracetam apresentou uma diminuição de 21,6% na velocidade da DA fato considerado pouco animador e coerente com a pouca literatura médica existente. O Levetiracetam, droga anda mais nova que a Lamotrigina, vem sendo alvo de alguns estudos clínicos isolados para a profilaxia da migrânea, em função de seu mecanismo de ação inovador, e de seus resultados positivos no contexto do controle de quadros epilépticos complexos. Os resultados destes ensaios têm sido pouco animadores, porém, ainda fazem-se necessários mais estudos clínicos (com nível de significância maior) para uma completa avaliação do potencial desta droga para a profilaxia da migrânea. Chamamos a atenção, porém, para o fato de que o Brivaracetam (ucb-34714), análogo experimental mais potente que o Levetiracetam, parece ter efeito mais eficaz sobre a DA do que este último (Margineanu e Klitgaard, 2009).

### **6.2: Efeito sobre a amplitude.**

Todas as drogas estudadas apresentaram, em proporções variadas, uma diminuição da amplitude do DC. A droga que apresentou maior diminuição percentual desta variável em mV foi a Gabapentina (28,4%). O Topiramato apesar de apresentar a maior diminuição percentual da velocidade de propagação, apresentou apenas uma redução de 22,1% na amplitude do DC. Acreditamos que seja importante, no contexto experimental, verificarmos uma diminuição na amplitude do DC quando estudamos drogas que modulam o fenômeno de Leão. Porém, novos estudos devem ser desenvolvidos nesta área visto que ainda não dominamos, na totalidade, os fenômenos bioquímicos e fisiológicos envolvidos nas “fases” da chamada Onda de Leão.

Finalmente, gostaríamos de enfatizar que todos os resultados obtidos nesta fase do estudo foram reversíveis com o tempo. Em todos os experimentos feitos, após chegarmos à dose máxima proposta para cada droga, houve aumento da velocidade e da amplitude do DC quando a retina (corte de) voltou a ser lavada apenas com Ringer, após a retirada de cada droga em estudo do banho.

### **6.3: Efeito sobre o limiar de deflagração.**

Na fase III deste trabalho, o limiar de deflagração da DA em relação a um estímulo químico feito com concentrações altas de  $KCl^+$ , em mM, foi aferido baseado no modelo proposto por Martins-Ferreira (Martins-Ferreira e cols, 1993). A partir da concentração de 8 mM, o estímulo químico foi aumentado de forma progressiva, até a aferição da concentração limite para a deflagração da DA, em relação a cada droga em estudo. A análise dos resultados obtidos nesta fase nos mostra que o limiar de deflagração obtido com maior concentração de

KCl<sup>-</sup> ocorreu com o Topiramato, com a concentração de KCl<sup>-</sup> em 19 mM, Este fato está coerente com os resultados obtidos até então e, também, com a literatura revista, Podemos, de forma direta, afirmar que, dentre as cinco drogas em estudo, o Topiramato mostrou-se ser a mais potente em bloquear ou diminuir a DA.

A Gabapentina apresentou um limiar de deflagração em 18 mM de KCl<sup>-</sup>, fato este que também pode ser considerado efetivo visto que, a droga em questão tem mostrado resultados em muitos experimentos, porém, tem estado em segundo plano em relação ao Topiramato e Divalproato. O Divalproato apresentou, por sua vez, um limiar de deflagração em 16mM, limiar que o coloca em uma posição intermediária em relação às drogas em estudo, A droga que apresentou limiar de deflagração mais baixo foi o Levetiracetam, droga esta que não tem mostrado resultados animadores, dentre as drogas antiepiléticas, para a profilaxia da migrânea. Talvez seja de relevância o estudo de seu análogo mais potente, o Brivaracetam (ucb-34714),

Não podemos deixar de chamar a atenção para o fato de que, nesta fase do trabalho, as concentrações das drogas em estudo, utilizadas nos experimentos, representaram a mediana das concentrações farmacológicas estudadas na fase II bem como, uma concentração 1,5 maior que esta mediana.

#### **6.4: Efeito sobre o período refratário absoluto.**

Na fase IV do trabalho foi aferido o período refratário absoluto, por droga em estudo, em unidades de tempo, em relação a um estímulo mecânico efetivo para a deflagração da DA. Nesta fase, também, o Topiramato mostrou ser a droga mais potente em relação às outras em estudo. O período refratário absoluto para o Topiramato foi de 5 minutos e trinta e sete segundos, seguido pelo obtido para o Divalproato em 4 minutos e vinte e seis segundos.

O menor período refratário aferido foi o do Levetiracetam, em 3 minutos e vinte e seis segundos, Estes resultados estão de acordo com a literatura revista e com os achados da fase II e III deste trabalho.

### **6.5: Experiências *in vivo*.**

Nas experiências *in vivo*, nas quais foram utilizadas concentrações farmacológicas das drogas em estudo, ou seja, a mediana das concentrações utilizadas nos experimentos da fase I. Verificamos que houve, em todas as drogas em estudo, alterações, mesmo que mínimas, na velocidade e amplitude da DA obtida da retina dos animais, após tratamento com as mesmas por 15 dias e sacrifício por decapitação. Novamente, nesta fase a droga que se mostrou mais efetiva foi o Topiramato (velocidade aferida em 3,0 mM/min. e amplitude da VLV, aferida em 18,1 mV), seguida pelo Divalproato (velocidade aferida em 4,1mM/min. e amplitude da VLV, aferida em 18 mV). A droga que se mostrou menos efetiva foi, novamente, o Levetiracetam (velocidade aferida em 4,7 mm/min. e amplitude da VLV, aferida em 19,4mV). Estes achados estão rigorosamente de acordo com os achados de literatura e das fases I, II e III do trabalho em questão. É importante ressaltarmos que, todas as drogas, em concentrações fisiológicas, ultrapassaram a barreira hemato-encefálica e propiciaram algum efeito sobre a DA, nos animais estudados; este fato está, também, de acordo com a literatura visto que, todas as drogas em estudo parecem ser por mecanismos MGF e, possivelmente, outros, mais ou menos efetivas para a profilaxia da migrânea. Este fato parece não acontecer para o Sumatriptan visto que, em experimento semelhante ao deste trabalho, Maranhão-Filho (1997) verificou que a dose necessária desta droga, em concentração efetiva, para que seja obtido algum efeito sobre a Onda de Leão, deveria ser na ordem de 100g/Kg, dose esta extremamente elevada e tóxica para ser utilizada *in vivo*.

## 6.6: Atividade da GABA-T.

Na fase VI deste trabalho optamos pela dosagem da atividade da GABA-T, seguindo o protocolo de Nascimento e cols., (2007), para a aferição da atividade desta enzima. Neste trabalho, utilizamos a retina de pinto sem o uso das drogas em questão e sem estímulo mecânico para a eliciação da DA e retinas de pinto com três drogas em estudo (Topiramato, Gabapentina e Divalproato) e sem as drogas em estudo (controle), com eliciação da DA por estímulo mecânico (alfinete de tungstênio). O importante desta fase foi a verificação de que a atividade da GABA-T, dentro de concentrações de proteínas na faixa de linearidade da curva padrão de proteína, em todos os seis experimentos, com o uso das três drogas em estudo, veio a diminuir, em relação ao controle, de forma significativa ( $P < 0,05$  – Kruskal-Wallis e Friedman); fato este que claramente revela uma tendência em relação a atividade da GABA-T. No entanto, em todos os experimentos, o declínio da atividade da GABA-T foi muito pequeno em relação ao observado com o uso da Vigabatrina - droga anticonvulsivante que age bloqueando a GABA-T (Graeme, 2003; Nascimento e cols., 2007). Este fato sugere que a inibição da GABA-T, não parece ser nem o único nem o principal mecanismo através do qual os efeitos eletro-fisiológicos se manifestam. As drogas antiepilépticas/antimigranosas que foram estudadas parecem não agir de forma exclusiva sobre a inibição da atividade da GABA-T. Outro aspecto que não podemos deixar de focar é o fato de que a GABA-T parece apresentar um mecanismo diferente de inativação na retina em relação ao observado no cérebro; fato este que propicia um aumento “limitado” da concentração de GABA na retina em relação ao observado no cérebro (Rando e cols., 1982).

No cerebelo, os valores da reação enzimática da GABA transaminase, em unidades, são por volta de 200U/mgPTN/H (Nascimento e cols., 2007). Na retina os valores encontrados neste estudo se encontram por volta de 5 a 6 U/mgPTN/H, ou seja, 30 a 40 vezes

menor em relação ao encontrado naquele órgão. Essa diferença poderia estar relacionada a particularidades da retina, ou seja: se a expressão é neuronal ou glial, se muda com o desenvolvimento, se é afetada pelo ambiente, em especial pela luz, se é afetada por hormônios e/ou fatores extracelulares e se é modulada pelo próprio GABA.

### **6.7: Liberação de GABA durante a DA.**

A liberação de GABA e ACh durante a DA é reproduzível, assim como as variações de voltagem, potássio, cloreto e movimentos de água (Martins-Ferreira & Oliveira Castro, 1966; Nicholson & Kraig, 1981; Do Carmo & Martins-Ferreira, 1984). A diminuição de cálcio para 0,5 mM e o aumento de magnésio para 2,0-4,0 mM, no meio extracelular, diminui tanto o fenômeno de “light-scattering” como o aumento da concentração de potássio e a liberação de GABA e ACh durante a DA. Este fenômeno, além de sugerir que pelo menos, em parte, o mecanismo de liberação de GABA e ACh durante a DA, seja proveniente de mecanismos sinápticos. Apesar deste fato, ainda não é possível que seja estabelecido se a liberação de GABA e ACh são essenciais para a ocorrência do fenômeno ou se ocorre de forma concomitante com este (Rodrigues e cols., 1988). Sabe-se, porém, que o GABA em concentrações muito altas e antifisiológicas (em torno de 3,0 mM) pode vir a bloquear a DA na retina por curto período de tempo (Rodrigues e cols., 1988). Em 1987, Rodrigues e cols, demonstraram que o uso de eserine (agonista colinérgico) é capaz de diminuir a liberação de GABA durante a DA. Este dado sugere que, na DA, em diferentes regiões do SNC, ao menos em parte, exista uma influência direta de mecanismos conjugados entre pelo menos dois neurotransmissores, em especial na retina (Rodrigues e cols., 1988).

Finalmente, chamamos a atenção para o fato de que o foco principal deste trabalho foi o estudo da depressão alastrante e o efeito de drogas GABAérgicas utilizadas na profilaxia da

migrânea sobre esta, e não o estudo do efeito destes compostos sobre a cinética da GABA-T. É sugestão para experimentos futuros a avaliação do efeito destes compostos mais a Vigabatrina e o Brivaracetam, em função da cinética desta enzima. Nesta ocasião deverão ser feitas curvas com mais pontos e com concentrações mais altas dos compostos, fato este que seria desejável para que se obtenha uma análise mais segura da cinética da GABA-T. Acreditamos que no contexto desta dissertação, a obtenção de uma correlação entre o efeito dos compostos sobre a cinética da enzima, mesmo que seja uma tendência, seja enriquecedora.

## VII. CONCLUSÕES

1. **As drogas antiepilépticas e/ou antimigranosas, com mecanismo de ação modulatório sobre a transmissão GABAérgica, ou seja, drogas GABAérgicas, como o Topiramato, Gabapentina, Divalproato, Lamotrigina e Levetiracetam reduzem de forma reversível a velocidade da DA em mm/min. e a amplitude da DA em mV em retinas isoladas de pinto, submetidas a estímulo mecânico, de modo concentração-dependente.**
2. **Topiramato, Gabapentina, Divalproato, Lamotrigina e Levetiracetam aumentam de forma reversível, tanto o limiar de deflagração para a DA quanto o período refratário da DA, em unidades de tempo, em retinas isoladas de pintos submetidas, respectivamente, a estímulos químicos com KCl- em concentrações específicas, e estímulos mecânicos, de modo concentração-dependente.**
3. **O Topiramato é a droga mais efetiva, das que foram estudadas, no que diz respeito à diminuição da velocidade, aumento do período refratário absoluto e limiar de deflagração, em retinas isoladas de pinto, de forma reversível e de modo concentração-dependente.**
4. **O Levetiracetam é a droga menos efetiva, das que foram estudadas, no que diz respeito à diminuição da velocidade, aumento do período refratário absoluto e limiar de deflagração, em retinas isoladas de pinto, de forma reversível e de modo concentração-dependente.**
5. **Todas as drogas estudadas (Topiramato, Gabapentina, Divalproato, Lamotrigina e Levetiracetam) parecem atravessar *in vivo* a barreira hemato-retineana.**
6. **O Topiramato é a droga mais efetiva *in vivo*, das que foram estudadas, no que diz respeito à diminuição da velocidade.**

7. **O Levetiracetam é a droga menos efetiva *in vivo*, das que foram estudadas, no que diz respeito à diminuição da velocidade e amplitude da DA.**
8. **Tanto o Topiramato quanto a Gabapentina e o Divalproato diminuem a atividade da Enzima GABA-T no modelo experimental em estudo, de forma modesta e possivelmente pouco relevante em termos funcionais, sugerindo que a inibição da GABA-T não seja nem o único, nem o principal mecanismo através do qual os efeitos eletro-fisiológicos das drogas estudadas se manifestam.**
9. **O estudo em questão sugere que drogas antiepilépticas com ação sobre a transmissão GABAérgica, em especial o Topiramato, interferir com a deflagração e propagação da depressão alastrante.**

## VIII. PERSPECTIVAS FUTURAS

I - A Vigabatrina, droga anticonvulsivante utilizada em crianças em associação com outras drogas para o controle de síndromes epiléticas complexas, não é utilizada na prática clínica como profilático para a migrânea (não existe qualquer referência na literatura para esta utilização da droga em questão), porém, o seu mecanismo de ação está baseado na modulação da transmissão GABAérgica visto que esta droga inibe *in vitro* a GABA-T, de forma irreversível (Willmore e cols., 2009). Baseado nesta assertiva e nos dados desta Tese propomos uma série de experimentos semelhantes aos realizados, com esta droga (fases II, III, IV, V e VI).

II - O Brivaracetam (ucb-34714), droga experimental com altíssima afinidade de ligação para a proteína sináptica SV2A e parente próximo, porém mais potente, do Levetiracetam tem se mostrado um fármaco promissor não só para o controle de crises convulsivas complexas, mas, também, em tese, para a profilaxia da migrânea (Matagne e cols., 2008). Em função deste fato, podemos propor uma série de experimentos semelhantes aos realizados, com esta droga (fases II, III, IV, V e VI).

III – Neste estudo foram utilizadas drogas presentes no mercado e a disposição da população em geral. Em função deste fato, propomos uma série de experimentos semelhantes aos realizados nas fases II, III, IV, V e VI, comparando-se as drogas disponíveis para a população com as mesmas drogas, obtidas de forma pura junto aos laboratórios responsáveis por sua fabricação.

IV – Baseado nos achados da fase VI desta Tese, propomos uma análise cinética mais completa da atividade da GABA-T com o uso das drogas estudadas nesta dissertação, acrescidas da Vigabatrina e do Brivacetam.

V – Podemos extrapolar o trabalho feito na fase V desta dissertação para novas experiências a serem realizadas, também, *in vivo*, com o uso das drogas em questão, Neste caso poderemos utilizar galos e/ou galinhas, desta vez em fase adulta que viriam a ser tratados, também por 15 dias, de forma diária, com dose média dos fármacos estudados. Após 15 dias, os animais em questão seriam estudados, sob anestesia, com o uso de lentes acopladas em seus globos oculares, uma filmadora de alta resolução deverá ser utilizada em conjunto com o sistema óptico descrito. Um estímulo com alfinete de tungstênio deverá ser produzido em suas retinas (*in vivo*) através de um pequeno orifício feito lateralmente, na *ora serratia* do animal, a Onda de Leão poderá ser observada através do sistema óptico e, sua velocidade aferida e comparada em animais tratados em relação a controles.

VI – A depressão alastrante e as despolarizações peri infarto têm sido vistas em vários modelos experimentais de infarto cerebral e causam, nestes modelos, dano neurológico secundário e expansão da área de infarto, diminuindo, inclusive a chamada janela terapêutica nestes (Dohmen e cols., 2008). Propomos um modelo para estudo semelhante com o uso de coelhos *in vivo*, os quais terão o córtex cerebral exposto. Dois microeletrodos deverão ser colocados, em duas regiões diferentes deste córtex, dentro da área de irrigação da artéria cerebral média ipsilateral (Martins-Ferreira, 1954). Após esta preparação, induziremos uma isquemia localizada clipando-se a artéria carótida interna ipsilateral das cobaias. Verificaremos o padrão da DA subsequente, aferindo-se sua velocidade e amplitude antes (estímulo mecânico) e após isquemia induzida. Finalmente compararemos animais tratados por 15 dias com as drogas em questão, principalmente o Topiramato, com o objetivo de verificarmos se há algu-

ma modificação quanto à morfologia e/ou velocidade de propagação e/ou amplitude da DA nestes modelos após isquemia induzida. “Postulamos a hipótese que as drogas GABAérgicas em estudo, poderiam vir a diminuir ou impedir estas DAs e despolarizações Peri infarto, vindo, assim, a diminuir a área de infarto e aumentar a janela terapêutica para o “acidente vascular cerebral isquêmico”.

## IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akerman,S., Goadsby, P.J. Topiramate inhibits cortical spreading depression in rat and cat: impact in migraine aura. *Neuroreport*. 16(12):1383-7, (22), 2005.
2. Aleja, J.G., Porta-Etessam, J., Sepúlveda-Sánchez, J.M., Peña-Marín, M.R. The pathophysiology of migraine. Reflections on the glutamaergic hypothesis. *Rev. Neurol.* 43:481-8, 2006.
3. Avoli,M., Drapeau,C., Louvel,J., Pumain,R., Olivier,A., Villemure, J.G. Epileptiform activity induced by low extracellular magnesium in the human cortex maiteined in vitro. *Ann.Neurol.* 30(4):589-596, 1991.
4. Azeredo, F.A.M., Martins-Ferreira,H. Changes in fluid compartments and ionic composition in the isolated chick retina during SD. *Neurochem.Res.* 4:99-107, 1979.
5. Ayata, C., Jin, H., Kudo, C., Dalkara, T.,Moskowitz, M.A. Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis. *Ann. Neurol.* 59(4):652-661, 2006.
6. Bahrami, G., Mohammadi, B. A novel high sensitivy HPLC assay for topiramate, using 4-chloro-7-nitrobenzofurazan as pre-colun fluorescence derivatizing agent. *J.Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed.Life Sci.* 850 (1-2):400-4, 2007.

7. Bartolini, M., Silvestrini, M., Taffi, R., Lanciotti, C., Luconi, R., Cappecci, M., Provinciali, L. Efficacy of topiramate and valproate in chronic migraine. *Clin Neuropharmacol.* 28(6):277-9, 2005.
8. Batteli, L., Black, K.R., Wray, S.H. Transcranial magnetic stimulation of visual area V5 in migraine. *Neurology.* 58: 11066-1069, 2002.
9. Belal, F., Abdine, H., Al-Majed, A., Khalil, N.Y. Spectrofluorimetric determination of Vigabatrin and Gabapentin in urine and dosage forms through derivatization with fluorescamine. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 27 (1-2):253-60, 2002.
10. Blau, J. N. (ed.) *Migraine: clinical, therapeutic, conceptual and research aspects.* London: Chapman and Hall Medical, 1987.
11. Blau, J. N. Migraine: theories of pathogenesis. *Lancet.* 339:1202-1207, 1992.
12. Bowery, N.G., Bettler, B., Froestl, W., Gallagher, J.P., Marshall, F., Raiteri, M., Bonner, T.I., Enna, S.J. International Union of Pharmacology XXXIII. Mammalian  $\gamma$ -aminobutyric acid  $B$  receptors: structure and function. *Int. Union. Pharmacol. XXXIII. Pharmacol. Rev.* 54:247-264, 2002.
13. Bowyer, S.M., Aurora, K.S., Moran, J.E., Tepley, N., Welch, K.M. Magnetoencephalographic fields from patients with spontaneous and induced migraine aura. *Ann. Neurol.* 50(5):582-587, 2001.
14. Bradford, M.M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochemistry.* 72:248-254, 1976.
15. Brandes, J., Saper, J., Diamond, M., Couch, J.R., Lewis, D.W., Schmitt, J., Neto, W., Schwabe, S., Jacobs, D. ; MIGR-002 Study Group. Topiramate for migraine prevention: a randomized controlled trial, *JAMA.* 291:965-973, 2004.

16. Brighina, F., Piazza, A., Daniele, O., Fierro, B. Modulation of visual cortical excitability in migraine with aura: effects of 1 Hz repetitive transcranial magnetic stimulation. *Exp.Brain.Res.*145:177-181, 2001.
17. Brighina, F., Palermo, A., Aloisio, A., Francolini, M., Giglia, G., Fierro, B. Levetiracetam in the prophylaxis of migraine with aura: a 6-month open-label study. *Clin. Neuropharmacol.* 29(6):338-42, 2006.
18. Brinley, F.J., Kandel, E.R., Marshall, W.H. Potassium outfluxes from rabbit cerebral cortex during spreading depression. *J.Neurophysiol.* 23:246-256, 1960.
19. Bures, J. In: Aristides Azevedo Pacheco Leão. Rio de Janeiro. Academia Brasileira de Ciências.7-10, 1994.
20. Bures, J. Some metabolic aspects of Leão's spreading depression. *J.Neurochem.* 1:153-158, 1956.
21. Bures, J., Buresová, O. the question of ionic antagonism in spreading depression. *Physiol.Bohemoslov.*5:195-205, 1956.
22. Bures, J., Krivanek, J. Ionics movements in the brain as studied with the AID of washing the cortical surface with an epidural cannula. *Physiol. Bohemoslov.*9:488-493, 1960.
23. Bures, J., Buresová, O. Weiss, T. Functional consequences of hippocampal spreading depression. *Physiol. Bohemoslov.*9:219-227, 1960.
24. Bures, J., Buresová, O., Krivanek, J. The Mechanisms and Applications of Leão's Spreading Depression of Electroencephalographic Activity. *An. Acad. Bras. Ci.*56(4):385-400,1984.
25. Buzzi, M.G., Bonamini, M.A., Moskowitz, M.A. Neurogenic model of migraine. *Cephalalgia.*15:277-280, 1995.

26. Cabral-Filho, J.E., Trindade-Filho, E.M., Guedes R.C.A. Effect of d-fenfluramine on cortical spreading depression in rats. *Braz.J.Med.Biol.Res.*28:347-350, 1995.
27. Calabresi, P., Galletti, F., Rossi, C., Sarchielli, P., Cupini, L.M. Antiepileptic drugs in migraine; from clinical aspects to cellular mechanisms. *Trends Pharmacol. Scienc.*28(4): 12-25, 2007.
28. Caruso, J.M., Brown, W.D., Exil, G., Gascon, G.G. The efficacy of divalproex sodium in the prophylactic treatment of children with migraine. *Headache.* 40:674-676, 2000.
29. Chagas, F.C. In: Aristides Azevedo Pacheco Leão. Rio de Janeiro. Academia Brasileira de Ciências. 19-20, 1994.
30. Chebib, M., Johnston, G.A.R. GABA-activated ligand-gated ion channels: medicinal chemistry and molecular biology. *J.Med.Chem.*43:1427-1447, 2000.
31. Chen, N.H., Reich, M.E.A., Quick, M.W. Synaptic uptake and beyond: the sodium and chloride-dependent neurotransmitter transporter family SLC6. *Pflugers Arch.Eur.J.Physiol.* 447:519-531, 2004.
32. Chronicle, E., Mulleners, W. Anticonvulsant drugs for migraine prophylaxis. *Cochrane Database Syst Rev.*3: CD 003226, 2004.
33. Collewijn, H., Van Harreveld, A. Membrane potential of cerebral cortical cells during spreading depression and asphyxia. *Exp.Neurol.* 15:425-436, 1966.
34. Collins, J.G. Prevalence of selected chronic conditions, EUA, 1979-1981. *Vital Health Statistics.* 10(155):1-66, 1986.
35. Cooper, J.R., Blom, F.E., Roth, R.H. Amino acid transmitters. In: *The Biochemical Basis of Neuropharmacology.* Oxford University Press, New York.133-89, 1991.

36. Coupez , R., Staetemaus, R., Sehgal, G., Stocks, A., Zhihong, L. Levetiracetam; relative bioavailability and bioequivalence of 10% oral solution (750 mg) and 750 mg tablets. *J.Clin. Pharmacol.* 43(12): 1370-6, 2003.
37. Curatolo, A., Marchetti, M., Salleo, A., Brancati, A. Azioni degli aminoacodi dicarbossilici sull'attività elettrica spontanea della corteccia cerebrale di Gatto. *Arch. Sci. Biol.* 51:89-97, 1967.
38. Cutrer, F.M., Limmroth, V., Mosckowitz, M.A. Possible mechanisms of valproate in migraine prophylaxis. *Cephalalgia.*17 (2):93-100, 1997.
39. D'Amico, D. Antiepileptic drugs in the prophylaxis of migraine, chonic headache forms and cluster headache: a review of their efficacy and tolerability. *Neurol.Sci.*28 (2):188-97, 2007.
40. D'Amico, D., Grazzi, L., Usai, S., Moschiano, F., Bussone, G. Topiramate in migraine prophylaxis. *Neurol. Sci.*26 (Suppl.2): sl 130-133, 2005.
41. D'Onofrio, F., Cologno, D., Petretta, V., Casucci, G., Bussone, G. Basilar-type migraine responsive to lamotrigine: three case reports. *Neurol. Sci.* 28 (2):239-41, 2007.
42. De Angelis, M.A. Estrutura da retina de Gallus Domesticus mantida em Solução de Ringer. Controle pela Depressão Alastrante. Tese , Escola Paulista de Medicina , 1986.
43. Diener, H. e cols. Long – term efetiveness of Topiramate for migraine prevention: analyses of open-label extension-phase data from two pivotal studies, EFNS Congress, Athens. Poster P 2138, 2005.
44. Diener, H. Topiramate in Migraine Prevention. Seventeenth Meeting of the European Neurological Society – Rhodes/Greece – June 16-20, 2007. Pre-congress course.

45. Diener, H.C., Bussone, G., Van Oene, J.C., Lahaye, M., Schwalen, S., Goadsby, P.J. TOPMAT-MIG-201(TOP-CHROME) Study Group, Topiramate reduces headache days in chronic migraine: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Cephalalgia*. 27(7):814-23, 2007.
46. Diener, H., Tfelt-Hansen, P., Dahlf, C., Láinez, M.J., Sandrini, G., Wang, S.J., Neto, W., Vijapurkar, U., Doyle, A., Jacobs, D. Topiramate in migraine prophylaxis: results from a placebo-controlled trial with propranolol as an active control. *J. Neurol.* 251 (8): 943-950, 2004.
47. Diuana, A.B. (1975). Efeito da agitação na variação lenta de voltagem da retina durante a depressão alastrante de Leão. Tese. IBFCCF. UFRJ. Rio de Janeiro, 1975.
48. Dohmen, C., Sakowitz, O.W., Fabricius, M., Bosche, B., Reithmeier, T., Ernestus, R.I., Brinker, G., Dreier, J.P., Woitzik, J., Strong, A.J, Graf, R. Co-operative Study of Brain Injury Depolarizations (COSBID). Spreading depolarizations occur in human ischaemic stroke with high incidence. *Ann. Neurol.* 63 (6): 720-708, 2008.
49. Do Carmo, R.J., Ferreira-Filho C.R., Martins-Ferreira, H. Liquid unstirred layers and spreading depression (SD) in isolated retina. *An. Acad. Bras. Ci.* 57:528-529, 1985.
50. Do Carmo, R.J., Leão. A.A.P. Propagação da depressão alastrante cortical em mamíferos girencefálicos. In: XI Congresso Latinoamericano de Ciências Fisiológicas, v.XXIII, (3)275, 1973.
51. Do Carmo, R.J., Martins-Ferreira, H. Spreading depression of Leão probed with ion-selective microelectrodes in isolated chick retina. *An. Acad. Bras. Ci.* 56:402-421, 1984.
52. Do Carmo, R.J., Martins-Ferreira, H. Recent studies on retinal spreading depression. In Do Carmo, R.J. (Editor) *Spreading Depression*. Experimental Brain Research Series, 23. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg: 49-62, 1992.

53. Do Carmo, R.J., Silver, I.A., Martins-Ferreira, H. Variações da atividade dos íons potássio e cloreto durante a depressão alastrante em retina de pinto. *Ciênc.Cult.* 29(664), 1977.
54. Essig, C.F., Adkins, F.J., Barnard, G.L. Electrocorticographic effects of acetylcholine in monkeys and cats. *Proc.Soc. Exp.Biol.Med.* 75:429-432, 1953.
55. Fabricius, M., Fuhr, S., Bhatia, R., Boutelle, M., Hashemi, P., Strong, A.J., Lauritzen, M. Cortical spreading depression and peri-infarct depolarization in acutely injured human cerebral cortex. *Brain.* 129 (3): 778-90, 2006.
56. Feliu, A.L.,Rupnow, M.F.,Blount, A., Boccuzzi, S.J.,Vermilyea, J. Resource use associated with topiramate in migraine prophylaxis. PharMetrics, INC., Watertown, MA 02472, USA. *Am.J.He.LTH. Syst.Pharm.*15; 64(14):1483-91, 2007.
57. Ferreira-Filho, C.R. Impedância elétrica de retinas isoladas de anfíbio e suas alterações no decurso da depressão alastrante de Leão. Tese. Universidade Federal Fluminense. Rio de janeiro, 1978.
58. Ferreira-Filho, C.R., Martins-Ferreira, H. Electrical impedance of isolated retina and its changes during spreading depression. *Neuroscience.*7:3231-3239, 1982.
59. Ferreira-Filho, C.R., Martins-Ferreira, H. Interstitial fluid pH and its changes during spreading depression in isolated chick retina. In: DoCarmo, R.J (Editor), *Spreading Depression*. Experimental Brain Research Series. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg: 75-88, 1992.
60. Fifková, E. Thalamic spreading depression in the rat. *EEG Clin.Neurophysiol.* 20:68-76, 1966.
61. Fifková, E., Bűres, J. Spreading depression in the mamalian striatum. *Arch.Int, Physiol.Bioch.*72:171-179, 1964.

62. Fifková, E., Bűres, J., Koshtoyants, O.K.H., Krivanek, J., Weiss, T. Leão's spreading depression in the cerebellum of rat .*Experientia*.17:1-5, 1961.
63. Freitag, F.G., Collins, S., Carlson, H. e cols. A randomized trial of divalproex sodium extended-release tablets in migraine prophylaxis, *Neurology*.58:1652-1659, 2002.
64. Freitag, F.G.,Forde, G.,Neto, W.,Wang, D.Z.,Schmitt, J.,Wu, S.C.,Hulihan, J. Analysis of pooled data from two pivotal controlled trials on the efficacy of topiramate in the prevention of migraine. *J Am Osteopath Assoc*.107 (7):251-8, 2007.
65. Freygang, W.H.J., Landau W.M. Some relations between resistivity and electrical activity in cerebral cortex of cat.*J.Cell. Comp.Physiol.* 45:377-393, 1995.
66. Futamachi, K.J., Mutani, R., Prince, D.A. Potassium activity in rabbit cortex. *Brain Res.* 15:5-25, 1974.
67. Gardino P.F. Glutamato/ depressão alastrante. Tese. Instituto de Biofísica. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1982.
68. Gardino, P.F., Do Carmo, R.J.Glutamate and spreading depression in chick retina. *An.Acad.Bras.Ci.* 55:297-307, 1983.
69. Gardner-Medwin, A.R., Mutch, W.A.C. Experiments on spreading depression in relation to migraine and neurosurgery. *An.Acad.Bras.Ci.* 56:423-431, 1984.
70. Gasnier, B. The loading of neurotransmitters into synaptic vesicles. *Biochimie.* 82:327-337, 2000.
71. Gemelli-Minucci, M.V. Efeito de Mg<sup>2+</sup> na depressão alastrante retiniana. Orientador: Hiss Martins-Ferreira. Rio de Janeiro: Tese. UFRJ/IBFCCF – Doutorado em Ciências – 2001.

72. George, J., Siegel, R., Wayne, A., Scott, T., Brady, Donald, L. In: Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular, and Medical Aspects. 7<sup>th</sup>. Edition. Elsevier Academic Press, 2006.
73. Giffin, N.J., Kaube, H. The electrophysiology of migraine. *Neurology. Curr. Opin. Neurol.* 15: 303-309, 2002.
74. Goldring, S., O'Leary, J.L. Correlation between steady transcortical and evoked response. I.Alterations in somatic receiving area induced by veratrine, strychnine, KCl, and novocaïne. *EEG. Clin.Neurophysiol.*6:189-200, 1954.
75. Gorji, A. Spreading Depression: a review of the clinical relevance. *Brain. Res. Rev.* 38: 31-60, 2001.
76. Gouras , P. Spreading depression of activity in amphibian retina. *Am.J.PHysiol.* 195:28-32, 1958.
77. Graeme, J.S., Butler, E., Forrest, G., Ratnaraj, N., Patsalos, P.N., Brodie, M.J. Viga-batrin, but not Gabapentin or Topiramate, produces concentration-related effects on enzymes and intermediates of the GABA shunt in rat brain and retina. *Epilepsia*, 44 (7):886-896,2003.
78. Grafstein, B. Mechanism of spreading cortical depression.*J. Neurophysiol.*19:154-171, 1956.
79. Gray, R.N., Goslin, R.E., McCrory, D.C., Eberlein, K., Tulskey, J., Hasselblad, V. Drug Treatments for the Prevention of Migraine Headache. Technical Review 2.3, February 1999. (Prepared for the Agency for Healty Care Policy and Reserch under Contract No. 290-94-2025. Availbe from the National Technical Information Service; NTIS Accession No. 127953.)
80. Guedes, R.C.A. On some conditions that influence cortical spreading depression. *An.Acad.Bras.Ci.* 56:445-455, 1984.

81. Guedes, R.C.A., Andrade A.F.D., Cavalheiro, E.A. Excitatory amino acids and cortical spreading depression. In: Cavalheiro, E.A.; Lehmann, J.& Turski, L. (eds.). *Frontiers in Excitatory Amino Acids Research*. Allan R.Liss, New York: 667-670, 1988.
82. Guedes, R.C.A., Do Carmo R.J. Influence of ionic disturbances produced by gastric washing on cortical spreading depression. *Exp.Brain.Res.* 39:341-349, 1980.
83. Gupta, P. Topiramate for Migraine Prophylaxis: A Reappraisal of the Therapeutic Premise. *J. Child. Neurol.*22:123-124, 2007.
84. Gupta, P.,Singh, S.,Goyal, V.,Shukla, G.,Behari, M. Low-dose topiramate versus lamotrigine in migraine prophylaxis ( the Lotolamp study). *Headache.* 47(3):402-12, 2007.
85. Hanawa, I., Kuge, K., Matsumura, K. Effects of Some Common Ions on the transretinal DC potential and the electroretinogram of isolated frog retina. *Jap.J.Physiol.* 17:1-20, 1967a.
86. Hanawa, I., Kuge, K., Matsumura, K. Studies on the slow depressive potential of isolated frog retina. *Jap.J.Physiol.*17:312-334,1967b.
87. Hansen, A.J. Effect of anoxia on ion distribution in the brain. *Physiol.Rev.* 65:101-148, 1985.
88. Hartings, J.A., Gugliotta, M., Gilman, C., Strong, A.J., Tortella, F.C., Bullock, M.R. Repetitive cortical spreading depolarizations in a case of severe brain trauma. *Neurol. Res.* 30 (8):876-82, 2008.
89. Hardebo, J.E. Migraine – Why and how a cortical excitatory wave may initiate the aura and headache. *Headache.* 31:213-221, 1991.
90. Haut, S.R. Chronic disorders with episodic manifestations: focus on epilepsy and migraine.*Lancet Neurol.*5:148-157, 2006.

91. Hava, G., Adolfo, T.E., Drorit, S., Yoram, G. GABA metabolism controls inhibition efficacy in the mammalian CNS. *Neuroscience Letters*. 217:25-28, 1996.
92. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The international classification of headache disorders. *Cephalalgia* . 24 ( Suppl):S1-152,2004.
93. Hearing, R., Kuritzky, A. Sodium valproate in the prophylaxis treatment of migraine: a double-blind study versus placebo. *Cephalalgia*. 12(2): 81-84, 1992.
94. Hernández-Cáceres, J., Macias-Gonzalez, R., Brozek, G., Büres J. Systemic ketamine blocks cortical spreading depression but does not delay the onset of terminal anoxic depolarization in rats. *Brain Res*. 437:360-364, 1987.
95. Herrera, D.G., Masinger, D., Gradient, R., Boeckh, C., Otten, U., Cuello, A. C. Spreading depression induces c-fos immunoreactivity and NGF mRNA in rat cerebral cortex. *Brain. Res*. 602:99-103, 1993.
96. Hershey, A.D., Powers, S.W., Vockell, A.L. e cols. Effectiveness of topiramate in the prevention of childhood migraine. *Headache*. 42:810-818,2002.
97. Higashida, H., Mitarai, G., Watanabe, S. A comparative study of membrane potential changes in neurons and neuroglial cells during spreading depression in the rabbit. *Brain Res*. 65:411-425, 1974.
98. Higashida, H., Miyake, A., Tarao, M., Watanabe, S. Membrane potential changes of neuroglial cells during spreading depression in the rabbit. *Brain Res*. 32:207-211, 1971.
99. Higashida, H., Sakakibara, M., Mitarai, G. Spreading depression in isolated carp retina. *Brain Res*. 120:67-83, 1977.

100. Hokoç, JN, Ventura, A.L.M., Gardino, P.F., De Mello, F.G. Developmental immunoreactivity for GABA and GAD in the avian retina: possible alternative pathway for GABA synthesis. *Brain Res.*532:197-202,1990.
101. Jensen, R., Brinck, T., Olesen, J. Sodium valproate has a prophylactic effect in migraine without aura: a triple-blind, placebo-controlled crossover study. *Neurology.* 44(4):647-651, 1994.
102. Joetta, M.J., Paul, I.B., Gwendolyn, A., Francis, M.U. Procedure for Monitoring of Gabapentin with 2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid derivatization followed by HPLC with ultraviolet detection. *Clinical Chemistry.*49:1198-1201, 2003.
103. Johannessen, S.I., Tomson, T. Pharmacokinetic Variability of newer antiepileptic drugs: When is monitoring needed? *Clin.Pharmacokinet.*45 (11):1061-75, 2006.
104. Jung ,M.J. In-vivo biochemistry of GABA transaminase inhibition. In: Seiler N., Jung M.J., Kock-Wester J. (eds.) *Enzyme-activated irreversible inhibitors.* Elsevier/North-Holland Biomedical Pres, New York. 135-48,1978.
105. Kang, T.C., Park, S.K., Bahn, J.H., Jeon, S.G., Jo, S.M., Choi, S.Y., Won, M.H. The alteration of gamma-aminobutyric acid-transaminase expression in the gerbil hippocampus induced by seizure. *Neurochem.Int.* 38:609-14, 2001.
106. Kaniecki, R.G. A comparison of divalproex with propranolol and placebo for the prophylaxis of migraine without aura. *Arch. Neurol.* 54: 1141-1145, 1997.
107. Klapper, J.A. An open label cross-over comparison of divalproex sodium and propranolol in the prevention of migraine headaches. *Headache.* 5(1):50-53, 1994.
108. Klaper, J.A. Divalproex sodium for migraine prophylaxis: a dose-controlled study. *Cephalalgia.*17 (2):103-108, 1997.
109. Kraig, R.P., Ferreira-Filho C.R., Nicholson, C. Alkaline and acid transients in cerebellar microenvironment. *J.Neurophysiol.* 49:831-850, 1983.

110. Kraig, R.P., Nicholson, C. Extracellular ionic variations during spreading depression. *Neuroscience* 3:1045-1059, 1978.
111. Krivanek, J. Some metabolic changes accompanying Leão spreading cortical depression in the rat. *J.Neurochem.* 6:183-189, 1961.
112. Krivanek, J., Büres J. Ion shifts during Leão's spreading cortical depression. *Physiol.Bohemoslov.* 9:494-503, 1960.
113. Krnjevic, K. Action of drugs on single neurons in the cerebral cortex. *Brit.Med.Bull.* 21:10-14. apud. Katzman & Pappius, 1973.
114. Kronborg, D., Dalgaard, P., Lauritzen, M. Letter to the Editor. *Arch. Neurol.* 47:124-125, 1990.
115. Lampl, C. Z., Katsarava H., Diener, C., Limmroth, V. Lamotrigine reduces migraine aura and migraine attacks in patients with migraine with aura. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 76:1730-1732,2005.
116. Landy, S.H., Baker, J.D. Divalproex ER prophylaxis in migraineurs wity probable chronic migraine and probable medication-overuse headache: a case series. *Pain. Pract.*4 (4):292-4, 2004.
117. Lashley, K.S. Patterns of cerebral integration indicated by scotomas of migraine. *Archs.Neurol.Psychiat.* 46:331-339, 1941.
118. Lauritzen, M. Cerebral blood flow in migraine and cortical spreading depression.*Acta. Neurol. Scand.*76:1-40, 1987.
119. Lauritzen, M. Cortical spreading depression as a putative migraine mechanism.*Trend.Neurosci.*10:447-467, 1987.
120. Lauritzen, M., Jorgensen, M.B., Diemer, N.H., Gjedde, A., Hansen, A.J. Persistent oligemia of rat cerebral cortex in the wake of spreading depression. *Ann. Neurol.* 12:469-474, 1982.

121. Lauritzen, M., Fabricius, M., Jensen, L.H. On the role of glutamate receptor subtypes in spreading depression. In: Lehmenkühler, A; Grottemeyer, K.H. e Tegtmeier, F. (Eds.), *Migraine: Basic Mechanisms and Treatment*. Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore: 345-353, 1993.
122. Lauritzen, M., Hansen, A.J. The effect of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* 12:223-229,1992.
123. Lauritzen, M., Skyhøj-Olsen, T., Larsen, N.A., Paulson, O.B. Changes in regional cerebral blood flow during the course of classic migraine attacks. *Ann. Neurol.* 13: 633-641, 1983.
124. Leão, A.A.P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex *J.Neurophysiol.* 7:359-390,1944a.
125. Leão, A.A.P. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J.Neurophysiol.* 7:391-396, 1944b.
126. Leão, A.A.P. The slow voltage variation of the cortical spreading depression of activity. *EEG. Clin. Neurophysiol.* 3:315-321,1951.
127. Leão, A.A.P. Circulação na pia-mater e depressão alastrante da atividade do córtex cerebral. *An. Acad.Bras.Ci.* 26: XXII-XXIII, 1954.
128. Leão, A.A.P. On the spreading depression .In *Brain Function*, vol.I, M.A.B.Brazier (eds.). Univ.California Press. Berkeley: 78-85, 1963.
129. Leão, A.A.P. *Spreading Depression in Experimental Models of Epilepsy*. Dominick P. Purpura . Raven Press, New York, 173-196, 1972.
130. Leão, A.A.P. Further observations on the spreading depression of activity. *EEG. Clin.Neurophysiol.* 3:315-321, 1947.

131. Leão, A.A.P. On the inferred relationship of migraine and spreading depression. In: *Advances in headache research*, (eds.). F. Clifford Rose. John Libbey&Co Ltd. 19-24, 1987.
132. Leão, A.A.P., Martins-Ferreira, H. Alteração da impedância elétrica no decurso da depressão alastrante da atividade do córtex cerebral. *An. Acad.Bras.Ci.* 25:259-266,1953.
133. Leão, A.A.P., Martins-Ferreira, H. Nota sobre a ocorrência da depressão alastrante no hipocampo e no corpo estriado. *An. Acad.Bras.Ci.* 30: I, 1958.
134. Leão, A.A.P., Martins-Ferreira, H. Nota acerca da depressão alastrante no cerebelo, tubérculo quadrigêmio anterior e bulbo olfativo. *An. Acad.Brasil.Ci.* 33: XXXIX-XL, 1961.
135. Leão, A.A.P., Martins-Ferreira, H. Efeito do potássio sobre a variação lenta de voltagem da depressão alastrante. *Ciência e Cultura.* 17:279-280,1965.
136. Leão, A.A.P., Morrison, R.W. Propagation of spreading cortical depression. *J.Neurophysiol.* 8:33-45, 1945.
137. Libet, B., Gerard, R.W. Control of the potential rhythm of the isolated frog brain. *J.Neurophysiol.* 2:158-169, 1939.
138. Limmroth, V., Cutrer, F. M., Moskowitz, M.A. Neurotransmitters and neuropeptides in headache. *Curr. Opin. Neurol.* 9:206-210, 1996.
139. Lipton, R.B. Disability assessment as a basis for stratified care. *Cephalalgia.* 18(22):40-46, 1998.
140. Lipton, R.B., Conventional Management and Novel Modalities for Improved Treatment of Chronic Migraine. *Neurology.*72 (1): S3-S7, 2009.
141. Lipton, R.B., Bigal, M.E.,Steiner, T.J., Silberstein, S.D., Olesen, J. Classification of primary headaches. *Neurology.*63:427-435, 2004.

142. Lipton, R.B., Heimbach, C.J. Mechanism of extracellular potassium stimulation of protein synthesis in the in vitro hippocampus. *J.Neurochem.* 31:1299-1307, 1978.
143. Lipton,R., Scher, A., Kolodner, K.e cols. “ Migraine in the United States: epidemiology and patterns of health care use.” *Neurology.* 58(6): 885-894, 2002.
144. Lipton, R.B, Stewart W.F., Simon, D. Medical consultation for migraine: results from the American Migraine Study.*Headache.* 38(2):87-96, 1998.
145. Lofland, J.H. , Gagne, J.J.,Pizzi, L.T.,Rupnow, M.,Silberstein, S.D. Inpact of topiramate migraine prophylaxis on workplace produtivity:results from two US randomized,double-blind,placebo-controlled,multicenter trials.  
*J.Occup.Environ.Med.*49(3):252-7,2007.
146. López, J.R., Alamo, L., Caputo, C., Vergara, J.,Dipolo R. Direct measurement of intracellular free magnesium in frog skeletal muscle using magnesium-selective microelectrodes. *Biochim. Biophys. Acta*, 804:1-7 apud Romani, A.& Scarpa, A. Regulation of cell magnesium. *Arch. Biochem. Biophys.* 298 (1):1-12, 1992.
147. Lothman, E., LaManna, J., Cordingley, G., Rosenthal, M., Somjen G.G. Responses of electrical potential, potassium levels and oxidative metabolism in cat cerebral cortex. *Brain Res.* 88:15-36, 1975.
148. Lukyanová, L.D., Büres, J. Changes in pO<sub>2</sub> due to spreading depression in the cortex and nucleus caudatus of the rat. *Physiol.Bohemoslov.* 16:449-455, 1967.
149. Lynch, B.A., Lamberg, N., Noika, K., Kensel-Hammes, P., Bassalieh, S.M., Mattegne, A., Fuks, B. The Synaptic Vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 101(26):9861-6, 2004.
150. Maranhão-Filho P.A. Sumatriptan na Depressão Alastrante Retiniana. Tese. 1997.
151. Maranhão-Filho P.A., Leão, A.A.P. A note on the action of glutamine on cortical spreading depression.*Cephalalgia*,11:201-204,1991.

152. Marcussen, R.M., Wolff, H.G. Studies on headache: effects of CO<sup>2</sup>-O<sup>2</sup> mixtures given during pre-headache phase of the migraine attack. *Archs. Neurol. Psychiatr.* Ver. 63:42-51,1950.
153. Margineanu, D.G., Klitgaard, H. Brivaracetam inhibit spreading depression in rat neocortical slices in vitro. *Seizure.* 2009, Feb 9. (Epub.)
154. Marques, H.A. Depressão alastrante em retina isolada de mamíferos. Tese. Instituto de Biofísica, UFRJ, Rio de Janeiro, 1977.
155. Marranes, R., Willems, R., Prins, E.D., Wauquier, A. (1988). Evidence for a role of the N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) receptor in cortical spreading depression in the rat. *Brain Res.* 457:226-240, 1988.
156. Marrocos, M.A., Martins-Ferreira, H. Effect of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> on the velocity of propagation of the spreading depression in chick retina. *Braz.J.Med.Biol.Res.* 23:473-476, 1990.
157. Marshall, W.D. The relation of dehydration of the brain to the spreading depression of Leão. *EEG Clin. Neurophysiol.* 2:177-185,1950.
158. Marshall, W.H. Spreading cortical depression of Leão. *Physiol.Rev.* 39:239-279, 1959.
159. Marshall, W.H., Essig, C.F., Dubroff, S.J. Relation of temperature of cerebral cortex to spreading depression of Leão. *J.Neurophysiol.* 14:153-166, 1951.
160. Martin, D.L., Madelian, V., Seligmann, B., Shain W. The role of osmotic pressure and membrane potential in K<sup>+</sup>-stimulated taurine release from cultured astrocytes and LRM55 cells. *J.Neurosci.* 10:571-577, 1990.
161. Martin, D.L., Olsen, R.W. (eds.). *GABA in the Nervous System: The view at 50 years.* Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2000.

162. Martins-Ferreira, H. Variações lentas de voltagem do córtex cerebral. Tese. Instituto de Biofísica. Universidade Federal Fluminense. Rio de Janeiro, 1954.
163. Martins-Ferreira, H. Propagation of spreading depression in isolated retina. In: Lehmenkühler, A; Grotemeyer, K.H. e Tegtmeier, F. (Eds.). *Migraine: Basic Mechanisms and Treatment*. Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore: 533-546, 1993.
164. Martins-Ferreira, H. Spreading depression: a neurohumoral reaction. *Braz.J.Med.Biol.Res.* 27:851-863, 1994.
165. Martins-Ferreira, H. Depressão alastrante na retina. *An. Acad.Bras.Ci.* 34: XLIV, 1962.
166. Martins-Ferreira, H. Spreading depression in chicken retina. *The brain and behavior of the fowl*. T.Ookawa (eds.) Japan Scientific Society Press. Tokyo: 317-333, 1983.
167. Martins-Ferreira, H., Do Carmo, R.J. Retinal spreading depression and the extracellular milieu. *Can.J.Physiol.Pharmacol.* 65:1092-1098, 1987.
168. Martins-Ferreira, H., Do Carmo, R.J., Netto, M. Potassium release by spreading depression evoking substances. *An. Acad. Bras. Ci.* 56:116-117, 1984.
169. Martins-Ferreira, H., Leão, A.A.P. Nota sobre o estudo da depressão alastrante em répteis. *An. Acad.Bras.Ci.* 30: I, 1958.
170. Martins-Ferreira, H., Leão, A.A.P. Nota sobre a ocorrência da depressão alastrante no hipocampo e no corpo estriado. *An. Acad.Bras.Ci.* V.30, n.2, 1958a.
171. Martins-Ferreira, H., Leão, A.A.P. Nota sobre a ocorrência da depressão alastrante em répteis. *An. Acad.Bras.Ci.* v.30, n.2, 1958b.
172. Martins-Ferreira, H., Oliveira-Castro, G. Light scattering changes accompanying spreading depression in isolated retina. *J.Neurophysiol.* 29:715-726, 1966.

173. Martins-Ferreira, H., Oliveira-Castro, G. Spreading depression in isolated chicken retina. *Vision Res.* 3:171-184, 1971.
174. Martins-Ferreira, H., Oliveira-Castro, G. Electric impedance changes accompanying spreading depression in isolated retina. *An.Acad.Bras.Ci.* 41:644r-645r, 1969.
175. Martins-Ferreira, H., Oliveira-Castro, G., Struchiner, C.J., Rodrigues, P.S. circling spreading depression in isolated chick retina. *J.Neurophysiol.* 37:773-784, 1974.
176. Martins-Ferreira, H., Nedergaard, M., Nicholson, C. Perspectives on spreading depression. *Brain Res. Rev.* 32:215-234, 2000.
177. Martins-Ferreira, H., Ribeiro, L.J.C., Do Carmo, R.J. Threshold determination of spreading depression evoking substances in the retina in vitro. *Braz.J.Med.Biol.Res.* 26:875-877, 1993.
178. Massiou, H., Tzourio, C., Bousser, M.G. Methodology of treatment trials for migraine prophylaxis. In: Olesen J, Tfelt-Hansen P, (eds.). *Headache Treatment: Trial Methodology and New Treatment.* Philadelphia, PA: Lippincott-Raven. 25-133, 1997.
179. Matagne, A., Margineanu, D.G., Klenda, B., Michel, P., Klitgaard, H. Anti-convulsive and anti-epileptic properties of brivaracetan (ucb 34714), a high-affinity ligand for the synaptic vesicle protein SV2A. *Br. J. Pharmacol.* 154 (8):1662-71, 2008.
180. Mathew, N.T., Hulihan, J.F., Rothrock, J.F. Anticonvulsants in migraine prophylaxis. *Neurology*, 60(2):s45-s49, 2003.
181. Mathew, N.T., Saper, J., Magnus-Miller, L. Efficacy and safety of Gabapentin in migraine prophylaxis. 17<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Pain Society Program Book; San Diego, CA:5-8(645), 1998.

182. Mathew, N.T., Saper, J.R., Silberstein, S.D. e cols. Migraine prophylaxis wity divalproex. Arch. Neurol. 52(3):281-286, 1995.
183. Mayer, M.L., Westbrook, G.L., Guthrie, P.B. Voltage-dependent block by Mg<sup>2+</sup> of NMDA responses in spinal cord neurons. Nature. 309:261-263,1984.
184. Mayevsky, A., Doron, A., Manor, T., Meilin, S., Zarchin, N., Ouaknine, G.E. Cortical spreading depression record from the human brain using a multiparametric monitoring system. Brain Reserch.740:268-274, 1996.
185. Maytal, J., Young, M., Shechter, A. Pediatric migraine and Internation Headache Society (IHS) criteria. Neurology.48:602-607, 1977.
186. McLachlan, R.S., Girvin, J.P. Spreading depression of Leão in rodent and human cortex. Brain.Res.666:133-136, 1994.
187. Metcalf , B.W. Inhibitors of GABA metabolism. Biochem Pharmacol. 28:1705-12,1979.
188. Mies, G., Kohno, K., Hossmann K.A. Prevention of periinfarct direct current shifts glutamate antagonist NBQX following occlusion of the middle cerebral artery in the rat. J.Cereb.Blood.Flow.Metab.14:802-807, 1994.
189. Miller, G.S. Efficacy and safety of Levetiracetam in pediatric migraine. Headache. 44:238-243,2004.
190. Mori, S., Miller, W.H., Tomita T. Microeletrode study of spreading depression (SD) in frog retina - General observations of field potential associated wity SD. Jap.J.Physiol.26:203-217,1976a
191. Mori, S., Miller, W.H., Tomita T. Microeletrode study of spreading depression (SD) in frog retina – Müller Cell Activity and K<sup>+</sup> during SD. Jap.J.PHYsiol.26:203-217,1976b.

192. Moskowitz , M.A. The neurobiology of vascular head pain. *Ann. Neurol.* 16:157-168, 1984.
193. Moskowitz, M.A. Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. *Neurology.*43 (3):S16-S20, 1993.
194. Moskowitz , M.A., Nozak, K., Kraig, R.P. Neocortical spreading depression provokes the expression of C-fos protein-like immunoreactivity within trigeminal núcleo caudalis through trigeminovascular mechanisms. *J.Neurosc.*13:1167-1177, 1993.
195. Nascimento, J.L.M. A simple and rapid method to measure aminobutyric acid-transaminase (GABA-transaminase) in the Central Nervous System. Cellular and Molecular Neurochemistry Laboratory, Department of Physiology, University Federal of Pará, Belém City, Pará, Brazil,2008.
196. Nedergaard, M.,Cooper, A.J.,Goldman S.A. Gap junctions are required for the propagation of spreading depression. *J.Neurobiol.*28(4):433-444, 1995.
197. Nellgard, B., Wieloch, T. NMDA-receptor blockers but not NBQX, an AMPA-receptor antagonist, inhibit and spreading depression in rat hippocampal slices.*J.Neurophysiol.*57:869-888, 1992.
198. Newman, E.A. Acid efflux from retinal glial cells generated by sodium bicarbonate cotransport. *J.Neurosci.* 16:159-168, 1996.
199. Nicholson, C. Preface II. In: *Migraine: Basic Mechanisms and treatment*. Eds. LehmenKühler Alfred; Grotemeyer, Karl-Heinz.; Tegtmeier, Frank. Germany, München: Urban&Schwarzenberg, 602, 1993.
200. Nicholson, C., Hiss Martins-Ferreira.Short review. *Brain Res.Rev.*32:6-8, 2000.
201. Nicholson, C., Kraig, R.P. Chloride and Potassium Changes Measured During Spreading Depression. *Brain Res.* 96:384-389, 1975.

202. Nicholson, C., Kraig R.P. The behavior of extracellular ions during spreading depression. The Application of ion-selective microelectrodes. In Zeuthen T. (eds.). Elsevier. North Holland: 217-238, 1981.
203. Nikitina, T.G., Adamson, V.G., Dyskin, D.E., Prokudin, M.V. Determination of Serum Valproic Acid Drugs by Capillary electrophoresis. *Klin. Lab. Diagn.* 11: 15-8, 2006.
204. Obrenovitch, T., Zilkha, E. High extracellular potassium, and not extracellular glutamate, is required for propagation of spreading depression. *J. Neurophysiol.* 73:2107-2114, 1995.
205. Olesen, J. Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia.* 8 (7):1-96, 1988.
206. Olesen, J. Understanding the biologic basis of migraine. *N.Engl.J.Med.* 331:1713-1714, 1994.
207. Olesen, J., Bousser, M.G., Diener, H. The International Classification of Headache Disorders. 2<sup>nd</sup> Edition. *Cephalalgia.* 24 (1):1-160, 2004.
208. Olesen, J., Larsen, B., Lauritzen, M. Focal hyperemia followed by spreading oligemia and impaired activation of rCBF in classic migraine. *Ann. Neurol.* 9: 344-352, 1981.
209. Oliveira-Castro, G., Martins-Ferreira, H. Deformations and thickness variations accompanying spread depression in the retina. *J. Neurophysiol.* 33, (6):891-900, 1970.
210. Olsen, R.W. GABA. In K.L. Davis D., Charney J.T.C. and C. Nemeroff (eds.), *Neuropsychopharmacology: Fifth Generation of Progress.* American College of Neuropsychopharmacology. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins. 159-168, 2001.

211. Olsen, R.W., DeLorey, M. GABA&glycine. In: J.Siegel,B.W.Agranoff,R.W.Albers, S.K.Fisher and M.D.Uhler (eds.): Basic Neurochemistry , 6<sup>th</sup> edn. New York: Lippincott-Raven.335-346, 1999.
212. Olsen, S.T., Friberg, L., Lassen, A.N. Ischemia may be the primary cause of the neurologic deficits in classic migraine. Arch. Neurol. 44: 156-161, 1987.
213. Osawa, S. Glutamate receptor channels in hippocampal neurons. Jap.J.Physiol.43:141-159, 1993.
214. Pakalnis, A., Kring, D., Meier, L. Levetiracetam prophylaxis in pediatric migraine an open label study . Headache. 47(3):427-30, 2007.
215. Patsalos, P.N. Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics. Pharmacol. Ther. 85:77-85,200.
216. Pietrobon, D., Striessnig, J. Neurobiology of Migraine. Nature Rev. 4: 386-398, 2003.
217. Piper, R. D., Matheson, J.M., Hellier, M., Vonau, M., Lambert, G. A., Olausson, B., Lance, J.W. Cortical spreading depression is not seen intraoperatively during temporal lobotomy in humans. Cephalalgia. 11: 1-2, 1991.
218. Pourcho,R.G. Autoradiographic localization of (H<sup>3</sup>)muscimol in the cat retina. Brain Res. 215:187-199,1981.
219. Prince, D.A., Lux , H.D., Neher E. Measurement of extracellular potassium activity in cat cortex. Brain Res. 50:485-495, 1973.
220. Psarropoulou, C., Avoli, M. An NMDA-receptor antagonist, blocks 4-aminopyridine-induced spreading depression episodes but not epileptiform activity in immature rat hippocampal slices. Neurosc.Lett.135:139-143, 1992.

221. Pucci, V., Mandrioli, R., Raggi, M.A. Determination of Valproic Acid and Divalproex in human plasma by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Electrophoresis*. 24 (12-13): 2076-83, 2003.
222. Puppe, A., Limmroth, V.(2007). GABAergic drugs for the treatment of migraine. *CNS Neurolol Disord Drug Targets*. 6(4):247-50, 2007.
223. Ramadan, N.M. Current trends in migraine prophylaxis. *Headache*.47 (1): S 2-7, 2007.
224. Ranck, J.B.J. Specific impedance of cerebral cortex during spreading depression and on analysis of neuronal, neuroglial and interstitial contributions. *Exptl.Neurol*.9:1-16, 1964.
225. Rando, R.R.,Coburn, J.,Parkinson, D. The differential effects of GABA-transaminase inactivation in the chick retina and brain. *J.Neurochem*.Oct,39(4):1147-51, 1982.
226. Rapoport, A.,Mauskop, A.,Diener, H.C.,Schwalen, S.,Pfeil, J. Long-term migraine prevention with topiramate : open-label extension of pivotal trials. *Headache*.46(7):1151-60,2006.
227. Rasmussen, B.K. Epidemiology of headache. *Cephalalgia*. 15(1):45-68, 1995.
228. Ratnaraj, N., Patsalos, P.N. A high-performance liquid chromatography micromethod for the simultaneous determination of vigabatrin and gabapentin in serum. *The Drug Monit*. 20(4):430-4, 1998.
229. Richards, W. The fortification illusions of migraines. *Scient. Amer*. 224: 89-96, 1971.
230. Rodrigues, P.S., Thomaz, T.G., Pinheiro, W.M., Silva, M.C.P. A atividade colinérgica diminui a liberação de ácido gamma-aminobutírico ( GABA) durante a depressão alastrante retiniana? Resumos II reunião An.Fed.Socs.Biol.Exp,pp139,1987.

231. Rodrigues, P.S., Guimarães, A.P.O., Azeredo, F.A.M., Martins-Ferreira, H. Involvement of GABA and ach. in retinal spreading depression: Effects of "low calcium-high magnesium" solutions. *Exp.Brain Res.* 73:659-664, 1988.
232. Rogawski, M.A. Common Pathophysiologic Mechanisms in Migraine and Epilepsy. *Arch. Neurol.* 65(6):709-714,2008.
233. Rogawski, M.A., Löscher, W. The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nat. Rev. Neurosci.* 5: 553 -564, 2004a.
234. Rogawski, A., Löscher, W. The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions. *Nature Medicine* 10(7): 685-692, 2004b.
235. Ropper, A.H., Samuels, M.A. *Ann Intern. Med.* 5,143(1):84, 2005.
236. Röther, J. Spreading depression and peri-infarct depolarizations.Relevant pathological events in migrânea and stroke? *Nervenarzt.* 71 (2):84-90, 2000.
237. Sanchez-Del-Rio, M., Reuter, U., Moskowitz, M.A. New insights into migraine pathophysiology.*Curr. Opin. Neurol.*19 (3):294-8, 2006.
238. Sandler, M., Collins, G. (eds.) *Migraine: A spectrum of ideas.* Oxford University Press. 328-322, 1990.
239. Sieghart, W. ,Sperk, G. Subunit composition, distribution ang function of GABA<sub>A</sub> receptor subtypes. *Curr.Top.Med.Chem.* 2:795-816, 2002.
240. Scheller, D., Heister, U.,Kolb, J., Tegtmeier, F. On the role of excitatory amino acids during generation and propagation of spreading depressions. In: Lehmenkühler A., Grotemeyer K.H. e Tegtmeier F. (Eds.). *Migraine: Basic Mechanisms and Treatment.* Urban & Schwarzenberg. München-Wien-Baltimore: 355-366, 1993.
241. Serdaroglu, G., Erhan, E., Tekgul, A. Sodium valproate prophylaxis in childhood migraine.*Headache.*42:819-822, 2002.

242. Shaygannejad, V., Janghorbani, M., Ghorbani, A., Ashtary, F., Zakizade, N., Nasr, V. Comparison of the effect of topiramate and sodium valproate in migraine prevention: a randomized blinded crossover study. *Headache*.46 (4):642-8, 2006.
243. Sherif, F.M., Orelund, L. Effects of chronic treatment with the GABA-transaminase inhibitor vigabatrin on exploratory behavior in rats. *Behav. Brain Res.* 63:11-15, 1994.
244. Sherif, F.M. GABA-transaminase in brain and blood platelets: basic and clinical aspects. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.*18:1219-33, 1994.
245. Silberstein, S.D., Lipton, R.B. Chronic daily headache. In: Goadsby P.J., Silberstein S.D. (eds.) *Blue Books of Practical Neurology: Headache*. Boston, MA: Butterworth-Heinemann.201-25, 1997.
246. Silberstein, S.D., Collins, S.D. Safety of divalproex sodium in migraine prophylaxis: an open-label, long-term study. Long-term safety of Depakote in Headache Prophylaxis Study Group, *Headache*. 39 (9): 633-643, 1999.
247. Silberstein, S.D., Neto, W., Schmitt J. Topiramate in migraine prevention: results of a large controlled trial, *Arch. Neurol.* 61: 490-495, 2004.
248. Silberstein, S.D., Hulihan, J., Karim, M.R., Wu, S.C., Jordan D., Karvois D., Kamin M. Efficacy and tolerability of topiramate 200mg/ml in the prevention of migraine with/without aura in adults: a randomized, placebo-controlled, double-blind, 12-week pilot study. *Clin. Ther.*28 (9):1482, 2006.
249. Silberstein, S.D., Feliu, A.L., Rupnow, M.F., Blount, A.C., Boccuzzi, S.J. Topiramate in migraine prophylaxis: long-term impact on resource utilization and cost. *Headache*.47 (4):500-10, 2007a.
250. Silberstein, S.D., Lipton, R.B., Dodick, D.W., Freitag, F.G., Ramadan, N., Mathew N., Brandes, J.L., Bigal, M., Saper, J., Ascher, S., Jordan, D.M., Greenberg, S.J., Hu-

- lihan, J. Topiramate Chronic Migraine Study Group. *Headache*. 47(2): 170-80, 2007b.
251. Somjen, G.G. Mechanisms of Spreading Depression and Hypoxic Spreading Depression-Like depolarization. *PHysiol. Rev.* 81(3): 1065-1093, 2001.
252. Sranka, M., Brozek, G., Büres, J., Nádvornik, P. Functional ablation by spreading depression. Possible use in human stereotaxic neurosurgery. *Appl. Neurophysiol.* 40:48-61, 1977.
253. Steiner, T.J. Ethical aspects of headache treatment trials. In: Olesen J, Tfelt-Hansen P, eds. *Headache Treatment: Trial Methodology and New Treatment*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven: 71-8, 1997.
254. Steiner, T.J., Findley, L.J., Yuen, A.W. Lamotrigine versus placebo in the prophylaxis of migraine with and without aura. *Cephalalgia*. 17(2):109-112, 1997.
255. Steward, W.F., Shechter, A., Rasmussen, R.K. Migraine prevalence. A review of population based studies. *Neurology*. 44(4):S17-S23, 1994.
256. Streit, D.S., Ferreira F.C.R., Martins-Ferreira, H. Spreading depression in isolated spinal cord. *J. Neurophysiol.* 74:888-890, 1995.
257. Strong, A.J., Dreier, J., Woitzik, J., Bhatia, R., Hashemi, P., Fuhr, S.B., Lauritzen, M., Fabricius, M. Cortical spreading depression in patients with acute subarachnoid hemorrhage. Members' Business Meeting Program n°.358.7 Abstract Viewer. Washington, DC: Society for Neuroscience, 2005.
258. Strong, A.J., Fabricius, M., Boutelle, M. Spreading and synchronous depressions of cortical activity in acutely injured human brain. *Stroke* 33: 2738-2743, 2002.
259. Strong, A.J., Hartings, J.A., Dreier, J.P. Cortical spreading depression: an adverse but treatable factor in intensive care? *Curr. Opin. Crit. Care*. 13(2): 126-33, 2007.

260. Struchiner, C.J., Martins-Ferreira, H.(1976) Liberação de K<sup>+</sup> na retina de pinto (*Gallus gallus*) durante a depressão alastrante. *Supl.Cienc.Cult.*.28(7), 1976.
261. Sugaya, E., Takato, M., Noda, Y. Spreading depression under the effect of tetrodotoxine. *J Physiol Soc Japan.* 33:591-592, 1971.
262. Sugaya, E., Takato, M., Noda, Y. Neuronal and glial activity during spreading depression in cerebral cortex of cat. *J.Neurophysiol.* 38:822-841, 1975.
263. Szerb, J.C., Hadházy, P., Dudar, J.D. Effect of elevated potassium ion concentration on the electrically evoked release of [3H]-acetylcholine in slices of rat hippocampus. *Neuroscience.* 3:427-434, 1978.
264. Tfelt-Hansen, P., Welch, K.M.A. General principles of pharmacologic treatment. In: Oleson J., Tfelt-Hansen P., Welsh K.M.A., (eds.) *The Headaches.*New York, NY:Raven Press:299-303, 1993.
265. Tomita, T. Spreading depression potential (SDP) in the frog retina. *An.Acad.Bras.Ci.*56 (4):505-518, 1984.
266. Van Harreveld, A. Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortex activity and contraction of crustacean muscle. *J. Neurochem.* 3:300-315, 1959.
267. Van Harreveld, A., Fifková, E. Glutamate release from the retina during spreading depression. *J.Neurobiol.* 2:13-29, 1970.
268. Van Harreveld, A., Khattab, F.I. Changes in cortical extracellular space during spreading depression investigated with the electron microscope. *J. Neurophysiol.*30:911-929, 1967.
269. Van Harreveld, A., Ochs, J. Electrical and vascular concomitants of spreading depression. *Am.J.Physiol.*189:159-166, 1957.

270. Van Harreveld, A., Schadé, J.P. Chloride movements in cerebral cortex after circulatory arrest and during spreading depression. *J.Cell.Comp.Physiol.* 54:65-84,1959.
271. Van Harreveld, A., Stamm, J.S. Vascular concomitants of spreading cortical depression. *J.Neurophysiol.* 15:487-496, 1952.
272. Van Harreveld, A., Stamm, J.S. Spreading cortical convulsions and depressions. *J.Neurophysiol.* 26:352-366, 1953.
273. Veech, R.L., Lawson, J.W.R., Cornell, N.W. , Krebs, H.A. Cytosolic phosphorylation potential. *J.Biol.Chem.* 254:6538-6547, 1977.
274. Vercesi, A., Martins-Ferreira, H. Oxygen and glucose requirements in chick retinal spreading depression. *An.Acad.Bras.Ci.* 55:309-316, 1983.
275. Victor, M., Ropper, A.H. Epilepsy and other seizures disorders. In : *Principles of Neurology* . McGraw-Hill,2005.pp 271 – 301.
276. Victor, S., Ryan, S.W. Drugs for preventing migraine headaches in children.*Cochrane Database Syst Rev.* 4:CD002761, 2003.
277. Vyskocil, F., Kriz, N., Bůres, J. Potassium-selective microelectrodes used for measuring the extracellular brain potassium during spreading depression and anoxic depolarization in rats. *Brain Res.* 39:255-259, 1972.
278. Young, A.B., Chu, D. Distribution of GABA receptors in Mammalian brain: potential targets for drug development. *Drug Dev.Res.* 21:161-67,1990.
279. Walz, W. Swelling and potassium uptake in cultured astrocytes. *Can.J.Physiol.PHarmacol.* 65:1051-1057, 1987.
280. Wang, S.J, Huang, C.C., Hsu, K.S. Presynaptic inhibition of excitatory neurotransmission by lamotrigine in the rat amygdalas neurons. *Synapse.* 3: 248-55, 1996.
281. Welch, K.M.A. Migraine – A biobehavioral disorder. *Arch. Neurol.* 44:323-327,1987.

282. Wessely, P., Boumgartner, C., Klingler, D. e cols. Preliminary results of a double-blind study with the new migraine prophylactic drug Gabapentin. *Cephalalgia*. 7(6):477-478, 1987.
283. White, H.S., Brown, S.D., Woodhead, J.H., Skeen, G.A. Topiramate enhances GABA-mediated chloride flux and GABA-evoked chloride currents in murine brain neurons and increases seizure threshold. *Epilepsy Res.* 28:167-169, 1997.
284. Wiedemann, M., Lima, V.M., Hanke, W. Effects of antimigraine drugs on retinal spreading depression. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 353(5):552-6, 1996.
285. Wilkinson, M. The spreading depression of Leão – is it relevant to migraine? In: *The prelude to the migraine attack*. Amery, W.K. & Wauquier A. (eds.) Baillière Tindal. London. 142-149, 1996.
286. Willmore, L.J., Abelson, M.B., Ben-Menachem, E., Pellock, J.M., Shields, W.D. Vigabatrin: 2008 update. *Epilepsia*. 50(2):163 – 73, 2009.
287. Wong, E.K.J. Changes in impedance and phase angle in the cerebral cortex during spreading depression. *Acta. Physiol. Latino Amer.* 19:63-66, 1978.
288. Wolff, H.J. *Headache and other head pain*. Oxford University Press, New York. 1:684-688, 1963.
289. Woods, R.P., Iacobini, M., Mazziotta, J.C. Bilateral spreading cerebral hypoperfusion during spontaneous migraine headache. *N. Engl. J. Med.* 331:1689-1692, 1994.
290. Wu, J.Y., Brandon, C., Su, Y.Y.T., Lam, D.M.K. Immunocytochemical and autoradiographic localization of GABA system in the vertebrate retina. *Mol. Cell. Biochem.* 39:229-238, 1981.
291. Yacubian, E.M.T. *Tratamento Medicamentoso das Epilepsias*. Editorial Lemos, São Paulo, 1999.

292. Yasui-Furukori, N., Saito, M., Nakagami, T., Niioka, T., Sato, Y., Fuji, A., Kaneko, S. Different Serum Concentration of steady-state Valproic Acid and Divalproex in two sustained-release formulations. *Psychiatry.Clin.Neurosci.*61 (3):308-12, 2007.
293. Zacharová, D., Zachar, J. Initiation of spreading cortical depression by local cooling of the cerebral cortex. *Physiol.Bohemoslov.* 10:332-340, 1961.
294. Zacharová, D., Zachar, J. Comparative aspects of spreading cortical depression. *Biologia.* 21:794-880, 1966. Apud. Bűres e cols., 1974.

## X- APÊNDICE

### APÊNDICE I

#### Histórico do fenômeno

A descoberta do fenômeno da depressão alastrante (DA) foi concretizada em função dos trabalhos do Prof. Aristides Leão, ainda em *Harvard* (Leão, 1944a; Leão, 1944b; e Morrison, 1945) e, subsequentemente no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (Leão, 1947, 1951; Leão e Martins-Ferreira, 1953).

A partir de 1944, o fenômeno da depressão alastrante (DA) vem despertando a atenção de neurofisiologistas e neurologistas, não somente pelas peculiaridades que o distingue de outros fenômenos do tecido nervoso, mas, também, por suas relações com as epilepsias. Marshall (1959) no final da década de 50 referia-se a DA seguinte maneira: “*spreading depression is a unique and deceptive phenomenon which has confused experiments on the physiology of cerebral cortex for many years*”. O Prof. Aristides Leão (1972) no capítulo sobre DA, em um livro sobre modelos experimentais de epilepsia, ao tratar da atividade elétrica dos neurônios durante a reação, veio a se expressar da seguinte maneira: “*The foregoing and other observations provide evidence which, treated as a whole, is sufficient to establish that fundamentally related mechanisms operate in spreading depression and cortical seizures marches*”.

De acordo com Carlos Chagas Filho, fundador do IBFCCF, a descoberta da DA e a importância de seu descobridor atravessaram o globo (Chagas Filho, 1994). De fato, a DA teve repercussão mundial, atraindo a atenção da comunidade internacional de neurofisiologistas. A repercussão de caráter internacional da DA parece ter sido fortalecida, segundo Büres (1994), por modificar a crença, já àquela época muito popular, de que a atividade cerebral não

era devida apenas aos impulsos nervosos, mas, também, aos campos elétricos e gradientes metabólicos.

Em função destes fatos o IBCCF foi visitado por vários cientistas (Chagas Filho, 1994) entre estes citamos Jan Bures, do *Laboratory of Neurophysiology of Memory, Institute of Physiology of Sciences of the Czech Republic* o qual relatou esse acontecimento em depoimento regado de emoções e pleno de relatos científicos (Bures, 1994) e Wade H, Marshall, do *Laboratory of Neurophysiology – National Institutes of Mental Health and Neurological Diseases and Blindness, National Institutes of Health (NIH-EUA)* com o objetivo de conhecer melhor a DA antes de escrever seu importante trabalho de revisão sobre esse assunto (Marshall, 1959). Podemos citar, também, Kenneth S, Cole (EUA), diretor do então recém criado *Institute of Biophysics and Radiology – Chicago University*, ao final da segunda grande guerra, como consequência dos estudos realizados naquela Universidade, sobre o Projeto Manhattan. O Prof. Cole foi orientador do até então jovem Prof, Leão a respeito da impedância em estruturas animais (Leão e Martins-Ferreira, 1953).

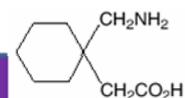
Os primeiros colaboradores de Aristides Leão formaram, com este o chamado internacionalmente *Grupo do Rio*, Desse grupo participaram: Hiss Martins-Ferreira, primeiro colaborador do Prof. Leão e que se orgulha de ter sido Investigador Associado nos projetos de pesquisa agraciados com auxílio do *Health, Education, and Welfare*, do *NIH*, tendo se transformado em talento indiscutível em relação à DA (Martins-Ferreira, 1983); Romualdo José do Carmo que além de competência em DA, demonstrava habilidade técnica indiscutível na criatividade de técnicas e aparatos para o estudo do fenômeno (Do Carmo e Martins-Ferreira, 1984); Gustavo de Oliveira Castro que veio a se preocupar com a inclusão da DA no contexto das reações orgânicas (Martins-Ferreira e Oliveira-Castro, 1966; Oliveira-Castro e Martins-Ferreira, 1970) e Ilka Alonso, assistente de histologia dos mesmos projetos de pesquisa supracitados.

Em 1992, Aristides Leão foi comunicado pelo *Institute for Scientific Information*®, *Inc.* (*ISI*®), de que seu trabalho descrevendo o descobrimento da DA à comunidade científica (Leão, 1944b) foi identificado pelo *Science Citation Index*® (*SCI*®) como sendo um clássico visto que atingiu alto nível de citação (mais de quinhentas e sessenta e cinco – 565 - vezes) (*Current Contents*, v,35, n,38, 1992).

## APÊNDICE II

Tabela 20: Resultados da Fase II.

### Resultados - Gabapentina:



- Experiências em DA (Depressão Alastrante), Parâmetros analisados nesta fase do experimento: Dose X variação de velocidade da DA e Dose X amplitude da DA.
- Ringer Básico definido para o experimento: (NaCl 100; KCL 3; MgSO4 1; NAHCO3 30; NaH2PO4 1; CaCl2 1; glicose 15).
- Foram feitas ao todo 19 experimentos válidos com a droga Gabapentina.
- Todos os experimentos com a droga em questão foram feitos com confete clássico (padrão escolhido para o trabalho).

Experiência 01 : 22/07/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,4	4,9	4,9	4,9	MÉDIA +/- DP :	4,76 0,25
	Amplitude ( MV):	17,5	17,5	16,5	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,30 0,50
60 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,4	4,2	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,20 0,14
	Amplitude (mV):	17	17,1	17,2	17	MÉDIA +/- DP :	17,07 0,10
120micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,5	4,2,	4,2	4	MÉDIA +/- DP :	4,22 0,25
	Amplitude (mV) :	17,2	17	16,8	16,2	MÉDIA +/- DP :	16,80 0,43
240 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4	4	3,9	MEDIA +/- DP :	4,00 0,08
	Amplitude ( mV) :	16,8	16,7	16,1	15,8	MÉDIA +/- DP :	16,35 0,48
480 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,6	3,5	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,50 0,14
	Amplitude(mV):	16	15,9	15,6	15,5	MÉDIA +/- DP :	15,75 0,24
960 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,3	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,32 0,17
	Amplitude (mV):	15	14,7	14,5	14,5	MÉDIA +/- DP :	14,67 0,24
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,3	3,7	3,8	4,2	MÉDIA +/- DP :	3,75 0,37
	Amplitude (mV) :	14,7	15,3	15,5	16	MÉDIA +/- DP :	15,37 0,54

Experiência 02 : 25/07/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5	4,6	4,6	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,67 0,22
	Amplitude (mV):	18,7	18	18,5	18	MÉDIA +/- DP :	18,30 0,36
60 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,4	4,4	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,33 0,17
	Amplitude (mV):	19,2	18,5	18	17	MÉDIA +/- DP :	18,17 0,93
120micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,3	4,1	4,1	4,0,	MÉDIA +/- DP :	4,12 0,12
	Amplitude (mV):	17,7	17,5	17	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,25 0,42
240 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,1	3,9	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,92 0,13
	Amplitude (mV):	17	16,5	16,2	15,8	MÉDIA +/- DP :	16,38 0,51
480 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,9	3,9	3,7	3,5	MÉDIA +/- DP :	3,75 0,19
	Amplitude (mV):	16,1	15,9	15,4	14,9	MÉDIA +/- DP :	15,58 0,54
960 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,7	3,4	3,4	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,45 0,17
	Amplitude (mV):	14,8	14,7	14,5	14,4	MÉDIA +/- DP :	14,60 0,18
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,9	4,1	4,1	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,12 0,21
	Amplitude (mV):	14	14,6	15,3	16	MÉDIA +/- DP :	14,73 0,87

Experiência 03 : 26/07/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	4,6	4,9	4,9	5	MÉDIA +/- DP :	4,85 0,17
	Amplitude (mV):	18,5	18,5	18,5	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,55 0,10
60 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,3	4,1	4	MÉDIA +/- DP :	4,23 0,22
	Amplitude (mV):	18,5	17,5	17	16,5	MÉDIA +/- DP :	17,37 0,85
120micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,1	4,1	4	4	MÉDIA +/- DP :	4,05 0,06
	Amplitude (mV):	17,5	17,3	17,1	17,1	MÉDIA +/- DP :	17,25 0,19
240 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4	3,9	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,90 0,08
	Amplitude (mV):	17	16,6	16,2	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,48 0,41
480 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,4	3,3	3,3	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,28 0,13
	Amplitude (mV):	15,8	15,5	15,3	15,2	MÉDIA +/- DP :	15,45 0,26
960 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,2	3,3	3,3	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,18 0,19
	Amplitude (mV):	15,2	14,9	14,6	14,5	MÉDIA +/- DP :	14,80 0,32
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,4	3,6	3,7	4	MÉDIA +/- DP :	3,68 0,25
	Amplitude (mV):	15,6	16	16,5	16,8	MÉDIA +/- DP :	16,22 0,53

Experiência 04 : 01/08/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	4,7	4,7	4,6	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,62 0,10
	Amplitude (mV):	19,5	19	18,5	18,5	MÉDIA +/- DP :	18,88 0,48
60 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,5	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,48 0,17
	Amplitude (mV):	19	18	17,5	17	MÉDIA +/- DP :	17,88 0,85
120micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,2	4,1	4	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,05 0,13
	Amplitude (mV):	17,5	17,5	17,2	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,25 0,33
240 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4	3,9	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,90 0,08
	Amplitude (mV):	16,9	16,5	16,3	15,8	MÉDIA +/- DP :	16,38 0,46
480 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,7	3,6	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,53 0,22
	Amplitude (mV):	15,9	15,8	15,4	15,1	MÉDIA +/- DP :	15,56 0,37
960 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,5	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,35 0,24
	Amplitude (mV):	14,9	14,5	14,4	14,4	MÉDIA +/- DP :	14,55 0,24
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,5	3,7	3,9	4,5	MÉDIA +/- DP :	3,90 0,43
	Amplitude (mV):	14	14,6	15,5	16	MÉDIA +/- DP :	15,03 0,90

Experiência 05: 05/08/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	4,8	5	5	5	MÉDIA +/- DP :	4,95 0,10
	Amplitude (mV):	19,7	18	18	18	MÉDIA +/- DP :	18,42 0,85
60 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,5	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,60 0,15
	Amplitude (mV):	19,2	19,5	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,63 0,85
120micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,4	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,40 0,08
	Amplitude (mV):	18	18	17,9	17,8	MÉDIA +/- DP :	17,93 0,10
240 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,1	4,1	4	MÉDIA +/- DP :	4,08 0,22
	Amplitude (mV):	18	17,8	17,6	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,73 0,22
480 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,1	3,9	3,9	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,90 0,16
	Amplitude (mV):	16,8	16,8	16,6	16,4	MÉDIA +/- DP :	16,67 0,19
960 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,7	3,5	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,45 0,19
	Amplitude (mV):	15,4	15,3	15,2	15,2	MÉDIA +/- DP :	15,03 0,10
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,5	4,3	4,5	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,27 0,56
	Amplitude (mV):	17,2	17,7	17,8	18	MÉDIA +/- DP :	17,68 0,34

Experiência 06 : 31/08/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,5	5,5	5,6	5,4	MÉDIA +/- DP :	5,50 0,08
	Amplitude (mV):	19,2	18,5	18	18	MÉDIA +/- DP :	18,43 0,57
60 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5,3	5,9	5,1	5	MÉDIA +/- DP :	5,33 0,40
	Amplitude (mV):	19,2	19,8	18,5	18,7	MÉDIA +/- DP :	19,05 0,58
120micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,6	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,68 0,10
	Amplitude (mV):	17,5	17	16,9	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,03 0,34
240 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,9	4,7	4,5	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,65 0,19
	Amplitude (mV):	17	16,6	16,2	15,8	MÉDIA +/- DP :	16,40 0,52
480 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,4	4,2	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,25 0,26
	Amplitude (mV):	15	15	14,9	14,9	MÉDIA +/- DP :	14,95 0,06
960 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4	3,8	3,7	3,5	MÉDIA +/- DP :	3,75 0,21
	Amplitude (mV):	14,5	14	13,5	13,4	MÉDIA +/- DP :	13,85 0,51
Rbi:	Velocidade (mm/min):	4	4,5	4,7	5	MÉDIA +/- DP :	4,55 0,42
	Amplitude (mV):	14	14,9	16,8	17,5	MÉDIA +/- DP :	15,80 1,63

Experiência 07 : 21/10/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,3	5,2	5,2	5,2	MÉDIA +/- DP :	5,22 0,05
	Amplitude (mV):	20	19,6	19,2	18,2	MÉDIA +/- DP :	19,25 0,77
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,6	4,4	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,45 0,19
	Amplitude (mV):	17,7	17,5	17,4	17,2	MÉDIA +/- DP :	17,45 0,21
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,5	4,2	4	MÉDIA +/- DP :	4,30 0,24
	Amplitude (mV):	17,7	17	16,9	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,07 0,43
140micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,4	4,4	4,1	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,20 0,24
	Amplitude (mV):	17	17,5	16	15,8	MÉDIA +/- DP :	16,57 0,81
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,1	4,1	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,97 0,15
	Amplitude (mV):	16	16	15,8	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,85 0,19
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,4	3,9	3,8	3,6	MÉDIA +/- DP :	3,92 0,34
	Amplitude (mV):	15	14,5	14,2	14	MÉDIA +/- DP :	14,42 0,43
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,5	3,4	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,30 0,18
	Amplitude (mV):	14,5	14	14,8	13,8	MÉDIA +/- DP :	14,27 0,46
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,9	4,1	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,10 0,51
	Amplitude (mV):	14,3	15	15,9	16,4	MÉDIA +/- DP :	15,40 0,93

Experiência 08: 23/10/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,1	5,1	5	5,1	MÉDIA +/- DP :	5,08 0,05
	Amplitude (mV):	22	20	20	20,5	MÉDIA +/- DP :	20,63 0,95
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5,1	5,1	5	4,8	MÉDIA +/- DP :	5,00 0,14
	Amplitude (mV):	19,5	19	18,5	18,1	MÉDIA +/- DP :	18,78 0,61
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,6	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,58 0,13
	Amplitude (mV):	18	18	17,8	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,85 0,19
140micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,3	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,48 0,21
	Amplitude (mV):	17,5	17,5	17,2	17	MÉDIA +/- DP :	17,30 0,24
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,3	4,1	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,20 0,26
	Amplitude (mV):	16,2	15,7	15,6	15,5	MÉDIA +/- DP :	15,75 0,31
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,8	3,8	3,6	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,65 0,19
	Amplitude (mV):	15	14,7	14,5	14,2	MÉDIA +/- DP :	14,60 0,34
1120 micromolares	Velocidade (mm/min):	3,4	3,4	3,2	2,8	MÉDIA +/- DP :	3,20 0,28
	Amplitude (mV):	14,3	14,1	13,9	13,8	MÉDIA +/- DP :	14,03 0,22
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,7	4,1	4,5	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,25 0,44
	Amplitude (mV):	14,8	15,4	16,5	17	MÉDIA +/- DP :	15,93 1,00

Experiência 09 : 24/10/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,1	4,9	4,9	5	MÉDIA +/- DP :	4,98 0,10
	Amplitude (mV):	19,8	19,5	19,7	20	MÉDIA +/- DP :	19,75 0,21
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,83 0,10
	Amplitude (mV):	19	18,8	18,8	18,6	MÉDIA +/- DP :	18,80 0,16
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,50 0,18
	Amplitude (mV):	17,8	17,7	17,6	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,68 0,10
140micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,5	4,3	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,40 0,26
	Amplitude (mV):	17,1	16,7	16,4	16,1	MÉDIA +/- DP :	17,68 0,43
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,2	4,1	4,1	4	MÉDIA +/- DP :	4,10 0,08
	Amplitude (mV):	16,2	16	16	15,8	MÉDIA +/- DP :	16,00 0,16
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,1	4	3,8	3,6	MÉDIA +/- DP :	3,88 0,22
	Amplitude (mV):	15,5	15,3	15	14,9	MÉDIA +/- DP :	15,18 0,28
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,3	3	2,8	MÉDIA +/- DP :	3,18 0,35
	Amplitude (mV):	15	14,6	14	13,7	MÉDIA +/- DP :	14,33 0,59
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,8	4,2	4,5	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,33 0,43
	Amplitude (mV):	14,8	15,6	16,4	16,8	MÉDIA +/- DP :	15,90 0,89

Experiência 10 : 25/10/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,3	5,1	5,1	5	MÉDIA +/- DP :	5,1 0,13
	Amplitude (mV):	19,7	19,2	19	19	MÉDIA +/- DP :	19,22 0,33
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5	5,1	4,9	4,9	MÉDIA +/- DP :	4,97 0,10
	Amplitude (mV):	18,7	18,7	18,4	18,2	MÉDIA +/- DP :	18,5 0,24
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,3	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,47 0,21
	Amplitude (mV):	17,2	17	16,5	16,3	MÉDIA +/- DP :	16,75 0,42
140micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,4	4,5	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,3 0,18
	Amplitude (mV):	16,8	16,8	16,4	16	MÉDIA +/- DP :	16,5 0,38
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,4	4,4	4	3,8	MÉDIA +/- DP :	4,15 0,30
	Amplitude (mV):	16	15,8	15,8	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,80 0,16
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,3	3,8	3,7	3,5	MÉDIA +/- DP :	3,83 0,34
	Amplitude (mV):	15,7	15,1	14,7	14,5	MÉDIA +/- DP :	15,00 0,53
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,5	3,3	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,38 0,22
	Amplitude (mV):	14,5	14,1	13,8	13,6	MÉDIA +/- DP :	14,00 0,39
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,8	4,3	4,8	5,1	MÉDIA +/- DP :	4,50 0,57
	Amplitude (mV):	15,3	15,7	16,7	17,9	MEDIA +/- DP :	16,40 1,16

Experiência 11 : 30/10/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,8	5,4	5,3	5,1	MÉDIA +/- DP :	5,40 0,29
	Amplitude (mV):	20,1	19,1	19	19	MÉDIA +/- DP :	19,30 0,54
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5,1	4,9	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,88 0,17
	Amplitude (mV):	19	18,8	18,6	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,68 0,30
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,5	4,4	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,425 0,17
	Amplitude (mV):	18,2	17,4	17	16,9	MÉDIA +/- DP :	17,38 0,59
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,4	4	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	4,03 0,26
	Amplitude (mV):	16,8	16,2	16	15,9	MÉDIA +/- DP :	16,23 0,40
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,5	3,5	3,4	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,38 0,19
	Amplitude (mV):	16,3	15,9	15,3	15	MÉDIA +/- DP :	15,63 0,46
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,2	2,9	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,93 0,19
	Amplitude (mV):	14,5	14	13,8	13,6	MÉDIA +/- DP :	13,98 0,39
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3	2,8	2,7	BLQ	MÉDIA +/- DP :	2,83/blq 0,15
	Amplitude (mV):	14,4	14	13,9	BLQ	MÉDIA +/- DP :	14,10/blq 0,26
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,4	3,8	4,4	4,9	MÉDIA +/- DP :	4,13 0,66
	Amplitude (mV):	15,6	16,2	17	18,1	MÉDIA +/- DP :	16,73 1,08

Experiência 12: 1/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	4,9	5,1	5,1	5	MÉDIA +/- DP :	5,03 0,10
	Amplitude (mV):	22	21,5	21	20,6	MÉDIA +/- DP :	21,28 0,61
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5	4,9	4,9	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,85 0,17
	Amplitude (mV):	20,5	20,5	19	18,6	MÉDIA +/- DP :	19,65 0,99
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,6	4,4	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,50 0,12
	Amplitude (mV):	19,1	18,8	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,43 0,62
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,5	4,2	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,28 0,29
	Amplitude (mV):	17,4	17,4	17,1	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,15 0,33
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,1	4,1	3,8	3,6	MÉDIA +/- DP :	3,90 0,24
	Amplitude (mV):	16,9	16,7	16,5	16,5	MÉDIA +/- DP :	16,65 0,19
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,8	3,4	3,1	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,35 0,33
	Amplitude (mV):	16,7	15,7	15,3	15,2	MÉDIA +/- DP :	15,73 0,68
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,5	3,2	3,1	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,18 0,25
	Amplitude (mV):	15,1	14,7	14,5	14	MÉDIA +/- DP :	14,58 0,46
RBI:	Velocidade (mm/min):	3,9	4,2	4,6	4,9	MEDIA +/- DP :	4,40 0,44
	Amplitude (mV):	16,6	16,9	17,6	17,9	MÉDIA +/- DP :	17,25 0,60

Experiência 13 : 04/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,1	5,1	4,8	4,9	MÉDIA +/- DP :	4,98 0,15
	Amplitude (mV):	20,5	21	19,9	20,2	MÉDIA +/- DP :	20,40 0,47
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5,1	4,8	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,85 0,17
	Amplitude (mV):	21	20,4	20	19,3	MÉDIA +/- DP :	20,18 0,71
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,5	4,4	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,48 0,25
	Amplitude (mV):	19	18,5	18,5	18,2	MÉDIA +/- DP :	18,55 0,33
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,7	4,4	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,48 0,29
	Amplitude (mV):	18	17,5	17,3	17	MÉDIA +/- DP :	17,45 0,42
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,2	3,9	3,7	MÉDIA +/- DP :	4,10 0,39
	Amplitude (mV):	17	16,7	16,5	16,4	MÉDIA +/- DP :	15,93 0,26
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,3	3,9	3,6	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,73 0,51
	Amplitude (mV):	16,5	15,7	15,5	15,1	MÉDIA +/- DP :	16,55 0,59
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,9	3,6	3,1	2,8	MÉDIA +/- DP :	3,35 0,49
	Amplitude (mV):	15	14,9	14,6	14,4	MÉDIA +/- DP :	14,65 0,28
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,8	4,6	4,7	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,48 0,46
	Amplitude (mV):	15,9	16,6	17	17,3	MÉDIA +/- DP :	16,70 0,61

Experiência 14 : 06/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5	5	5	4,9	MÉDIA +/- DP : 4,98	0,05
	Amplitude (mV):	19,8	19,6	19,5	19	MÉDIA +/- DP : 19,48	0,34
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	5	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,80	0,14
	Amplitude (mV):	19	19	18,6	18,5	MÉDIA +/- DP : 18,78	0,26
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,4	4,4	4,4	MÉDIA +/- DP : 4,45	0,10
	Amplitude (mV):	18	17,8	17,6	17,5	MÉDIA +/- DP : 17,73	0,22
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,4	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP : 4,33	0,22
	Amplitude (mV):	17,3	17	16,5	16,3	MÉDIA +/- DP : 16,78	0,46
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,9	3,7	3,7	3,5	MÉDIA +/- DP : 3,70	0,16
	Amplitude (mV):	16	15,7	15,5	15,3	MÉDIA +/- DP : 15,63	0,30
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,7	3,7	3,3	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,48	0,26
	Amplitude (mV):	15,2	15,2	14,7	14,5	MÉDIA +/- DP : 14,90	0,36
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,7	2,9	BLQ	BLQ	MÉDIA +/- DP : 3,30 blq	0,57
	Amplitude (mV):	14,9	14,4	BLQ	BLQ	MÉDIA +/- DP : 14,65 blq	0,35
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,8	4,2	4,4	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,28	0,38
	Amplitude (mV):	15,6	16,2	16,7	17,7	MÉDIA +/- DP : 16,55	0,89

Experiência 15 : 07/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,1	5,1	4,9	4,9	MÉDIA +/- DP : 5,00	0,12
	Amplitude (mV):	21	20	19,8	19,5	MÉDIA +/- DP : 20,08	0,65
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5	5	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,83	0,21
	Amplitude (mV):	20,3	19,7	19,1	18,9	MÉDIA +/- DP : 19,50	0,63
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,5	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP : 4,45	0,13
	Amplitude (mV):	19,2	18,4	18,4	18,1	MÉDIA +/- DP : 18,53	0,47
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,4	4,3	4,2	MÉDIA +/- DP : 4,40	0,22
	Amplitude (mV):	19	18,5	18,3	18,2	MÉDIA +/- DP : 18,50	0,36
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,2	4	4	3,9	MÉDIA +/- DP : 4,03	0,13
	Amplitude (mV):	18	17,7	17,5	17,3	MÉDIA +/- DP : 17,63	0,30
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,5	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP : 3,50	0,08
	Amplitude (mV):	16,7	16,4	16,5	16,2	MÉDIA +/- DP : 16,45	0,21
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3	2,8	2,8	BLQ	MÉDIA +/- DP : 2,87/blq	0,12
	Amplitude (mV):	15,8	15,3	15,1	BLQ	MÉDIA +/- DP : 15,40/blq	0,36
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,6	4,2	4,4	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,20	0,43
	Amplitude (mV):	16,5	17	17,6	17,9	MÉDIA +/- DP : 17,25	0,62

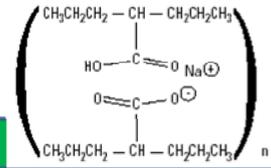
Experiência 16 : 11/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	4,9	4,8	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,78	0,10
	Amplitude (mV):	19,6	19,4	19,2	19,2	MÉDIA +/- DP : 19,75	0,19
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,4	4,4	4,2	MÉDIA +/- DP : 4,38	0,13
	Amplitude (mV):	19,2	18,8	18,7	18,5	MÉDIA +/- DP : 18,80	0,29
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4	4,2	4	3,9	MÉDIA +/- DP : 4,03	0,13
	Amplitude (mV):	18,5	18,4	18,1	18	MÉDIA +/- DP : 18,25	0,24
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,9	3,7	3,7	3,6	MÉDIA +/- DP : 3,73	0,13
	Amplitude (mV):	17,9	17,6	17,6	17,4	MÉDIA +/- DP : 17,48	0,21
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,5	3,4	3,4	MÉDIA +/- DP : 3,48	0,10
	Amplitude (mV):	17,5	17,4	17,4	17,2	MÉDIA +/- DP : 17,38	0,13
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,4	3,3	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,28	0,10
	Amplitude (mV):	17,5	17	17	16,8	MÉDIA +/- DP : 17,08	0,30
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,2	3	2,8	BLQ	MÉDIA +/- DP : 3,0 blq	0,20
	Amplitude (mV):	15,7	15,4	14,9	BLQ	MÉDIA +/- DP : 15,33 blq	0,40
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,4	3,8	4	4,4	MÉDIA +/- DP : 3,90	0,42
	Amplitude (mV):	16,5	16,8	17,2	17,8	MÉDIA +/- DP : 17,08	0,56

Experiência 17 : 16/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,1	5,1	5	5	MÉDIA +/- DP : 5,05	0,06
	Amplitude (mV):	20	20,3	19,9	19,9	MÉDIA +/- DP : 20,03	0,19
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5	4,8	4,8	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,80	0,16
	Amplitude (mV):	20,2	20	19,8	19,6	MÉDIA +/- DP : 19,90	0,26
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,5	4,4	4,4	MÉDIA +/- DP : 4,48	0,10
	Amplitude (mV):	19,5	18,8	18,6	18,3	MÉDIA +/- DP : 18,80	0,51
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,4	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP : 4,30	0,24
	Amplitude (mV):	18,2	17,8	17,6	17,5	MÉDIA +/- DP : 17,78	0,31
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,2	4,1	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP : 4,00	0,18
	Amplitude (mV):	17,4	17,1	16,7	16,5	MÉDIA +/- DP : 16,93	0,40
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,9	3,9	3,7	3,5	MÉDIA +/- DP : 3,75	0,19
	Amplitude (mV):	16,6	16,4	16	15,8	MÉDIA +/- DP : 16,20	0,37
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,7	3,5	3,5	3,3	MÉDIA +/- DP : 3,50	0,16
	Amplitude (mV):	15,5	15,3	15,2	14,8	MÉDIA +/- DP : 15,20	0,29
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,9	4,2	4,7	4,9	MÉDIA +/- DP : 4,43	0,46
	Amplitude (mV):	16,3	16,8	17,6	18,3	MÉDIA +/- DP : 17,25	0,88

Experiência 18 : 17/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	4,9	5	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP : 4,48	0,10
	Amplitude (mV):	21	21	20,5	20,3	MÉDIA +/- DP : 20,07	0,36
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,5	4,3	MÉDIA +/- DP : 4,53	0,17
	Amplitude (mV):	20	19,5	19,5	19,3	MÉDIA +/- DP : 19,58	0,30
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,2	4,2	4,3	3,9	MÉDIA +/- DP : 4,15	0,17
	Amplitude (mV):	19,2	19	18,8	18,6	MÉDIA +/- DP : 18,90	0,26
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4	3,9	3,9	3,7	MÉDIA +/- DP : 3,88	0,13
	Amplitude (mV):	18,5	18,4	17,5	17,2	MÉDIA +/- DP : 17,90	0,65
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,7	3,6	3,6	3,5	MÉDIA +/- DP : 3,60	0,08
	Amplitude (mV):	17,5	17,3	16,8	16,6	MÉDIA +/- DP : 17,05	0,42
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,5	3,3	3,3	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,33	0,13
	Amplitude (mV):	16	15,7	15,4	15,2	MÉDIA +/- DP : 15,58	0,35
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3	2,8	BLQ	BLQ	MÉDIA +/- DP : 2,90 blq	0,14
	Amplitude (mV):	15	14,8	BLQ	BLQ	MÉDIA +/- DP : 14,90 blq	0,14
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3	3,4	3,9	4,1	MÉDIA +/- DP : 3,60	0,50
	Amplitude (mV):	14,8	15,3	16,8	17,5	MÉDIA +/- DP : 16,10	1,26

Experiência 19 : 18/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade (mm/min):	5,1	5	5	4,8	MÉDIA +/- DP : 4,98	0,13
	Amplitude (mV):	21	20,5	20,3	20,2	MÉDIA +/- DP : 20,50	0,36
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,6	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,68	0,10
	Amplitude (mV):	20	19,7	19,7	19,5	MÉDIA +/- DP : 19,73	0,21
70 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,3	4,1	4	MÉDIA +/- DP : 4,23	0,22
	Amplitude (mV):	19,3	19,1	18,7	18,5	MÉDIA +/- DP : 18,90	0,37
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,1	4	3,9	3,9	MÉDIA +/- DP : 3,98	0,10
	Amplitude (mV):	17,9	17,7	17,7	17,8	MÉDIA +/- DP : 17,77	0,10
280 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,9	3,8	3,6	3,6	MÉDIA +/- DP : 3,73	0,15
	Amplitude (mV):	17,7	17,5	17,3	17,3	MÉDIA +/- DP : 17,45	0,19
560 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,8	3,5	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP : 3,55	0,17
	Amplitude (mV):	17,3	17	16,9	16,6	MÉDIA +/- DP : 17,03	0,29
1120 micromolares:	Velocidade (mm/min):	3,5	3,3	3,2	3	MÉDIA +/- DP : 3,25	0,21
	Amplitude (mV):	15,7	15,4	15,2	15	MÉDIA +/- DP : 15,32	0,30
Rbi:	Velocidade (mm/min):	3,6	3,9	4,4	4,6	MEDIA +/- DP : 4,13	0,46
	Amplitude (mV):	16,4	16,9	17,9	18,6	MÉDIA +/- DP : 17,45	0,99

## Resultados - Divalproato :



- Experiências em DA (Depressão Alastrante), Parâmetros analisados nesta fase do experimento: Dose X variação de velocidade da DA e Dose X variação da amplitude da DA.
- Nesta fase foram feitos 26 experimentos válidos.
- Ringer Básico definido para o experimento: (NaCl 100; KCL 3; MgSO4 1; NAHCO3 30; NaH2PO4 1; CaCl2 1; glicose 15).
- Todos os experimentos com a droga em questão foram feitos com confete clássico (padrão escolhido para o trabalho).

Experiência 01 : 15/08/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,8	4,8	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,73	0,10
	Amplitude ( MV):	20,6	20,2	19,8	19,5	MÉDIA +/- DP :	20,03	0,48
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,4	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,33	0,22
	Amplitude (mV):	19,3	19	18,7	18,5	MÉDIA +/- DP :	18,88	0,35
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,1	4	3,8	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,93	0,15
	Amplitude (mV) :	18,2	18	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18	0,16
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,7	3,7	3,5	MÉDIA +/- DP :	3,68	0,13
	Amplitude ( mV) :	17,3	17	16,8	16,6	MÉDIA +/- DP :	16,93	0,30
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,38	0,10
	Amplitude(mV):	16,3	16,2	16,2	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,2	0,08
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,1	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,13	0,13
	Amplitude(mV):	16	16	15,8	15,7	MÉDIA +/- DP :	15,88	0,15
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,9	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,9	0,08
	Amplitude(mV):	15,5	15,2	14,9	14,7	MÉDIA +/- DP :	15,08	0,35
7 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,5	2,4	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,48	0,10
	Amplitude(mV):	14,6	14,5	14,2	14	MÉDIA +/- DP :	14,33	0,28
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,6	3,9	4,1	MÉDIA +/- DP :	2,925	0,43
	Amplitude (mV):	16,3	16,8	17,2	18,2	MÉDIA +/- DP :	17,13	0,81

Experiência 02 : 16/08/2006

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5,1	5	4,9	MÉDIA +/- DP :	5,03	0,10
	Amplitude ( MV):	20,3	20	19,6	19,5	MÉDIA +/- DP :	19,85	0,37
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,6	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,53	0,22
	Amplitude (mV):	19,1	18,7	18,7	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,7	0,33
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,1	4,1	4	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,03	0,10
	Amplitude (mV) :	18,1	17,7	17,6	17,4	MÉDIA +/- DP :	17,7	0,29
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,8	3,7	3,6	MÉDIA +/- DP :	3,73	0,10
	Amplitude ( mV) :	17,1	17	16,6	16,5	MÉDIA +/- DP :	16,8	0,29
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,5	3,4	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,45	0,06
	Amplitude(mV):	16,4	16,3	16,3	16	MÉDIA +/- DP :	16,25	0,17
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,3	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,23	0,10
	Amplitude(mV):	16	15,8	15,8	15,5	MÉDIA +/- DP :	15,78	0,21
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,9	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,85	0,06
	Amplitude(mV):	15,5	15,3	15,1	15	MÉDIA +/- DP :	15,23	0,22
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,9	3,4	3,8	4,3	MÉDIA +/- DP :	3,6	0,59
	Amplitude (mV):	16	16,5	16,9	17,4	MÉDIA +/- DP :	16,7	0,59

Experiência 03 : 17/08/2006

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,8	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,78	0,10
	Amplitude ( MV):	20,5	20,2	20	19,8	MÉDIA +/- DP :	20,13	0,30
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,6	4,3	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,45	0,17
	Amplitude (mV):	19,5	19,1	18,7	18,5	MÉDIA +/- DP :	18,95	0,44
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,2	4,1	3,9	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,03	0,15
	Amplitude (mV) :	18,3	18,1	17,8	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,95	0,31
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,7	3,7	3,5	MÉDIA +/- DP :	3,68	0,13
	Amplitude ( mV) :	17,5	17,2	16,8	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,05	0,37
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,3	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,3	0,14
	Amplitude(mV):	16,5	16,1	16,1	16	MÉDIA +/- DP :	16,18	0,22
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	3	2,9	MÉDIA +/- DP :	3	0,08
	Amplitude(mV):	15,9	15,8	15,6	15,5	MÉDIA +/- DP :	15,7	0,18
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,8	2,6	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,7	0,18
	Amplitude(mV):	15,5	15,2	15,1	14,8	MÉDIA +/- DP :	15,15	0,21
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,6	3,9	4,2	MÉDIA +/- DP :	3,7	0,47
	Amplitude (mV):	16,2	16,7	16,9	17,2	MÉDIA +/- DP :	16,75	0,42

Experiência 04 : 10/09/2006

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,1	5,1	5	MÉDIA +/- DP :	5,1	0,08
	Amplitude ( MV):	21,5	21,2	20,5	20,3	MÉDIA +/- DP :	20,88	0,57
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,5	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,63	0,15
	Amplitude (mV):	19,8	19,5	19,1	18,8	MÉDIA +/- DP :	19,3	0,44
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,4	4,2	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,23	0,13
	Amplitude (mV) :	18,4	18,1	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,25
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4	3,9	3,7	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,83	0,15
	Amplitude ( mV) :	17,7	17,3	16,9	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,18	0,41
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,5	3,3	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,38	0,15
	Amplitude(mV):	16,6	16,3	16,3	16	MÉDIA +/- DP :	16,3	0,24
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3	3	3	2,9	MÉDIA +/- DP :	2,98	0,05
	Amplitude(mV):	15,8	15,8	15,7	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,68	0,19
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,7	2,5	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,63	0,15
	Amplitude(mV):	15,3	15,1	15,1	14,7	MÉDIA +/- DP :	15,05	0,12
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,9	3,4	3,8	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,55	0,52
	Amplitude (mV):	15,7	16,5	16,7	17,4	MÉDIA +/- DP :	16,58	0,70

Experiência 05 : 19/10/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	4,9	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,88 0,05
	Amplitude ( MV):	20,2	19,7	19,6	19,6	MÉDIA +/- DP :	19,78 0,29
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,6	4,5	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,53 0,10
	Amplitude (mV):	19,4	19,1	19,1	18,7	MÉDIA +/- DP :	19,08 0,29
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,3	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,2 0,12
	Amplitude (mV) :	18,5	18,3	18,1	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,18 0,30
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4	3,8	3,7	3,6	MÉDIA +/- DP :	3,78 0,17
	Amplitude ( mV) :	17,5	17,3	17	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,15 0,31
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,3	3,3	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,28 0,13
	Amplitude(mV):	16,5	16,4	16,1	16	MÉDIA +/- DP :	16,25 0,24
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,9	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,83 0,10
	Amplitude(mV):	15,7	15,7	15,5	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,58 0,15
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,6	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,53 0,10
	Amplitude(mV):	15,3	15,2	14,9	14,7	MÉDIA +/- DP :	15,03 0,21
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,8	3,2	3,8	4,3	MÉDIA +/- DP :	3,53 0,66
	Amplitude (mV):	15,6	16,3	16,9	17,6	MÉDIA +/- DP :	16,6 0,85

Experiência 06 : 20/10/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,1	5,1	5	MÉDIA +/- DP :	5,1 0,08
	Amplitude ( MV):	20,6	20,4	20	19,8	MÉDIA +/- DP :	20,2 0,37
100 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,73 0,05
	Amplitude (mV):	19,8	19,8	19,7	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,74 0,06
1 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,5	4,4	4,3	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,38 0,10
	Amplitude (mV) :	19,1	18,6	18,4	18	MÉDIA +/- DP :	18,53 0,46
2 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,2	4,2	4,1	4	MÉDIA +/- DP :	4,13 0,10
	Amplitude ( mV) :	18,3	18,3	18,1	17,9	MÉDIA +/- DP :	18,15 0,19
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,9	3,8	3,8	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,8 0,08
	Amplitude(mV):	17,4	17,2	17,1	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,1 0,29
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,2	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,13 0,10
	Amplitude(mV):	16,7	16,4	16,2	16	MÉDIA +/- DP :	16,33 0,30
5 milimolares	Velocidade ( mm/min):	3	2,8	2,8	2,6	MÉDIA +/- DP :	2,8 0,16
	Amplitude(mV):	15,8	15,6	15,4	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,55 0,19
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,5	2,4	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,43 0,10
	Amplitude(mV):	15,4	15,2	15,2	15,1	MÉDIA +/- DP :	15,23 0,13
10 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2	1,7	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP :	1,85 0,21
	Amplitude(mV):	14,1	13,7	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP :	13,9 0,28
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,9	3,4	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,15 0,57
	Amplitude (mV):	15,3	15,9	16,4	16,8	MÉDIA +/- DP :	16,1 0,65

Experiência 07 : 22/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5,1	5	5	MÉDIA +/- DP :	5,05 0,06
	Amplitude ( MV):	20,1	20	20	19,8	MÉDIA +/- DP :	19,98 0,13
7 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5,1	5	5	4,9	MÉDIA +/- DP :	5 0,08
	Amplitude (mV):	20	19,9	19,9	19,8	MÉDIA +/- DP :	19,9 0,08
70 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,85 0,06
	Amplitude (mV) :	19,8	19,8	19,7	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,75 0,06
140 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,8	4,8	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,75 0,06
	Amplitude ( mV) :	19,7	19,7	19,6	19,6	MÉDIA +/- DP :	19,65 0,06
Rbi	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	5	5,1	MÉDIA +/- DP :	4,98 0,10
	Amplitude(mV):	19,9	19,9	20	20,4	MÉDIA +/- DP :	20,05 0,24

Experiência 08 : 23/11/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,4	5,1	4,9	4,8	MÉDIA +/- DP :	5,05	0,26
	Amplitude ( MV):	20,5	20	19,8	19,8	MÉDIA +/- DP :	20,03	0,33
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,8	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,78	0,05
	Amplitude (mV):	19,8	19,8	19,8	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,78	0,06
280 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,7	4,7	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,7	0,00
	Amplitude (mV) :	19,7	19,6	19,6	19,6	MÉDIA +/- DP :	19,63	0,05
560 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,7	4,7	4,6	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,65	0,06
	Amplitude ( mV) :	19,6	19,5	19,5	19,4	MÉDIA +/- DP :	19,48	0,08
1,12 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,4	4,3	4,3	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,3	0,08
	Amplitude(mV):	19	19	18,9	18,8	MÉDIA +/- DP :	18,93	0,10
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	4,5	4,7	4,9	5	MÉDIA +/- DP :	4,78	0,22
	Amplitude(mV):	19	19,4	19,5	19,8	MÉDIA +/- DP :	19,43	0,33

Experiência 09 : 27/11/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,1	5	5	MÉDIA +/- DP :	5,08	0,10
	Amplitude ( MV): mV	20,1	20	19,9	19,9	MÉDIA +/- DP :	19,98	0,10
140 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,9	4,8	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,83	0,05
	Amplitude (mV):	19,8	19,7	19,7	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,73	0,05
280 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,8	4,8	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,75	0,06
	Amplitude (mV) :	19,7	19,7	19,6	19,6	MÉDIA +/- DP :	19,65	0,06
560 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,7	4,6	4,6	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,60	0,08
	Amplitude ( mV) :	19,6	19,6	19,5	19,5	MÉDIA +/- DP :	19,55	0,06
1,12 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,3	4,3	4,3	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,28	0,05
	Amplitude(mV):	19,2	19	19	18,8	MÉDIA +/- DP :	19	0,16
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	4,6	4,8	4,9	5,1	MÉDIA +/- DP :	4,85	0,21
	Amplitude(mV):	19,3	19,5	19,7	19,9	MÉDIA +/- DP :	19,60	0,26

Experiência 10 : 28/11/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,85	0,13
	Amplitude ( MV):	20,3	20	19,9	19,9	MÉDIA +/- DP :	20,03	0,19
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,5	4,5	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,5	0,08
	Amplitude (mV):	19,3	19,1	19	18,7	MÉDIA +/- DP :	19,03	0,25
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,3	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,23	0,10
	Amplitude (mV) :	18,5	18,5	18,3	18,2	MÉDIA +/- DP :	18,38	0,15
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4,1	4	4	MÉDIA +/- DP :	4,05	0,06
	Amplitude ( mV) :	18,1	18	18	17,9	MÉDIA +/- DP :	18	0,08
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,7	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,6	0,18
	Amplitude(mV):	17,7	17,5	17,3	17,1	MÉDIA +/- DP :	17,4	0,26
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,2	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,15	0,13
	Amplitude(mV):	17	16,7	16,6	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,6	0,37
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,8	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,8	0,08
	Amplitude(mV):	15,9	15,7	15,7	15,5	MÉDIA +/- DP :	15,7	0,12
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,7	3,9	4,5	MÉDIA +/- DP :	3,83	0,54
	Amplitude (mV):	15,8	16,3	16,8	17,7	MÉDIA +/- DP :	16,65	0,81

Experiência 11 : 30/11/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,3	5,3	<u>5,1</u>	5,1	MÉDIA +/- DP: 5,20	0,12
	Amplitude ( MV): mV	20,6	20,2	20	19,9	MÉDIA +/- DP: 20,18	0,31
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,5	4,4	MÉDIA +/- DP: 4,55	0,13
	Amplitude (mV):	19,3	19	18,9	18,7	MÉDIA +/- DP: 18,98	0,25
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,2	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP: 4,18	0,10
	Amplitude (mV) :	18,5	18,4	18,3	18,2	MÉDIA +/- DP: 18,35	0,13
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4	4	3,9	MÉDIA +/- DP: 4,	0,08
	Amplitude ( mV ) :	18,1	18	17,9	17,8	MÉDIA +/- DP: 17,95	0,13
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,4	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP: 3,33	0,22
	Amplitude(mV):	17,5	17,5	17,3	17	MÉDIA +/- DP: 17,33	0,24
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,9	2,8	MÉDIA +/- DP: 2,90	0,08
	Amplitude(mV):	16,8	16,5	16,3	16,1	MÉDIA +/- DP: 16,43	0,30
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,6	2,4	MÉDIA +/- DP: 2,58	0,13
	Amplitude(mV):	15,7	15,6	15,5	15,5,	MÉDIA +/- DP: 15,58	0,10
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,9	4,3	4,6	MÉDIA +/- DP: 4,05	0,52
	Amplitude (mV):	15,9	16,5	17,2	17,8	MÉDIA +/- DP: 16,85	0,83

Experiência 12 : 01/12/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5	<u>4,9</u>	4,9	MÉDIA +/- DP :	4,95 0,06
	Amplitude ( MV):	20,2	20	20	19,8	MÉDIA +/- DP :	20 0,16
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,5	4,5	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,53 0,13
	Amplitude (mV):	19,3	19	18,9	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,98 0,25
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,2	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,2 0,08
	Amplitude (mV) :	18,6	18,3	18,2	18,1	MÉDIA +/- DP :	18,3 0,22
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	3,9	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,93 0,13
	Amplitude ( mV ) :	18,1	17,9	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,83 0,22
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,4	3,1	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,25 0,17
	Amplitude(mV):	17,4	17,3	17,1	17	MÉDIA +/- DP :	17,2 0,18
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,9	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,83 0,10
	Amplitude(mV):	16,7	16,3	16,1	16	MÉDIA +/- DP :	16,28 0,31
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,5	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,5 0,08
	Amplitude(mV):	15,6	15,5	15,5	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,5 0,08
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,7	4,2	4,7	MÉDIA +/- DP :	3,95 0,65
	Amplitude (mV):	15,7	16,2	17	17,6	MÉDIA +/- DP :	16,63 0,84

Experiência 13 : 02/12/2006							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,9	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,9 0,08
	Amplitude ( MV):	20,1	20	19,9	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,93 0,17
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,5	4,5	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,48 0,05
	Amplitude (mV):	19,1	19,1	18,8	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,93, 0,21
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,4	4,2	4,2	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,25 0,10
	Amplitude (mV) :	18,6	18,5	18,3	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,43 0,15
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4	4	3,9	MÉDIA +/- DP :	4 0,08
	Amplitude ( mV ) :	18	18	17,9	17,9	MÉDIA +/- DP :	17,95 0,06
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,7	3,5	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,55 0,19
	Amplitude(mV):	17,7	17,6	17,4	17,3	MÉDIA +/- DP :	17,5 0,18
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,2	3	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,1 0,18
	Amplitude(mV):	17,1	16,8	16,6	16,4	MÉDIA +/- DP :	16,73 0,30
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,8	2,7	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,78 0,10
	Amplitude(mV):	16,2	16	15,7	15,7,	MÉDIA +/- DP :	15,9 0,25
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3	3,6	4,1	4,5	MÉDIA +/- DP :	3,8 0,65
	Amplitude (mV):	16,2	16,7	17,3	18	MÉDIA +/- DP :	17,05 0,78

Experiência 14 : 04/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,4	5,1	5,1	4,9	MÉDIA +/- DP :	5,13	0,21
	Amplitude ( MV):	20,5	20	19,8	19,7	MÉDIA +/- DP :	20	0,36
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,4	4,4	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,43	0,05
	Amplitude (mV):	19,4	19,2	19	18,9	MÉDIA +/- DP :	19,13,	0,22
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,2	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,18	0,10
	Amplitude (mV) :	18,8	18,6	18,4	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,53	0,22
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4	4	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,93	0,10
	Amplitude ( mV) :	18,2	18,1	17,9	17,8	MÉDIA +/- DP :	18	0,18
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,7	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,58	0,15
	Amplitude(mV):	17,6	17,5	17,5	17,4	MÉDIA +/- DP :	17,5	0,08
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,1	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,05	0,19
	Amplitude(mV):	17,3	17,1	16,8	16,5	MÉDIA +/- DP :	16,93	0,35
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,8	2,7	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,7	0,14
	Amplitude(mV):	16,4	16,2	15,8	15,7,	MÉDIA +/- DP :	16,03	0,31
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,9	3,4	3,9	4,6	MÉDIA +/- DP :	3,7	0,73
	Amplitude (mV):	16,4	16,9	17,4	17,7	MÉDIA +/- DP :	17,1	0,57

Experiência 15 : 07/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,3	5,1	5	5	MÉDIA +/- DP :	5,1	0,14
	Amplitude ( MV):	20,6	20,3	19,9	19,7	MÉDIA +/- DP :	20,13	0,40
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,5	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,58	0,10
	Amplitude (mV):	19,3	19,1	18,8	18,8	MÉDIA +/- DP :	19	0,24
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,1	4,1	3,9	MÉDIA +/- DP :	4,1	0,16
	Amplitude (mV) :	18,5	18,2	18,1	17,7	MÉDIA +/- DP :	18,13	0,33
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,7	3,7	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,73	0,05
	Amplitude ( mV) :	17,5	17,1	17	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,08	0,33
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,38	0,10
	Amplitude(mV):	16,4	16,2	16,1	16	MÉDIA +/- DP :	16,18	0,17
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP :	2,98	0,10
	Amplitude(mV):	15,8	15,5	15,5	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,55	0,17
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,5	2,5	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,48	0,13
	Amplitude(mV):	15,1	15	14,9	14,6,	MÉDIA +/- DP :	14,9	0,10
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,7	3,3	3,7	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,53	0,60
	Amplitude (mV):	15,5	16	16,9	17,5	MÉDIA +/- DP :	16,48	0,90

Experiência 16 : 08/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,4	5,2	5,1	5	MÉDIA +/- DP :	5,18	0,17
	Amplitude ( MV):	20,5	20,4	20,1	19,9	MÉDIA +/- DP :	20,23	0,28
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,6	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,6	0,08
	Amplitude (mV):	19,5	19,2	18,9	18,8	MÉDIA +/- DP :	19,1	0,32
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,2	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,2	0,08
	Amplitude (mV) :	18,4	18,1	18,1	17,7	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,29
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4	4	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,98	0,13
	Amplitude ( mV) :	17,5	17,3	17,2	16,9	MÉDIA +/- DP :	17,23	0,25
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,7	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,6	0,18
	Amplitude(mV):	16,7	16,5	16,3	16	MÉDIA +/- DP :	16,38	0,30
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,1	3	3	MÉDIA +/- DP :	3,1	0,14
	Amplitude(mV):	15,8	15,6	15,4	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,55	0,19
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,6	2,5	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,6	0,14
	Amplitude(mV):	15,1	14,9	14,7	14,6,	MÉDIA +/- DP :	14,83	0,20
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,9	3,4	3,8	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,53	0,52
	Amplitude (mV):	15,4	15,9	16,6	17,3	MÉDIA +/- DP :	16,3	0,83

Experiência 17 : 09/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,2	5,1	4,8	MÉDIA +/- DP :	5,08	0,19
	Amplitude ( MV):	20,2	20,1	19,9	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,98	0,22
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,4	4,4	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,4	0,16
	Amplitude (mV):	19,3	19,1	18,9	18,8	MÉDIA +/- DP :	19,03	0,22
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,2	4	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,98	0,17
	Amplitude (mV) :	18,6	18,2	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP :	18,1	0,39
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,7	3,6	3,6	MÉDIA +/- DP :	3,65	0,06
	Amplitude ( mV) :	17,5	17,4	17,2	17,1	MÉDIA +/- DP :	17,3	0,18
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,3	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,28	0,10
	Amplitude(mV):	16,8	16,6	16,3	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,45	0,31
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,9	0,18
	Amplitude(mV):	15,8	15,4	15,2	15,1	MÉDIA +/- DP :	15,38	0,31
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,5	2,4	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,48	0,10
	Amplitude(mV):	15	14,9	14,7	14,6	MÉDIA +/- DP :	14,8	0,15
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,8	3,5	3,9	4,3	MÉDIA +/- DP :	3,63	0,64
	Amplitude (mV):	15,3	16,2	16,9	17,5	MÉDIA +/- DP :	16,48	0,95

Experiência 18 : 11/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,85	0,06
	Amplitude ( MV):	19,9	19,9	19,8	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,83	0,10
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,5	4,5	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,48	0,13
	Amplitude (mV):	19,4	19,2	18,9	18,8	MÉDIA +/- DP :	19,08	0,28
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,2	4,1	4,1	3,8	MÉDIA +/- DP :	4,05	0,17
	Amplitude (mV) :	18,5	18,3	18,1	17,9	MÉDIA +/- DP :	18,2	0,26
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,8	3,7	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,75	0,06
	Amplitude ( mV) :	17,7	17,6	17,5	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,58	0,10
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,4	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,4	0,08
	Amplitude(mV):	17,2	16,9	16,8	16,5	MÉDIA +/- DP :	16,85	0,29
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,1	3	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,03	0,10
	Amplitude(mV):	16,2	16,2	15,9	15,7	MÉDIA +/- DP :	16	0,24
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,5	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,58	0,10
	Amplitude(mV):	15,4	15,2	15,1	14,9	MÉDIA +/- DP :	15,15	0,21
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,8	3,3	3,8	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,5	0,57
	Amplitude (mV):	15,5	16	16,7	17,2	MÉDIA +/- DP :	16,35	0,75

Experiência 19 : 13/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5	4,9	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,93	0,10
	Amplitude ( MV):	20,5	20,3	20,1	20,1	MÉDIA +/- DP :	20,25	0,19
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,68	0,13
	Amplitude (mV):	19,8	19,6	19,5	19,2	MÉDIA +/- DP :	19,53	0,25
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,4	4,3	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,23	0,15
	Amplitude (mV) :	18,8	18,7	18,5	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,58	0,22
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4	4	3,9	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,9	0,14
	Amplitude ( mV) :	18,1	17,9	17,6	17,4	MÉDIA +/- DP :	17,75	0,31
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,38	0,21
	Amplitude(mV):	17,2	17	16,6	16,5	MÉDIA +/- DP :	16,83	0,33
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,93	0,15
	Amplitude(mV):	16,3	16,1	15,8	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,95	0,31
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,7	2,6	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,63	0,10
	Amplitude(mV):	15,4	15,3	15,1	14,9	MÉDIA +/- DP :	15,18	0,15
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,6	3,9	4,3	MÉDIA +/- DP :	3,73	0,51
	Amplitude (mV):	15,9	16,3	16,7	17,5	MÉDIA +/- DP :	16,6	0,68

Experiência 20 : 14/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,9	0,14
	Amplitude ( MV):	20,6	19,9	19,8	19,8	MÉDIA +/- DP :	20,03	0,39
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,5	4,3	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,38	0,15
	Amplitude (mV):	19,2	19,1	18,8	18,8	MÉDIA +/- DP :	18,98	0,21
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,2	4,1	3,8	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,95	0,24
	Amplitude (mV) :	18,6	18,3	17,9	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,15	0,37
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,6	3,5	3,5	MÉDIA +/- DP :	3,58	0,10
	Amplitude ( mV) :	17,7	17,5	17,5	17,4	MÉDIA +/- DP :	17,53	0,13
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,4	3,4	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,38	0,05
	Amplitude(mV):	17,3	17,1	17	16,9	MÉDIA +/- DP :	17,08	0,17
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,1	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,1	0,08
	Amplitude(mV):	16,7	16,5	16,4	16,2	MÉDIA +/- DP :	16,45	0,21
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	3	2,8	2,7	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,8	0,14
	Amplitude(mV):	15,9	15,6	15,5	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,6	0,22
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,6	3,9	4,4	MÉDIA +/- DP :	3,8	0,47
	Amplitude (mV):	15,9	16,3	16,8	17,4	MÉDIA +/- DP :	16,6	0,65

Experiência 21 : 15/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5,1	5	4,9	MÉDIA +/- DP :	5,03	0,10
	Amplitude ( MV):	20,8	20,5	20,2	19,9	MÉDIA +/- DP :	20,35	0,39
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,4	4,3	4,2	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,28	0,10
	Amplitude (mV):	19,1	18,8	18,8	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,85	0,17
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,1	4	3,7	3,6	MÉDIA +/- DP :	3,85	0,24
	Amplitude (mV) :	18,4	18,1	17,7	17,7	MÉDIA +/- DP :	17,98	0,34
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,43	0,15
	Amplitude ( mV) :	17,6	17,4	17,2	17,2	MÉDIA +/- DP :	17,35	0,19
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,2	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,2	0,08
	Amplitude(mV):	17,1	16,8	16,7	16,5	MÉDIA +/- DP :	16,78	0,25
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	3	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,98	0,13
	Amplitude(mV):	16,3	16,1	16,1	16	MÉDIA +/- DP :	16,13	0,13
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,7	2,6	2,6	MÉDIA +/- DP :	2,68	0,10
	Amplitude(mV):	15,8	15,6	15,4	15,2	MÉDIA +/- DP :	15,5	0,26
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,5	4	4,4	MÉDIA +/- DP :	3,8	0,57
	Amplitude (mV):	15,8	16,4	16,9	17,7	MÉDIA +/- DP :	16,7	0,80

Experiência 22 : 18/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,88	0,15
	Amplitude ( MV):	20,3	19,9	19,8	19,7	MÉDIA +/- DP :	19,93	0,26
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,4	4,3	4,3	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,28	0,13
	Amplitude (mV):	19,1	19,1	18,9	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,95	0,19
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4	3,9	3,7	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,83	0,15
	Amplitude (mV) :	18,5	18,1	17,8	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,05	0,33
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,5	0,08
	Amplitude ( mV) :	17,5	17,5	17,4	17,3	MÉDIA +/- DP :	17,43	0,10
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,2	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,2	0,08
	Amplitude(mV):	17,1	17,1	16,9	16,9	MÉDIA +/- DP :	17	0,12
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,88	0,13
	Amplitude(mV):	16,5	16,5	16,2	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,33	0,21
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,6	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,6	0,08
	Amplitude(mV):	15,8	15,5	15,5	15,3	MÉDIA +/- DP :	15,53	0,21
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,4	3,9	4,5	MÉDIA +/- DP :	3,73	0,61
	Amplitude (mV):	15,7	16,1	17	17,5	MÉDIA +/- DP :	16,58	0,82

Experiência 23 : 21/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	4,8	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,85	0,17
	Amplitude ( MV):	19,8	19,7	19,7	19,6	MÉDIA +/- DP :	19,7	0,08
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,4	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,4	0,08
	Amplitude (mV):	19,3	19,1	18,8	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,98	0,28
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,2	4,2	4,1	4	MÉDIA +/- DP :	4,13	0,10
	Amplitude (mV) :	18,3	18,1	18,1	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,21
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4	4	3,7	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,85	0,17
	Amplitude ( mV) :	17,4	17,2	16,9	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,05	0,31
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP :	3,43	0,15
	Amplitude(mV):	16,4	16,2	16	16	MÉDIA +/- DP :	16,15	0,19
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	2,9	2,9	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,93	0,13
	Amplitude(mV):	15,8	15,6	15,5	15,3	MÉDIA +/- DP :	15,55	0,21
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,6	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,58	0,13
	Amplitude(mV):	15,2	15	14,9	14,8	MÉDIA +/- DP :	14,98	0,15
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3	3,4	3,9	4,2	MÉDIA +/- DP :	3,63	0,53
	Amplitude (mV):	15,8	16,2	16,8	17,4	MÉDIA +/- DP :	16,55	0,70

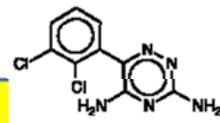
Experiência 24 : 23/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	<u>4,8</u>	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,83	0,10
	Amplitude ( MV):	21,5	21,1	20,7	20,4	MÉDIA +/- DP :	20,93	0,48
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,5	4,5	4,4	MÉDIA +/- DP :	4,48	0,05
	Amplitude (mV):	19,8	19,5	19,5	18,7	MÉDIA +/- DP :	19,38	0,47
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,3	4,2	4,2	MÉDIA +/- DP :	4,25	0,06
	Amplitude (mV) :	18,4	18,3	18,2	18,2	MÉDIA +/- DP :	18,28	0,10
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4	4	4	MÉDIA +/- DP :	4,03	0,05
	Amplitude ( mV) :	18,1	18	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP :	17,93	0,17
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,9	3,6	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,6	0,22
	Amplitude(mV):	17,6	17,3	17,1	17	MÉDIA +/- DP :	17,25	0,26
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP :	2,98	0,10
	Amplitude(mV):	16,8	16,6	16,3	16,2	MÉDIA +/- DP :	16,48	0,28
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,7	2,6	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,63	0,10
	Amplitude(mV):	15,9	15,8	15,5	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,65	0,24
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,7	4,1	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,05	0,67
	Amplitude (mV):	16,4	16,8	17,2	17,9	MÉDIA +/- DP :	17,08	0,64

Experiência 25 :27/12/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,4	5,2	5,1	5,1	MÉDIA +/- DP :	5,2	0,14
	Amplitude ( MV):	20,8	20,4	20,1	19,9	MÉDIA +/- DP :	20,3	0,39
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,5	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,48	0,17
	Amplitude (mV):	19,5	19,2	18,9	18,8	MÉDIA +/- DP :	19,1	0,32
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,1	4	4	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,98	0,13
	Amplitude (mV) :	18,5	18	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP :	18,03	0,34
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,7	3,6	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,6	0,14
	Amplitude ( mV) :	17,4	17,4	17,2	17	MÉDIA +/- DP :	17,25	0,19
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,3	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,23	0,10
	Amplitude(mV):	16,8	16,7	16,5	16,3	MÉDIA +/- DP :	16,58	0,22
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP :	2,98	0,10
	Amplitude(mV):	16,1	15,8	15,5	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,7	0,32
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,6	2,6	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,63	0,13
	Amplitude(mV):	15,3	14,9	14,8	14,6	MÉDIA +/- DP :	14,9	0,26
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,7	3,9	4,4	MÉDIA +/- DP :	3,78	0,54
	Amplitude (mV):	15,9	16,7	17,2	17,6	MÉDIA +/- DP :	16,85	0,73

Experiência 26 : 29/12/2006

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,8	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,80	0,14
	Amplitude ( MV): mV	20,2	19,8	19,7	19,7	MÉDIA +/- DP : 19,85	0,24
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,5	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP : 4,45	0,13
	Amplitude (mV):	19,5	19,2	18,9	18,8	MÉDIA +/- DP : 19,10	0,32
2 milimolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,1	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP : 4,03	0,22
	Amplitude (mV) :	18,6	18,2	17,9	17,8	MÉDIA +/- DP : 18,13	0,36
3 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,6	3,5	3,5	MÉDIA +/- DP : 3,58	0,10
	Amplitude ( mV) :	17,6	17,5	17,4	17,4	MÉDIA +/- DP : 17,48	0,10
4 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,3	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,28	0,10
	Amplitude(mV):	17,3	17,1	17	16,9	MÉDIA +/- DP : 17,08	0,17
5 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,1	3,1	2,9	MÉDIA +/- DP : 3,08	0,13
	Amplitude(mV):	16,7	16,5	16,4	16,1	MÉDIA +/- DP : 16,43	0,25
6 milimolares	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,7	2,6	2,6	MÉDIA +/- DP : 2,65	0,06
	Amplitude(mV):	15,7	15,6	15,5	15,4	MÉDIA +/- DP : 15,55	0,13
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,9	3,5	3,8	4,5	MÉDIA +/- DP : 3,68	0,67
	Amplitude (mV):	15,9	16,3	17	17,6	MÉDIA +/- DP : 16,70	0,75

## Resultados - Lamotrigina :



- Experiências em DA (Depressão Alastrante), Parâmetros analisados nesta fase do experimento: Dose X variação de velocidade da DA e Dose X variação da amplitude da DA.
- Nesta fase foram feitos 11 experimentos válidos.
- Ringer Básico definido para o experimento 1: (NaCl 100; KCL 3; MgSO4 1; NAH-CO3 30; NaH2PO4 1; CaCl2 1; glicose 15).
- Todos os experimentos com a droga em questão foram feitos com confete clássico (padrão escolhido para o trabalho).

Experiência 01 : 17/02/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,5	MÉDIA +/- DP : 4,68	0,13
	Amplitude ( MV): mV	20,2	20	19,7	19,6	MÉDIA +/- DP : 19,88	0,28
1 micromolar:	Velocidade (mm/min):	4,5	4,4	4,3	4,3	MÉDIA +/- DP : 4,38	0,10
	Amplitude (mV):	19,5	19,4	19,4	19,3	MÉDIA +/- DP : 19,40	0,08
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,1	4	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP : 3,95	0,13
	Amplitude (mV) :	19,1	18,9	18,7	18,7	MÉDIA +/- DP : 18,85	0,19
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,6	3,5	3,5	MÉDIA +/- DP : 3,58	0,10
	Amplitude(mV):	18,3	18,1	18,1	18	MÉDIA +/- DP : 18,13	0,13
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,2	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP : 3,23	0,13
	Amplitude(mV):	17,8	17,7	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP : 17,70	0,08
1 milimolar	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP : 2,95	0,06
	Amplitude(mV):	17,5	17,5	17,4	17,3	MÉDIA +/- DP : 17,43	0,10
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,8	4,1	4,3	MÉDIA +/- DP : 3,88	0,43
	Amplitude(mV):	17,9	18,2	18,8	19,2	MÉDIA +/- DP : 18,53	0,59

Experiência 02 : 23/02/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5	5	4,9	MÉDIA +/- DP : 4,98	0,05
	Amplitude ( MV): mV	20,3	20,1	19,8	19,7	MÉDIA +/- DP : 19,98	0,28
1 micromolar:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,6	4,5	4,5	MÉDIA +/- DP : 4,58	0,10
	Amplitude (mV):	19,6	19,4	19,3	19,3	MÉDIA +/- DP : 19,40	0,14
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,2	4,2	4,1	3,9	MÉDIA +/- DP : 4,13	0,14
	Amplitude (mV) :	19	18,9	18,8	18,8	MÉDIA +/- DP : 18,88	0,10
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,6	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP : 3,53	0,10
	Amplitude ( mV ) :	18,2	18,1	18,1	17,9	MÉDIA +/- DP : 18,08	0,13
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,3	3,3	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,30	0,08
	Amplitude(mV):	17,7	17,6	17,5	17,5	MÉDIA +/- DP : 17,58	0,10
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP : 2,93	0,15
	Amplitude(mV):	17,3	17,2	17,2	17,1	MÉDIA +/- DP : 17,20	0,08
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3	3,6	3,9	4,2	MÉDIA +/- DP : 3,68	0,51
	Amplitude(mV):	17,4	17,8	18,4	18,9	MÉDIA +/- DP : 18,13	0,66

Experiência 03 : 24/02/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP : 4,88	0,10
	Amplitude ( MV): mV	20,3	20	20	19,8	MÉDIA +/- DP : 20,03	0,21
1 micromolar:	Velocidade (mm/min):	4,7	4,7	4,6	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,65	0,06
	Amplitude (mV):	19,7	19,6	19,6	19,4	MÉDIA +/- DP : 19,58	0,13
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,3	4,2	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP : 4,20	0,08
	Amplitude (mV) :	19,2	19	19	18,9	MÉDIA +/- DP : 19,03	0,13
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,7	3,6	3,5	MÉDIA +/- DP : 3,63	0,10
	Amplitude ( mV ) :	18,6	18,4	18,2	18,1	MÉDIA +/- DP : 18,33	0,22
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,33	0,15
	Amplitude(mV):	17,9	17,7	17,6	17,5	MÉDIA +/- DP : 17,68	0,17
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	3	2,8	MÉDIA +/- DP : 2,98	0,13
	Amplitude(mV):	17,3	17,1	17,1	17,1	MÉDIA +/- DP : 17,15	0,10
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,8	4,3	4,6	MÉDIA +/- DP : 3,98	0,61
	Amplitude(mV):	17,4	18,1	18,9	19,3	MÉDIA +/- DP : 18,43	0,85

Experiência 04 : 03/03/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,1	5,1	4,9	MÉDIA +/- DP : 5,08	0,13
	Amplitude ( MV): mV	20,5	20,2	20,1	19,9	MÉDIA +/- DP : 20,18	0,25
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,83	0,10
	Amplitude (mV):	19,8	19,7	19,6	19,5	MÉDIA +/- DP : 19,65	0,13
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,5	4,3	4,2	4,2	MÉDIA +/- DP : 4,30	0,14
	Amplitude (mV) :	19,3	19,1	19,1	19	MÉDIA +/- DP : 19,13	0,13
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4	3,9	3,7	3,6	MÉDIA +/- DP : 3,80	0,18
	Amplitude ( mV ) :	18,9	18,7	18,5	18,3	MÉDIA +/- DP : 17,60	0,26
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,4	3,3	3,1	MÉDIA +/- DP : 3,30	0,14
	Amplitude(mV):	18,1	17,9	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP : 17,83	0,22
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,9	2,8	MÉDIA +/- DP : 2,93	0,10
	Amplitude(mV):	17,4	17,3	17,2	17,2	MÉDIA +/- DP : 17,28	0,10
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,7	4	4,4	MÉDIA +/- DP : 3,80	0,55
	Amplitude(mV):	17,5	18,2	18,7	19,1	MÉDIA +/- DP : 18,38	0,69

**Experiência 05 : 04/03/2007**

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP : 4,88	0,10
	Amplitude ( MV): mV	20,1	19,9	19,9	19,8	MÉDIA +/- DP : 19,93	0,13
1 micromolar:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,70	0,08
	Amplitude (mV):	19,7	19,7	19,6	19,6	MÉDIA +/- DP : 19,65	0,06
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,6	4,5	4,3	4,3	MÉDIA +/- DP : 4,43	0,15
	Amplitude (mV) :	19,4	19,2	19,1	19,1	MÉDIA +/- DP : 19,20	0,14
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	3,8	3,8	3,7	MÉDIA +/- DP : 3,85	0,17
	Amplitude ( mV) :	19	18,7	18,7	18,4	MÉDIA +/- DP : 18,70	0,24
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,3	3,3	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,33	0,13
	Amplitude(mV):	18,2	17,9	17,8	17,7	MÉDIA +/- DP : 17,90	0,22
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP : 2,88	0,13
	Amplitude(mV):	17,5	17,3	17,3	17,1	MÉDIA +/- DP : 17,30	0,16
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,7	3,9	4,3	MÉDIA +/- DP : 3,78	0,46
	Amplitude(mV):	17,6	17,9	18,5	18,9	MÉDIA +/- DP : 18,23	0,59

**Experiência 06 : 10/03/2007**

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,1	5	5	MÉDIA +/- DP : 5,08	0,10
	Amplitude ( MV): mV	20,8	20,4	20,1	19,9	MÉDIA +/- DP : 20,30	0,39
1 micromolar :	Velocidade (mm/min):	4,9	4,8	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,80	0,08
	Amplitude (mV):	19,8	19,7	19,7	19,6	MÉDIA +/- DP : 19,70	0,08
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,5	4,4	4,2	4,2	MÉDIA +/- DP : 4,33	0,15
	Amplitude (mV) :	19,4	19,2	19	19	MÉDIA +/- DP : 19,15	0,19
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4,1	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP : 3,98	0,15
	Amplitude ( mV) :	18,9	18,8	18,7	18,5	MÉDIA +/- DP : 18,73	0,17
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,4	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP : 3,40	0,14
	Amplitude(mV):	18,3	18,1	18	17,9	MÉDIA +/- DP : 18,08	0,17
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP : 2,98	0,10
	Amplitude(mV):	17,7	17,4	17,2	17,2	MÉDIA +/- DP : 17,38	0,24
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,9	4,2	4,5	MÉDIA +/- DP : 4	0,47
	Amplitude(mV):	17,7	18	18,6	19,1	MÉDIA +/- DP : 18,35	0,62

**Experiência 07 : 13/03/2007**

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,1	5,1	5	MÉDIA +/- DP : 5,10	0,08
	Amplitude ( MV): mV	20,8	20,3	20,1	19,8	MÉDIA +/- DP : 20,25	0,42
1 micromolar:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,70	0,08
	Amplitude (mV):	19,7	19,6	19,6	19,5	MÉDIA +/- DP : 19,60	0,08
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,4	4,4	4,2	4,2	MÉDIA +/- DP : 4,30	0,12
	Amplitude (mV) :	19,3	19,2	19	19	MÉDIA +/- DP : 19,13	0,15
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4	3,8	3,7	3,7	MÉDIA +/- DP : 3,80	0,14
	Amplitude ( mV) :	18,8	18,6	18,5	18,5	MÉDIA +/- DP : 18,60	0,14
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,4	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,38	0,13
	Amplitude(mV):	18,3	18,1	18	17,8	MÉDIA +/- DP : 18,05	0,21
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP : 2,90	0,14
	Amplitude(mV):	17,6	17,4	17,2	17,1	MÉDIA +/- DP : 17,33	0,22
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,9	4,2	4,5	MÉDIA +/- DP : 3,95	0,56
	Amplitude(mV):	17,5	17,9	18,5	19	MÉDIA +/- DP : 18,23	0,66

Experiência 08 : 17/03/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5	4,9	4,9	MÉDIA +/- DP : 4,95	0,06
	Amplitude ( MV): mV	20,3	20,1	19,9	19,8	MÉDIA +/- DP : 20,03	0,22
1 milimolar:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,8	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,78	0,05
	Amplitude (mV):	19,7	19,6	19,6	19,4	MÉDIA +/- DP : 19,58	0,13
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,4	4,3	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP : 4,25	0,13
	Amplitude (mV) :	19,2	19,1	19	18,9	MÉDIA +/- DP : 19,05	0,13
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,9	3,7	3,6	3,6	MÉDIA +/- DP : 3,70	0,14
	Amplitude ( mV) :	18,8	18,6	18,4	18,3	MÉDIA +/- DP : 18,53	0,22
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP : 3,33	0,15
	Amplitude(mV):	18,1	18	17,7	17,7	MÉDIA +/- DP : 17,88	0,21
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP : 2,88	0,13
	Amplitude(mV):	17,5	17,2	17,2	17	MÉDIA +/- DP : 17,23	0,21
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,9	4,2	4,6	MÉDIA +/- DP : 3,98	0,59
	Amplitude(mV):	17,5	18,4	18,8	19,3	MÉDIA +/- DP : 18,50	0,76

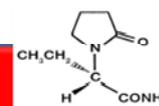
Experiência 09 : 22/03/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP : 4,88	0,10
	Amplitude ( MV): mV	20,2	19,9	19,8	19,8	MÉDIA +/- DP : 19,93	0,19
1 micromolar :	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP : 4,70	0,08
	Amplitude (mV):	19,7	19,6	19,6	19,5	MÉDIA +/- DP : 19,60	0,08
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,4	4,4	4,2	4,1	MÉDIA +/- DP : 4,28	0,15
	Amplitude (mV) :	19,4	19,2	19	19	MÉDIA +/- DP : 19,15	0,19
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4	3,9	3,9	3,7	MÉDIA +/- DP : 3,88	0,13
	Amplitude ( mV) :	18,8	18,7	18,7	18,4	MÉDIA +/- DP : 18,65	0,17
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,3	3,3	3,1	MÉDIA +/- DP : 3,33	0,21
	Amplitude(mV):	18,2	17,9	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP : 17,93	0,21
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,7	2,6	MÉDIA +/- DP : 2,80	0,18
	Amplitude(mV):	17,5	17,4	17,2	17,1	MÉDIA +/- DP : 17,30	0,18
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,8	4,2	4,4	MÉDIA +/- DP : 3,88	0,57
	Amplitude(mV):	17,3	17,8	18,2	18,8	MÉDIA +/- DP : 18,03	0,63

Experiência 10 : 23/03/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,3	5,1	5,1	4,9	MÉDIA +/- DP : 5,10	0,16
	Amplitude ( MV): mV	20,9	20,3	20,2	19,9	MÉDIA +/- DP : 20,33	0,42
1 micromolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,5	4,3	4,2	MÉDIA +/- DP : 4,40	0,18
	Amplitude (mV):	19,6	19,4	19,2	19,1	MÉDIA +/- DP : 19,33	0,22
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4	3,9	3,9	3,8	MÉDIA +/- DP : 3,90	0,08
	Amplitude (mV) :	19	18,8	18,7	18,7	MÉDIA +/- DP : 18,80	0,14
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,6	3,5	3,5	MÉDIA +/- DP : 3,58	0,10
	Amplitude(mV):	18,5	18,3	18,1	18,1	MÉDIA +/- DP : 18,25	0,19
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,2	3,1	3,1	MÉDIA +/- DP : 3,20	0,14
	Amplitude(mV):	17,9	17,7	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP : 17,73	0,13
1 milimolar	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP : 2,90	0,14
	Amplitude(mV):	17,6	17,5	17,3	17,2	MÉDIA +/- DP : 17,40	0,18
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,9	4,2	4,5	MÉDIA +/- DP : 3,95	0,56
	Amplitude(mV):	17,7	18	18,6	18,9	MÉDIA +/- DP : 18,30	0,55

Experiência 11 : 24/03/2007

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP : 4,88	0,10
	Amplitude ( MV): mV	20,1	20	19,8	19,7	MÉDIA +/- DP : 19,90	0,18
1 micromolar:	Velocidade (mm/min):	4,6	4,6	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP : 4,48	0,15
	Amplitude (mV):	19,5	19,4	19,3	19,2	MÉDIA +/- DP : 19,35	0,13
10 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,2	4,1	3,9	3,7	MÉDIA +/- DP : 3,98	0,22
	Amplitude (mV) :	19,1	18,9	18,7	18,6	MÉDIA +/- DP : 18,83	0,22
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,4	3,4	MÉDIA +/- DP : 3,48	0,10
	Amplitude ( mV) :	18,4	18,2	18,1	18	MÉDIA +/- DP : 18,18	0,17
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,2	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP : 3,20	0,08
	Amplitude(mV):	17,8	17,7	17,5	17,4	MÉDIA +/- DP : 17,60	0,18
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,8	2,6	MÉDIA +/- DP : 2,93	0,17
	Amplitude(mV):	17,3	17,1	17	16,8	MÉDIA +/- DP : 17,05	0,21
Rbi	Velocidade ( mm/min):	3,1	3,7	3,9	4,2	MÉDIA +/- DP : 3,73	0,46
	Amplitude(mV):	17,2	17,9	18,5	18,8	MÉDIA +/- DP : 18,10	0,71

## Resultados - Levetiracetam



- Experiências em DA (Depressão Alastrante), Parâmetros analisados nesta fase do experimento: Dose X variação de velocidade da DA e Dose X variação da amplitude da DA.
- Nesta fase foram feitos 10 experimentos válidos.
- Ringer Básico definido para o experimento I: (NaCl 100; KCL 3; MgSO4 1; NAH-CO3 30; NaH2PO4 1; CaCl2 1; glicose 15).
- Todos os experimentos com a droga em questão foram feitos com confete clássico (padrão escolhido para o trabalho).

Experiência 01 : 03/02/2007							
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,20	5,10	5,10	5,00	MÉDIA +/- DP :	5,10 0,08
	Amplitude ( MV):	21,00	20,50	20,30	20,10	MÉDIA +/- DP :	20,48 0,39
10 micromolares :	Velocidade (mm/min):	5,00	5,00	4,90	4,90	MÉDIA +/- DP :	4,96 0,06
	Amplitude (mV):	20,20	20,10	20,10	20,00	MÉDIA +/- DP :	20,10 0,08
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,90	4,90	4,80	4,80	MÉDIA +/- DP :	4,85 0,06
	Amplitude (mV) :	20,00	20,00	19,80	19,70	MÉDIA +/- DP :	19,88 0,15
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,80	4,70	4,70	4,70	MÉDIA +/- DP :	4,73 0,05
	Amplitude(mV):	19,50	19,30	19,30	19,20	MÉDIA +/- DP :	19,33 0,13
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	4,50	4,50	4,40	4,40	MÉDIA +/- DP :	4,43 0,06
	Amplitude(mV):	19,00	18,80	18,70	18,60	MÉDIA +/- DP :	18,78 0,17
10 milimolares	Velocidade ( mm/min):	4,20	4,20	4,10	4,10	MÉDIA +/- DP :	4,15 0,06
	Amplitude(mV):	18,20	18,10	17,80	17,70	MÉDIA +/- DP :	17,95 0,24
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	4,30	4,50	4,70	4,80	MÉDIA +/- DP :	4,58 0,22
	Amplitude(mV):	17,90	18,50	18,90	19,50	MÉDIA +/- DP :	18,70 0,67

Experiência 02 : 15 /02/2007

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,3	5,2	5,2	5,1	MÉDIA +/- DP: 5,20	0,08
	Amplitude ( MV): mV	20,5	20,2	19,9	19,7	MÉDIA +/- DP: 20,08	0,35
10 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5,1	5	5	4,9	MÉDIA +/- DP: 5,0	0,08
	Amplitude (mV):	19,7	19,6	19,6	19,5	MÉDIA +/- DP: 19,60	0,08
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,9	4,8	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP: 4,80	0,08
	Amplitude (mV) :	19,5	19,4	19,4	19,4	MÉDIA +/- DP: 19,43	0,05
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,6	4,5	4,5	4,4	MÉDIA +/- DP: 4,50	0,08
	Amplitude ( mV) :	19,4	19,3	19,2	19,2	MÉDIA +/- DP: 19,28	0,10
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	4,4	4,3	4,3	4,2	MÉDIA +/- DP: 4,30	0,08
	Amplitude(mV):	19,1	19	18,8	18,7	MÉDIA +/- DP: 18,90	0,18
10 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,2	4,1	4	4	MÉDIA +/- DP:4,08	0,10
	Amplitude(mV):	18,4	18,1	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP: 18,03	0,30
Rbi	Velocidade ( mm/min):	4,2	4,6	4,8	5	MÉDIA +/- DP: 4,65	0,34
	Amplitude(mV):	18	18,7	18,9	19,5	MÉDIA +/- DP: 18,78	0,62

Experiência 03 : 03/04/2007

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,30	5,20	5,10	5,00	MÉDIA +/- DP : 5,15	0,13
	Amplitude ( MV):	21,20	20,70	20,40	20,10	MÉDIA +/- DP : 20,60	0,47
10 milimolares :	Velocidade (mm/min):	5,00	4,90	4,90	4,80	MÉDIA +/- DP : 4,90	0,08
	Amplitude (mV):	19,90	19,80	19,80	19,70	MÉDIA +/- DP : 19,80	0,08
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,80	4,80	4,80	4,70	MÉDIA +/- DP : 4,78	0,05
	Amplitude (mV) :	19,50	19,40	19,20	19,20	MÉDIA +/- DP : 19,33	0,15
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,50	4,30	4,30	4,20	MÉDIA +/- DP : 4,33	0,13
	Amplitude ( mV) :	19,10	19,10	19,00	18,90	MÉDIA +/- DP : 19,03	0,10
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	4,20	4,20	4,10	4,10	MÉDIA +/- DP : 4,15	0,06
	Amplitude(mV):	18,80	18,70	18,50	18,30	MÉDIA +/- DP : 18,58	0,22
10 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,10	4,00	4,00	MÉDIA +/- DP : 4,05	0,06
	Amplitude(mV):	18,20	18,10	18,00	18,00	MÉDIA +/- DP : 18,08	0,10
Rbi	Velocidade ( mm/min):	4,40	4,70	5,00	5,10	MÉDIA +/- DP : 4,80	0,32
	Amplitude(mV):	18,60	18,90	19,40	19,60	MÉDIA +/- DP : 19,13	0,46

Experiência 04 : 10/04/2007

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,10	5,00	5,00	4,90	MÉDIA +/- DP : 5,00	0,08
	Amplitude ( MV):	20,60	20,30	20,20	20,10	MÉDIA +/- DP : 20,30	0,22
10 micromolares :	Velocidade (mm/min):	4,90	4,90	4,80	4,70	MÉDIA +/- DP : 4,83	0,10
	Amplitude (mV):	20,00	19,90	19,70	19,60	MÉDIA +/- DP : 19,80	0,18
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,70	4,60	4,60	4,50	MÉDIA +/- DP : 4,60	0,08
	Amplitude (mV) :	19,60	19,50	19,50	19,40	MÉDIA +/- DP : 19,50	0,08
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,50	4,40	4,30	4,30	MÉDIA +/- DP : 4,38	0,10
	Amplitude ( mV) :	19,40	19,30	19,10	19,10	MÉDIA +/- DP : 19,23	0,15
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	4,30	4,20	4,20	4,10	MÉDIA +/- DP : 4,20	0,08
	Amplitude(mV):	19,00	18,90	18,80	18,60	MÉDIA +/- DP : 18,83	0,17
10 milimolares	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,10	4,00	3,90	MÉDIA +/- DP : 4,03	0,10
	Amplitude(mV):	18,40	18,20	18,00	17,80	MÉDIA +/- DP : 18,10	0,26
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	4,20	4,60	4,80	4,90	MÉDIA +/- DP : 4,63	0,31
	Amplitude(mV):	18,30	18,60	18,90	19,20	MÉDIA +/- DP : 18,75	0,39

Experiência 05 : 14/04/2007

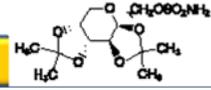
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,00	5,00	4,90	4,80	MÉDIA +/- DP : 4,93	0,10
	Amplitude ( MV):	20,30	20,20	20,00	19,90	MÉDIA +/- DP : 20,10	0,18
10 micromolares :	Velocidade (mm/min):	4,80	4,70	4,70	4,60	MÉDIA +/- DP : 4,70	0,08
	Amplitude (mV):	19,90	19,70	19,70	19,60	MÉDIA +/- DP : 19,73	0,13
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,60	4,60	4,50	4,50	MÉDIA +/- DP : 4,55	0,06
	Amplitude (mV) :	19,60	19,50	19,40	19,30	MÉDIA +/- DP : 19,45	0,13
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,50	4,40	4,40	4,30	MÉDIA +/- DP : 4,40	0,08
	Amplitude ( mV) :	19,30	19,20	19,10	19,00	MÉDIA +/- DP : 19,15	0,13
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	4,30	4,20	4,10	4,00	MÉDIA +/- DP : 4,15	0,13
	Amplitude(mV):	19,00	18,80	18,70	18,60	MÉDIA +/- DP : 18,78	0,17
10 milimolares	Velocidade ( mm/min):	4,00	4,00	3,90	3,80	MÉDIA +/- DP : 3,93	0,10
	Amplitude(mV):	18,30	18,10	18,00	17,90	MÉDIA +/- DP : 18,08	0,17
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	4,30	4,60	4,70	5,00	MÉDIA +/- DP : 4,65	0,29
	Amplitude(mV):	18,10	18,60	19,00	19,60	MÉDIA +/- DP : 18,83	0,63

Experiência 06 : 16/04/2007								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,20	5,20	5,10	5,10	MÉDIA +/- DP :	5,15	0,06
	Amplitude ( MV):	20,70	20,30	20,10	20,00	MÉDIA +/- DP :	20,28	0,31
10 micromolares:	Velocidade (mm/min):	5,00	5,00	4,90	4,80	MÉDIA +/- DP :	4,93	0,10
	Amplitude (mV):	19,80	19,80	19,70	19,60	MÉDIA +/- DP :	19,73	0,10
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,80	4,70	4,70	4,60	MÉDIA +/- DP :	4,70	0,08
	Amplitude (mV) :	19,50	19,40	19,40	19,20	MÉDIA +/- DP :	19,38	0,13
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,70	4,60	4,60	4,50	MÉDIA +/- DP :	4,60	0,08
	Amplitude ( mV) :	19,20	19,20	19,10	19,00	MÉDIA +/- DP :	19,13	0,10
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	4,40	4,30	4,30	4,20	MÉDIA +/- DP :	4,30	0,08
	Amplitude(mV):	19,00	18,80	18,70	18,40	MÉDIA +/- DP :	18,73	0,25
10 milimolares :	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,10	4,00	3,90	MÉDIA +/- DP :	4,03	0,10
	Amplitude(mV):	18,10	18,00	17,80	17,80	MÉDIA +/- DP :	17,93	0,15
Rbi	Velocidade ( mm/min):	4,20	4,60	4,80	5,00	MÉDIA +/- DP :	4,65	0,34
	Amplitude(mV):	18,30	18,90	19,30	19,70	MÉDIA +/- DP :	19,05	0,60
Experiência 07 : 13/04/2007								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,30	5,20	5,20	5,00	MÉDIA +/- DP :	5,18	0,13
	Amplitude ( MV):	21,00	20,60	20,40	20,00	MÉDIA +/- DP :	20,50	0,42
10 milimolares :	Velocidade (mm/min):	5,00	4,90	4,90	4,90	MÉDIA +/- DP :	4,93	0,05
	Amplitude (mV):	19,90	19,80	19,80	19,80	MÉDIA +/- DP :	19,83	0,05
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,80	4,80	4,70	4,60	MÉDIA +/- DP :	4,73	0,10
	Amplitude (mV) :	19,70	19,60	19,40	19,30	MÉDIA +/- DP :	19,50	0,18
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,50	4,40	4,30	4,30	MÉDIA +/- DP :	4,38	0,10
	Amplitude ( mV) :	19,20	19,00	19,00	18,90	MÉDIA +/- DP :	19,03	0,13
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	4,30	4,20	4,20	4,10	MÉDIA +/- DP :	4,20	0,08
	Amplitude(mV):	18,80	18,60	18,50	18,30	MÉDIA +/- DP :	18,55	0,21
10 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,00	4,00	3,90	MÉDIA +/- DP :	4,00	0,08
	Amplitude(mV):	18,20	18,10	18,10	18,00	MÉDIA +/- DP :	18,10	0,08
Rbi	Velocidade ( mm/min):	4,20	4,60	4,90	5,10	MÉDIA +/- DP :	4,70	0,39
	Amplitude(mV):	18,40	18,70	19,20	19,50	MÉDIA +/- DP :	18,95	0,49
Experiência 08: 21/04/2007								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,20	5,20	5,10	5,00	MÉDIA +/- DP :	5,13	0,10
	Amplitude ( MV):	20,70	20,60	20,30	20,00	MÉDIA +/- DP :	20,40	0,32
10 milimolares :	Velocidade (mm/min):	4,90	4,90	4,80	4,70	MÉDIA +/- DP :	4,83	0,10
	Amplitude (mV):	19,90	19,80	19,80	19,70	MÉDIA +/- DP :	19,80	0,08
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,70	4,70	4,60	4,60	MÉDIA +/- DP :	4,65	0,06
	Amplitude (mV) :	19,70	19,60	19,50	19,40	MÉDIA +/- DP :	19,55	0,13
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,50	4,50	4,50	4,40	MÉDIA +/- DP :	4,48	0,05
	Amplitude ( mV) :	19,30	19,20	19,20	19,00	MÉDIA +/- DP :	19,18	0,13
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	4,40	4,30	4,20	4,20	MÉDIA +/- DP :	4,28	0,10
	Amplitude(mV):	18,90	18,70	18,50	18,40	MÉDIA +/- DP :	18,63	0,22
10 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,00	3,90	3,80	MÉDIA +/- DP :	3,95	0,13
	Amplitude(mV):	18,30	18,10	17,90	17,80	MÉDIA +/- DP :	18,03	0,22
Rbi	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,60	4,80	5,00	MÉDIA +/- DP :	4,63	0,39
	Amplitude(mV):	18,10	18,50	18,90	19,30	MÉDIA +/- DP :	18,70	0,52
Experiência 09 : 05/05/2007								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,20	5,10	5,00	4,90	MÉDIA +/- DP :	5,05	0,13
	Amplitude ( MV):	20,60	20,20	20,00	19,90	MÉDIA +/- DP :	20,18	0,31
10 milimolares :	Velocidade (mm/min):	4,90	4,80	4,80	4,70	MÉDIA +/- DP :	4,80	0,08
	Amplitude (mV):	19,80	19,80	19,70	19,60	MÉDIA +/- DP :	19,73	0,10
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,70	4,70	4,60	4,50	MÉDIA +/- DP :	4,63	0,10
	Amplitude (mV) :	19,60	19,50	19,30	19,20	MÉDIA +/- DP :	19,40	0,18
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,50	4,40	4,20	4,20	MÉDIA +/- DP :	4,33	0,15
	Amplitude ( mV) :	19,20	19,10	19,10	19,00	MÉDIA +/- DP :	19,10	0,08
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	4,20	4,10	4,10	4,10	MÉDIA +/- DP :	4,13	0,05
	Amplitude(mV):	18,90	18,70	18,60	18,40	MÉDIA +/- DP :	18,65	0,21
10 milimolares:	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,00	3,90	3,80	MÉDIA +/- DP :	3,95	0,13
	Amplitude(mV):	18,30	18,20	18,00	18,00	MÉDIA +/- DP :	18,13	0,15
Rbi	Velocidade ( mm/min):	4,10	4,50	4,90	5,10	MÉDIA +/- DP :	4,65	0,44
	Amplitude(mV):	18,40	18,80	19,30	19,70	MÉDIA +/- DP :	19,05	0,57

Experiência 10 11/05/2007

Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5	4,9	4,9	MÉDIA +/- DP : 4,98	0,10
	Amplitude ( MV): mV	20,2	20	19,9	19,8	MÉDIA +/- DP : 19,98	0,17
10 micromolares :	Velocidade (mm/min):	4,8	4,8	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP : 4,75	0,06
	Amplitude (mV):	19,7	19,7	19,6	19,5	MÉDIA +/- DP : 19,63	0,10
100 micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,7	4,6	4,6	4,5	MÉDIA +/- DP : 4,60	0,08
	Amplitude (mV) :	19,5	19,4	19,4	19,3	MÉDIA +/- DP : 19,40	0,08
500 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,5	4,4	4,3	4,2	MÉDIA +/- DP : 4,35	0,13
	Amplitude ( mV) :	19,3	19,1	19	19	MÉDIA +/- DP : 19,10	0,14
1 milimolar:	Velocidade ( mm/min):	4,2	4,1	4,1	4	MÉDIA +/- DP : 4,10	0,08
	Amplitude(mV):	18,9	18,7	18,7	18,5	MÉDIA +/- DP : 18,70	0,16
10 milimolares	Velocidade ( mm/min):	4	3,9	3,9	3,7	MÉDIA +/- DP : 3,88	0,13
	Amplitude(mV):	18,4	18,1	18	17,8	MÉDIA +/- DP : 18,08	0,25
Rbi:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4,5	4,8	5	MÉDIA +/- DP : 4,60	0,39
	Amplitude(mV):	18,2	18,7	19,2	19,7	MÉDIA +/- DP : 18,95	0,65

## Resultados - Topiramato :



- Experiências em DA ( Depressão Alastrante ) , Parâmetros analisados nesta fase do experimento : Dose X variação de velocidade da DA e Dose X variação da amplitude da DA.
- Nesta fase foram feitos 31 experimentos válidos.
- Ringer Básico definido para o experimento : (NaCl 100 ;KCL 3;MgSO<sub>4</sub> 1; NAHCO<sub>3</sub> 30; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1; CaCl<sub>2</sub> 1; glicose 15).
- Todos os experimentos com a droga em questão foram feitos com confete clássico ( padrão escolhido para o trabalho).

Experiência 01 : 19/08/2006								
Controle (RB) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,85	0,06
	Amplitude ( MV):	22,2	22,2	22	21,6	MÉDIA +/- DP :	22,00	0,28
3 micromolares:	Velocidade (mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,70	0,08
	Amplitude (mV):	21	21	20,5	20	MÉDIA +/- DP :	20,63	0,48
30micromolares:	Velocidade(mm/min):	4,5	4,4	4,4	4,3	MÉDIA +/- DP :	4,40	0,08
	Amplitude ( mV ) :	20	19,5	19,3	19,2	MÉDIA +/- DP :	19,50	0,36
60 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	4,1	4	4	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,98	0,13
	Amplitude ( mV ) :	19	19	18,7	18,6	MÉDIA +/- DP :	18,83	0,21
100 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,3	3	3	MÉDIA +/- DP :	3,18	0,21
	Amplitude(mV):	18,4	18,2	18	17,7	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,30
200 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,8	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,80	0,08
	Amplitude(mV):	17,5	17,2	17,2	17	MÉDIA +/- DP :	17,22	0,21
300 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,7	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,58	0,15
	Amplitude(mV):	17,1	17	17	16,9	MÉDIA +/- DP :	17,00	0,08
600 micromolares:	Velocidade ( mm/min):	2	1,9	1,8	1,7	MÉDIA +/- DP :	1,85	0,13
	Amplitude(mV):	16,7	16,5	16,5	16,3	MÉDIA +/- DP :	16,50	0,16
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,8	3	3,2	MÉDIA +/- DP :	2,93	0,22
	Amplitude ( mV):	17,2	17,5	17,9	18	MÉDIA +/- DP :	17,65	0,37

Experiência 02 : 22/08/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,8	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,85	0,10
	Amplitude ( MV):	21,7	21,3	21,5	21,5	MÉDIA +/- DP :	21,50	0,16
30 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	4,3	4,3	4,1	4,1	MÉDIA +/- DP :	4,20	0,12
	Amplitude ( MV):	19,6	19,2	19,1	18,6	MÉDIA +/- DP :	19,13	0,41
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,1	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,08	0,24
	Amplitude ( MV):	18,2	18,2	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,05	0,19
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,7	2,5	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,63	0,15
	Amplitude ( MV):	17,7	17,6	17,6	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,60	0,08
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,6	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,53	0,10
	Amplitude ( MV):	17,2	17,1	17,1	17	MÉDIA +/- DP :	17,10	0,08
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,8	1,7	1,6	1,6	MÉDIA +/- DP :	1,68	0,10
	Amplitude ( MV):	16,5	16,3	16,3	16	MÉDIA +/- DP :	16,28	0,21
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,9	3,4	3,7	MÉDIA +/- DP :	3,13	0,53
	Amplitude ( MV):	17	17,7	17,9	18,3	MÉDIA +/- DP :	17,73	0,54

Experiência 03 : 28/08/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,3	5	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,98	0,24
	Amplitude ( MV):	21,4	20,7	20,1	19,8	MÉDIA +/- DP :	20,50	0,71
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,2	2,1	1,9	MÉDIA +/- DP :	2,20	0,29
	Amplitude ( MV):	16,2	16	15,7	15,2	MÉDIA +/- DP :	15,78	0,43
700 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,6	1,4	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP :	1,50	0,14
	Amplitude ( MV):	15,5	15,1	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP :	15,30	0,28
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,9	4,3	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,05	0,52
	Amplitude ( MV):	18,1	18,9	19,6	19,9	MÉDIA +/- DP :	19,13	0,80

Experiência 04 : 28/08/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,7	4,7	4,5	MÉDIA +/- DP :	4,70	0,16
	Amplitude ( MV):	20,5	20,1	20	20	MÉDIA +/- DP :	20,15	0,24
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,1	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,13	0,13
	Amplitude ( MV):	18,4	18,1	18,1	17,9	MÉDIA +/- DP :	18,13	0,21
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,8	2,7	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,80	0,14
	Amplitude ( MV):	17,9	17,7	17,6	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,70	0,14
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,6	2,4	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,48	0,15
	Amplitude ( MV):	17,4	17,2	17,1	17,1	MÉDIA +/- DP :	17,20	0,14
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,3	2,2	2,2	MÉDIA +/- DP :	2,30	0,14
	Amplitude ( MV):	17	16,8	16,7	16,6	MÉDIA +/- DP :	16,78	0,17
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,1	1,9	1,9	MÉDIA +/- DP :	2,05	0,19
	Amplitude ( MV):	16,3	16,1	15,9	15,9	MÉDIA +/- DP :	16,05	0,19
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,9	1,7	1,7	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,70	0,16
	Amplitude ( MV):	16,1	15,8	15,8	15,7	MÉDIA +/- DP :	15,85	0,17
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,8	3,1	3,4	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,28	0,43
	Amplitude ( MV):	17,8	18,2	18,5	18,9	MÉDIA +/- DP :	18,35	0,47
Experiência 05: 29/08/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5	4,9	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,98	0,17
	Amplitude ( MV):	21,2	20,7	20,2	19,9	MÉDIA +/- DP :	20,50	0,57
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,3	3,3	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,30	0,08
	Amplitude ( MV):	18,6	18,4	18,2	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,25	0,34
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,90	0,18
	Amplitude ( MV):	18,1	17,8	17,6	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,75	0,26
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,6	2,4	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,55	0,19
	Amplitude ( MV):	17,5	17,2	17	16,9	MÉDIA +/- DP :	17,15	0,26
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,3	2,3	2,2	MÉDIA +/- DP :	2,30	0,08
	Amplitude ( MV):	17,2	17	16,8	16,7	MÉDIA +/- DP :	16,93	0,22
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,1	1,9	1,9	MÉDIA +/- DP :	2,03	0,15
	Amplitude ( MV):	16,4	16,2	16,1	16	MÉDIA +/- DP :	16,18	0,17
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,8	1,6	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,73	0,22
	Amplitude ( MV):	16,3	16	15,7	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,90	0,32
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,6	3,1	3,4	3,9	MÉDIA +/- DP :	3,25	0,54
	Amplitude ( MV):	17,6	17,9	18,4	18,8	MÉDIA +/- DP :	18,18	0,53
Experiência 06 : 29/08/2006 :								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,83	0,15
	Amplitude ( MV):	21	20,5	20,1	19,8	MÉDIA +/- DP :	20,35	0,52
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,1	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,13	0,13
	Amplitude ( MV):	18,4	18,3	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,13	0,28
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3	2,7	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,90	0,24
	Amplitude ( MV):	18	17,8	17,5	17,4	MÉDIA +/- DP :	17,68	0,28
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,3	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,48	0,21
	Amplitude ( MV):	17,7	17,5	17,2	17	MÉDIA +/- DP :	17,35	0,31
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,1	2,1	2	MÉDIA +/- DP :	2,15	0,17
	Amplitude ( MV):	17,1	17	16,9	16,7	MÉDIA +/- DP :	16,93	0,17
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,9	1,9	1,6	MÉDIA +/- DP :	1,85	0,17
	Amplitude ( MV):	16,5	16,2	16,2	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,25	0,17
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,7	1,6	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,65	0,10
	Amplitude ( MV):	16	15,8	15,6	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,70	0,26
800 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,4	1,2	irregular	MÉDIA +/- DP :	1,43	0,25
	Amplitude ( MV):	15,3	15,2	15,2	irregular	MÉDIA +/- DP :	15,23	0,06
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,4	3,1	3,8	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,35	0,76
	Amplitude ( MV):	17,3	17,9	18,7	19,1	MÉDIA +/- DP :	18,25	0,81

Experiência 07 : 30/08/2006 :								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,8	5,1	5	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,90	0,18
	Amplitude ( MV):	20,2	20,1	19,9	19,8	MÉDIA +/- DP :	20,00	0,18
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,1	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,05	0,19
	Amplitude ( MV):	18,3	18,1	18	17,9	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,17
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,7	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,83	0,15
	Amplitude ( MV):	17,8	17,6	17,6	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,63	0,13
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,4	2,4	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,40	0,08
	Amplitude ( MV):	17,7	17,6	17,4	17,3	MÉDIA +/- DP :	17,50	0,18
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,2	2,1	2,1	MÉDIA +/- DP :	2,20	0,14
	Amplitude ( MV):	17,3	17,1	17	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,03	0,25
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,8	1,7	1,7	MÉDIA +/- DP :	1,80	0,14
	Amplitude ( MV):	16,7	16,4	16,3	16,2	MÉDIA +/- DP :	16,40	0,22
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,6	1,6	1,5	1,4	MÉDIA +/- DP :	1,53	0,10
	Amplitude ( MV):	15,9	15,8	15,6	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,73	0,15
1 milimolar :	Velocidade ( mm/min):	1,4	1,1	irregular	irregular		1,25	0,21
	Amplitude ( MV):	15,3	14,5	irregular	irregular		14,90	0,57
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,5	3,3	3,8	4,3	MÉDIA +/- DP :	3,48	0,77
	Amplitude ( MV):	17,5	17,9	18,4	18,9	MÉDIA +/- DP :	18,18	0,61

Experiência 08: 31/08/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,3	5,5	5,2	4,8	MÉDIA +/- DP :	5,20	0,29
	Amplitude ( MV):	21	21	20,7	20,5	MÉDIA +/- DP :	20,80	0,24
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,4	3,1	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,25	0,17
	Amplitude ( MV):	18,7	18,6	18,6	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,55	0,17
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	2,9	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,93	0,19
	Amplitude ( MV):	18,1	17,8	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,80	0,22
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,5	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,50	0,08
	Amplitude ( MV):	17,4	17,2	17,1	17,1	MÉDIA +/- DP :	17,20	0,14
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,4	2,4	2,2	MÉDIA +/- DP :	2,38	0,13
	Amplitude ( MV):	17	17	16,8	16,8	MÉDIA +/- DP :	16,90	0,12
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	2	1,9	1,8	MÉDIA +/- DP :	1,93	0,10
	Amplitude ( MV):	16,4	16,2	16,1	16	MÉDIA +/- DP :	16,18	0,17
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,8	1,8	1,6	1,4	MÉDIA +/- DP :	1,65	0,19
	Amplitude ( MV):	16	16	15,6	15,3	MÉDIA +/- DP :	15,73	0,34
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,7	3,1	3,6	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,25	0,61
	Amplitude ( MV):	17,8	17,9	18,6	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,15	0,37

Experiência 09: 01/09/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5,1	4,9	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,98	0,15
	Amplitude ( MV):	20,5	20,5	20,3	20,1	MÉDIA +/- DP :	20,35	0,19
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,4	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,28	0,28
	Amplitude ( MV):	19,4	18,7	18,6	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,75	0,47
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,2	3,2	2,8	MÉDIA +/- DP :	3,20	0,33
	Amplitude ( MV):	18,3	18	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,90	0,32
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,6	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,58	0,13
	Amplitude ( MV):	17,5	17,3	17,3	17,1	MÉDIA +/- DP :	17,30	0,16
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,3	2,2	2,2	MÉDIA +/- DP :	2,30	0,14
	Amplitude ( MV):	17,4	17,2	17,1	16,9	MÉDIA +/- DP :	17,15	0,21
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2	2	1,8	MÉDIA +/- DP :	2,00	0,16
	Amplitude ( MV):	16,7	16,5	16,5	16	MÉDIA +/- DP :	16,43	0,30
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,8	1,6	1,4	1,4	MÉDIA +/- DP :	1,55	0,19
	Amplitude ( MV):	16	16	15,8	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,85	0,19
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,9	3,2	3,9	MÉDIA +/- DP :	3,13	0,59
	Amplitude ( MV):	17,5	17,9	18,2	18,5	MÉDIA +/- DP :	18,03	0,43

Experiência 10: 04/09/2006

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5	4,9	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,90	0,14
	Amplitude ( MV):	20,8	20,7	20,2	20	MÉDIA +/- DP :	20,43	0,39
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,1	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,10	0,08
	Amplitude ( MV):	18,4	18,4	18,1	17,9	MÉDIA +/- DP :	18,20	0,24
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,1	2,8	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,85	0,17
	Amplitude ( MV):	18,2	17,9	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,85	0,26
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,6	2,4	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,53	0,22
	Amplitude ( MV):	17,7	17,4	17,1	17	MÉDIA +/- DP :	17,30	0,32
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,2	2,2	2	MÉDIA +/- DP :	2,18	0,13
	Amplitude ( MV):	17,4	17,2	17,1	16,9	MÉDIA +/- DP :	17,15	0,21
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	1,9	1,7	1,7	MÉDIA +/- DP :	1,85	0,19
	Amplitude ( MV):	16,8	16,6	16,4	16,4	MÉDIA +/- DP :	16,55	0,19
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,8	1,6	1,6	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,63	0,13
	Amplitude ( MV):	16,3	15,9	15,6	15,5	MÉDIA +/- DP :	15,83	0,36
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,3	3,1	3,7	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,30	0,78
	Amplitude ( MV):	17,4	17,7	18,4	18,9	MÉDIA +/- DP :	18,10	0,68

Experiência 11: 05/09/2006

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP:	4,93	0,22
	Amplitude ( MV):	20,5	20,3	20	20	MÉDIA +/- DP:	20,20	0,24
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,4	3	3	MÉDIA +/- DP:	3,20	0,23
	Amplitude ( MV):	19,2	18,9	18,6	18,3	MÉDIA +/- DP:	18,75	0,39
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,1	2,9	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP:	2,88	0,17
	Amplitude ( MV):	18,1	18	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP:	17,93	0,17
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,5	2,5	2,5	MÉDIA +/- DP:	2,55	0,10
	Amplitude ( MV):	17,8	17,6	17,6	17,4	MÉDIA +/- DP:	17,60	0,16
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,2	2,2	2,1	MÉDIA +/- DP:	2,25	0,17
	Amplitude ( MV):	17,2	17,2	17	16,9	MÉDIA +/- DP:	17,08	0,15
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2	1,8	1,8	MÉDIA +/- DP:	1,95	0,19
	Amplitude ( MV):	16,8	16,6	16,5	16,3	MÉDIA +/- DP:	16,55	0,21
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,6	1,5	1,3	MÉDIA +/- DP:	1,53	0,17
	Amplitude ( MV):	16,1	16	15,9	15,3	MÉDIA +/- DP:	15,83	0,36
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,9	3,1	3,8	MÉDIA +/- DP:	3,03	0,62
	Amplitude ( MV):	17,5	17,9	18,5	18,7	MÉDIA +/- DP:	18,15	0,55

Experiência 12: 09/09/2006

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP:	4,85	0,13
	Amplitude ( MV):	20,3	20	19,8	19,8	MÉDIA +/- DP:	19,98	0,24
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,1	3	3	MÉDIA +/- DP:	3,15	0,24
	Amplitude ( MV):	19,5	19,2	19	18,7	MÉDIA +/- DP:	19,10	0,34
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,1	2,9	2,7	2,6	MÉDIA +/- DP:	2,83	0,22
	Amplitude ( MV):	18,6	18,4	17,9	17,8	MÉDIA +/- DP:	18,18	0,39
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,5	2,3	2,3	MÉDIA +/- DP:	2,45	0,19
	Amplitude ( MV):	17,6	17,6	17,4	17,3	MÉDIA +/- DP:	17,48	0,15
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,2	2,2	2	MÉDIA +/- DP:	2,20	0,16
	Amplitude ( MV):	17,1	17	17	16,8	MÉDIA +/- DP:	16,98	0,13
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,9	1,8	1,8	MÉDIA +/- DP:	1,88	0,10
	Amplitude ( MV):	16,7	16,6	16,3	16,3	MÉDIA +/- DP:	16,48	0,21
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,5	1,3	1,3	MÉDIA +/- DP:	1,45	0,19
	Amplitude ( MV):	16	15,8	15,7	15,3	MÉDIA +/- DP:	15,70	0,29
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,9	3,4	4,1	MÉDIA +/- DP:	3,15	0,80
	Amplitude ( MV):	17,3	17,9	18,3	18,9	MÉDIA +/- DP:	18,10	0,67

Experiência 13 : 30/08/2006 :								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,80	0,18
	Amplitude ( MV):	21,2	20,7	20,3	19,9	MÉDIA +/- DP :	20,53	0,56
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,1	3,1	2,9	MÉDIA +/- DP :	3,13	0,21
	Amplitude ( MV):	18,3	18,1	18	17,9	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,17
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,8	2,7	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,78	0,10
	Amplitude ( MV):	17,7	17,7	17,5	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,60	0,12
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,3	2,3	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,35	0,10
	Amplitude ( MV):	17,5	17,3	17,3	17,2	MÉDIA +/- DP :	17,33	0,13
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,2	2	2	MÉDIA +/- DP :	2,13	0,15
	Amplitude ( MV):	17,2	17,1	16,8	16,7	MÉDIA +/- DP :	16,95	0,24
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,9	1,9	1,7	MÉDIA +/- DP :	1,88	0,13
	Amplitude ( MV):	16,7	16,5	16,3	16,3	MÉDIA +/- DP :	16,45	0,19
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,6	1,6	1,4	1,3	MÉDIA +/- DP :	1,48	0,15
	Amplitude ( MV):	16,1	16	15,8	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,88	0,22
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,9	3,4	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,18	0,76
	Amplitude ( MV):	17,4	17,8	18,3	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,05	0,57

Experiência 14: 11/09/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5,1	4,9	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,95	0,19
	Amplitude ( MV):	20,8	20,6	20,3	20,1	MÉDIA +/- DP :	20,45	0,31
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,3	3,1	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,28	0,24
	Amplitude ( MV):	18,6	18,4	18,2	18,2	MÉDIA +/- DP :	18,35	0,19
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,8	2,7	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,80	0,14
	Amplitude ( MV):	18,2	18	17,9	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,93	0,25
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,4	2,4	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,45	0,17
	Amplitude ( MV):	17,6	17,4	17,2	17,2	MÉDIA +/- DP :	17,35	0,19
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,1	2,1	2	MÉDIA +/- DP :	2,13	0,13
	Amplitude ( MV):	17,2	17,1	17,1	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,05	0,17
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,8	1,7	1,7	MÉDIA +/- DP :	1,80	0,14
	Amplitude ( MV):	16,8	16,4	16,4	16,4	MÉDIA +/- DP :	16,50	0,20
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,6	1,5	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,63	0,10
	Amplitude ( MV):	16,3	15,8	15,6	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,78	0,39
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,5	3,2	3,7	4	MÉDIA +/- DP :	3,35	0,66
	Amplitude ( MV):	17,2	17,7	18,2	18,9	MÉDIA +/- DP :	18,00	0,73

Experiência 15 : 13/09/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5,1	4,9	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,95	0,19
	Amplitude ( MV):	20,8	20,3	20,1	20	MÉDIA +/- DP :	20,30	0,36
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,2	3,1	3	MÉDIA +/- DP :	3,20	0,22
	Amplitude ( MV):	18,7	18,3	18,1	18	MÉDIA +/- DP :	18,28	0,31
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,88	0,13
	Amplitude ( MV):	17,9	17,8	17,8	17,6	MÉDIA +/- DP :	17,78	0,13
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,6	2,3	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,45	0,17
	Amplitude ( MV):	17,4	17,3	17,1	17	MÉDIA +/- DP :	17,20	0,18
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,3	2,2	2,1	MÉDIA +/- DP :	2,23	0,10
	Amplitude ( MV):	17	16,9	16,6	16,4	MÉDIA +/- DP :	16,73	0,28
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2,1	1,9	1,9	MÉDIA +/- DP :	2,00	0,12
	Amplitude ( MV):	16,3	16,2	16	15,9	MÉDIA +/- DP :	16,10	0,18
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,9	1,7	1,5	1,4	MÉDIA +/- DP :	1,63	0,22
	Amplitude ( MV):	15,8	15,8	15,6	15,4	MÉDIA +/- DP :	15,65	0,19
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,9	3,4	3,9	MÉDIA +/- DP :	3,10	0,73
	Amplitude ( MV):	17,3	17,8,	18,4	18,8	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,78

**Experiência 16 : 15/09/2006**

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,3	5,1	5,1	4,9	MÉDIA +/- DP :	5,10	0,16
	Amplitude ( MV):	21,5	20,7	20,6	20,1	MÉDIA +/- DP :	20,73	0,58
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,4	3,1	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,30	0,24
	Amplitude ( MV):	18,5	18,2	18,2	18	MÉDIA +/- DP :	18,23	0,21
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,88	0,10
	Amplitude ( MV):	18	17,9	17,8	17,8	MÉDIA +/- DP :	17,88	0,10
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,4	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,50	0,18
	Amplitude ( MV):	17,7	17,5	17,2	17	MÉDIA +/- DP :	17,35	0,31
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,2	2,1	2,1	MÉDIA +/- DP :	2,18	0,10
	Amplitude ( MV):	17	16,9	16,8	16,7	MÉDIA +/- DP :	16,85	0,13
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2	1,8	1,8	MÉDIA +/- DP :	1,93	0,15
	Amplitude ( MV):	16,6	16,5	16,3	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,38	0,22
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,5	1,4	1,4	MÉDIA +/- DP :	1,50	0,14
	Amplitude ( MV):	16,1	15,7	15,5	15,3	MÉDIA +/- DP :	15,65	0,34
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,8	3,2	3,8	MÉDIA +/- DP :	3,03	0,63
	Amplitude ( MV):	17,2	17,9	18,3	18,8	MÉDIA +/- DP :	18,05	0,68

**Experiência 17 : 19/09/2006**

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	5	5	4,9	MÉDIA +/- DP :	5,00	0,08
	Amplitude ( MV):	20,8	20,7	20,6	20,3	MÉDIA +/- DP :	20,60	0,22
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,3	3,3	3,1	MÉDIA +/- DP :	3,30	0,16
	Amplitude ( MV):	18,4	18,3	18,2	18	MÉDIA +/- DP :	18,23	0,17
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,88	0,10
	Amplitude ( MV):	18	17,9	17,8	17,8	MÉDIA +/- DP :	17,88	0,10
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,6	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,58	0,13
	Amplitude ( MV):	17,7	17,6	17,5	17,2	MÉDIA +/- DP :	17,50	0,22
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,2	2,2	2,1	MÉDIA +/- DP :	2,20	0,08
	Amplitude ( MV):	17,1	16,9	16,7	16,7	MÉDIA +/- DP :	16,85	0,19
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	1,9	1,8	1,7	MÉDIA +/- DP :	1,88	0,17
	Amplitude ( MV):	16,6	16,4	16,2	16,1	MÉDIA +/- DP :	16,33	0,22
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,6	1,5	1,4	1,2	MÉDIA +/- DP :	1,43	0,17
	Amplitude ( MV):	16,1	15,9	15,5	15,2	MÉDIA +/- DP :	15,68	0,40
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,9	3,4	3,9	MÉDIA +/- DP :	3,13	0,68
	Amplitude ( MV):	17,1	18	18,5	18,8	MÉDIA +/- DP :	18,10	0,74

**Experiência 18 : 20/09/2006**

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	4,9	4,9	4,9	MÉDIA +/- DP :	4,93	0,05
	Amplitude ( MV):	20,4	20,3	20,2	20,2	MÉDIA +/- DP :	20,28	0,10
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,5	3,4	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,50	0,14
	Amplitude ( MV):	18,7	18,5	18,5	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,50	0,16
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,1	2,9	2,9	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,93	0,13
	Amplitude ( MV):	18,1	18	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	17,98	0,13
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,7	2,6	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,63	0,10
	Amplitude ( MV):	17,7	17,7	17,6	17,4	MÉDIA +/- DP :	17,60	0,14
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,3	2,2	2,2	MÉDIA +/- DP :	2,25	0,06
	Amplitude ( MV):	17,3	17,1	17	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,05	0,21
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	1,9	1,9	1,8	MÉDIA +/- DP :	1,93	0,13
	Amplitude ( MV):	16,6	16,5	16,3	16,2	MÉDIA +/- DP :	16,40	0,18
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,6	1,5	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,58	0,10
	Amplitude ( MV):	16,1	15,9	15,7	15,7	MÉDIA +/- DP :	15,85	0,19
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2	2,6	3,2	4	MÉDIA +/- DP :	2,95	0,85
	Amplitude ( MV):	16,9	17,6	18,1	19	MÉDIA +/- DP :	17,90	0,88

Experiência 19 : 21/09/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP :	4,83	0,10
	Amplitude ( MV):	21,4	21,1	20,9	20,8	MÉDIA +/- DP :	21,05	0,26
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,2	3,2	3	MÉDIA +/- DP :	3,25	0,25
	Amplitude ( MV):	19,4	19,1	18,9	18,7	MÉDIA +/- DP :	19,03	0,30
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,90	0,14
	Amplitude ( MV):	18,4	18	17,9	17,9	MÉDIA +/- DP :	18,05	0,24
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,7	2,6	2,6	MÉDIA +/- DP :	2,65	0,06
	Amplitude ( MV):	17,7	17,6	17,5	17,4	MÉDIA +/- DP :	17,55	0,13
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,4	2,3	2,3	MÉDIA +/- DP :	2,38	0,10
	Amplitude ( MV):	17,3	17	16,9	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,00	0,22
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,1	2,1	1,9	MÉDIA +/- DP :	2,08	0,13
	Amplitude ( MV):	16,7	16,5	16,5	16,2	MÉDIA +/- DP :	16,48	0,21
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,9	1,8	1,7	1,7	MÉDIA +/- DP :	1,78	0,10
	Amplitude ( MV):	16,1	16	15,8	15,7	MÉDIA +/- DP :	15,90	0,18
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2	2,6	3,1	3,7	MÉDIA +/- DP :	2,85	0,72
	Amplitude ( MV):	16,6	16,9	17,4	17,9	MÉDIA +/- DP :	17,20	0,57

Experiência 20 : 26/09/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5,1	4,9	4,9	MÉDIA +/- DP :	4,98	0,10
	Amplitude ( MV):	21,7	21,3	20,8	20,7	MÉDIA +/- DP :	21,13	0,46
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,7	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP :	3,58	0,15
	Amplitude ( MV):	19,5	19,3	18,8	18,7	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,39
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,3	3	3	MÉDIA +/- DP :	3,15	0,17
	Amplitude ( MV):	18,7	18,7	18,5	18,3	MÉDIA +/- DP :	19,55	0,19
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,7	2,7	2,5	MÉDIA +/- DP :	2,68	0,13
	Amplitude ( MV):	18	17,8	17,7	17,5	MÉDIA +/- DP :	17,75	0,21
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,3	2,3	2,2	MÉDIA +/- DP :	2,30	0,08
	Amplitude ( MV):	17,4	17,2	17,2	17,1	MÉDIA +/- DP :	17,23	0,13
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2,1	2	2	MÉDIA +/- DP :	2,05	0,06
	Amplitude ( MV):	17	17	16,8	16,5	MÉDIA +/- DP :	16,83	0,24
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,8	1,7	1,7	1,6	MÉDIA +/- DP :	1,70	0,08
	Amplitude ( MV):	16,3	16	15,9	15,6	MÉDIA +/- DP :	15,95	0,29
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,9	3,4	3,9	MÉDIA +/- DP :	3,18	0,61
	Amplitude ( MV):	17,3	17,9	18,5	19,4	MÉDIA +/- DP :	18,28	0,90

Experiência 21 : 27/09/2006								
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,8	4,7	4,6	4,6	MÉDIA +/- DP :	4,68	0,10
	Amplitude ( MV):	20,7	20,4	20,3	20,2	MÉDIA +/- DP :	20,40	0,22
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,8	3,4	3,4	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,45	0,25
	Amplitude ( MV):	19,5	19,2	18,7	18,5	MÉDIA +/- DP :	18,98	0,46
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,9	2,9	2,7	MÉDIA +/- DP :	2,88	0,13
	Amplitude ( MV):	18,5	18	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,08	0,30
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,6	2,5	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP :	2,50	0,08
	Amplitude ( MV):	17,7	17,7	17,6	17,3	MÉDIA +/- DP :	17,58	0,19
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,3	2,2	2,1	MÉDIA +/- DP :	2,23	0,10
	Amplitude ( MV):	17,3	17,2	17,2	16,8	MÉDIA +/- DP :	17,13	0,22
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	2	1,9	1,8	MÉDIA +/- DP :	1,93	0,10
	Amplitude ( MV):	16,7	16,5	16,5	16,2	MÉDIA +/- DP :	16,48	0,21
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,7	1,6	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,63	0,10
	Amplitude ( MV):	16,1	15,9	15,8	15,8	MÉDIA +/- DP :	15,90	0,14
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,8	3,3	3,9	MÉDIA +/- DP :	3,05	0,72
	Amplitude ( MV):	17	17,8	18,4	19,2	MÉDIA +/- DP :	18,10	0,93

Experiência 22 : 28/09/2006

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5	5	4,9	4,8	MÉDIA +/- DP :	4,93	0,10
	Amplitude ( MV):	21,4	21,3	20,9	20,7	MÉDIA +/- DP :	21,08	0,33
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,4	3,3	3,2	MÉDIA +/- DP :	3,40	0,22
	Amplitude ( MV):	18,8	18,4	18,4	18,3	MÉDIA +/- DP :	18,48	0,22
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	3	2,8	MÉDIA +/- DP :	2,98	0,13
	Amplitude ( MV):	18,1	18,1	18	17,8	MÉDIA +/- DP :	18,00	0,14
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,6	2,6	2,6	MÉDIA +/- DP :	2,63	0,05
	Amplitude ( MV):	17,7	17,6	17,6	17,3	MÉDIA +/- DP :	17,55	0,17
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,3	2,3	2,2	MÉDIA +/- DP :	2,30	0,08
	Amplitude ( MV):	17,3	17	17	16,7	MÉDIA +/- DP :	17,00	0,24
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2,1	1,9	1,9	MÉDIA +/- DP :	2,00	0,12
	Amplitude ( MV):	16,6	16,6	16,4	16,3	MÉDIA +/- DP :	16,48	0,15
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,8	1,7	1,7	1,5	MÉDIA +/- DP :	1,68	0,13
	Amplitude ( MV):	16,2	16	15,9	15,7	MÉDIA +/- DP :	15,95	0,21
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,9	3,2	4,1	MÉDIA +/- DP :	3,18	0,68
	Amplitude ( MV):	16,9	17,8	18,3	19,1	MÉDIA +/- DP :	18,03	0,92

Experiência 23: 29/09/2006

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	4,8	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP:	4,88	0,22
	Amplitude ( MV):	21,4	20,9	20,7	20,2	MÉDIA +/- DP:	20,80	0,50
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,4	3,4	3,3	MÉDIA +/- DP:	3,40	0,08
	Amplitude ( MV):	18,7	18,6	18,4	18,2	MÉDIA +/- DP:	18,48	0,22
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,1	3,1	3	MÉDIA +/- DP:	3,10	0,08
	Amplitude ( MV):	18,1	18	17,8	17,7	MÉDIA +/- DP:	17,90	0,18
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,9	2,8	2,8	2,5	MÉDIA +/- DP:	2,75	0,17
	Amplitude ( MV):	17,7	17,5	17,4	17,3	MÉDIA +/- DP:	17,48	0,17
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,4	2,3	2,2	MÉDIA +/- DP:	2,33	0,10
	Amplitude ( MV):	17,2	17,2	17	16,9	MÉDIA +/- DP:	17,08	0,15
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,1	2	2	MÉDIA +/- DP:	2,08	0,10
	Amplitude ( MV):	16,8	16,6	16,4	16,3	MÉDIA +/- DP:	16,53	0,22
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,8	1,7	1,7	MÉDIA +/- DP:	1,80	0,14
	Amplitude ( MV):	16,3	16	15,9	15,9	MÉDIA +/- DP:	15,03	0,19
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,9	3,4	4,1	MÉDIA +/- DP:	3,15	0,80
	Amplitude ( MV):	17,2	17,9	18,3	18,9	MÉDIA +/- DP:	18,08	0,71

Experiência 24: 01/10/2006

Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,8	MÉDIA +/- DP:	4,85	0,06
	Amplitude ( MV):	20,6	20,5	20,5	20,2	MÉDIA +/- DP:	20,45	0,17
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,5	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP:	3,35	0,17
	Amplitude ( MV):	18,7	18,5	18,5	18,2	MÉDIA +/- DP:	18,48	0,21
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3	3	3	MÉDIA +/- DP:	3,05	0,10
	Amplitude ( MV):	18,2	17,8	17,7	17,7	MÉDIA +/- DP:	17,85	0,24
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,8	2,6	2,5	MÉDIA +/- DP:	2,68	0,15
	Amplitude ( MV):	17,7	17,5	17,5	17,4	MÉDIA +/- DP:	17,53	0,13
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,3	2,2	2,2	MÉDIA +/- DP:	2,28	0,10
	Amplitude ( MV):	17,1	17	17	16,8	MÉDIA +/- DP:	16,98	0,13
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2,1	2	2	MÉDIA +/- DP:	2,05	0,06
	Amplitude ( MV):	16,8	16,7	16,4	16,4	MÉDIA +/- DP:	16,58	0,21
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,9	1,8	1,7	MÉDIA +/- DP:	1,85	0,13
	Amplitude ( MV):	16,3	16,2	16	15,9	MÉDIA +/- DP:	16,10	0,18
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2,7	3,2	3,9	MÉDIA +/- DP:	3,15	0,76
	Amplitude ( MV):	17	17,7	18,4	19,1	MÉDIA +/- DP:	18,05	0,90

Experiência 25 : 03/10/2006							
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,8	4,7	4,7	4,6	MÉDIA +/- DP: 4,7	0,08
	Amplitude ( MV):	20,1	20	20	19,7	MÉDIA +/- DP:19,95	0,17
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,7	3,5	3,4	MÉDIA +/- DP:3,58	0,15
	Amplitude ( MV):	18,7	18,5	18,5	18,2	MÉDIA +/- DP: 18,48	0,21
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,4	3,3	3,2	3,1	MÉDIA +/- DP: 3,25	0,13
	Amplitude ( MV):	17,9	17,9	17,8	17,7	MÉDIA +/- DP: 17,83	0,10
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,7	2,5	MÉDIA +/- DP: 2,80	0,24
	Amplitude ( MV):	17,5	17,4	17,1	17	MÉDIA +/- DP: 17,25	0,24
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,5	2,3	2,3	MÉDIA +/- DP: 2,40	0,12
	Amplitude ( MV):	17	16,8	16,8	16,7	MÉDIA +/- DP: 16,83	0,13
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,3	2,1	2,1	MÉDIA +/- DP: 2,20	0,12
	Amplitude ( MV):	16,5	16,4	16,1	16,1	MÉDIA +/- DP:16,28	0,21
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2	1,9	1,8	MÉDIA +/- DP: 1,95	0,13
	Amplitude ( MV):	16,1	15,9	15,8	15,7	MÉDIA +/- DP: 15,88	0,17
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,5	3	3,4	3,7	MÉDIA +/- DP: 3,28	0,52
	Amplitude ( MV):	16,8	17,2	17,5	18,3	MÉDIA +/- DP: 18,45	0,64

Experiência 26: 06/10/2006							
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,8	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP: 4,78	0,10
	Amplitude ( MV):	21,2	21,1	20,8	20,7	MÉDIA +/- DP:20,95	0,24
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP:3,43	0,15
	Amplitude ( MV):	18,6	18,4	18,3	18,2	MÉDIA +/- DP: 18,38	0,17
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,2	2,9	2,9	MÉDIA +/- DP: 3,05	0,17
	Amplitude ( MV):	18,1	18	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP: 17,93	0,17
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,7	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP: 2,60	0,18
	Amplitude ( MV):	17,6	17,4	17,2	17,2	MÉDIA +/- DP: 17,35	0,19
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,4	2,2	2,2	MÉDIA +/- DP: 2,30	0,12
	Amplitude ( MV):	17	17	16,8	16,6	MÉDIA +/- DP: 16,85	0,19
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,2	2,1	2	MÉDIA +/- DP: 2,13	0,10
	Amplitude ( MV):	16,6	16,5	16,2	16,2	MÉDIA +/- DP:16,38	0,21
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	2	1,9	1,9	MÉDIA +/- DP: 1,95	0,06
	Amplitude ( MV):	16,1	16	15,8	15,7	MÉDIA +/- DP: 15,90	0,18
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,6	3,1	3,4	3,6	MÉDIA +/- DP: 3,18	0,43
	Amplitude ( MV):	17,2	18	18,4	18,7	MÉDIA +/- DP: 18,08	0,65

Experiência 27: 07/10/2006							
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,2	5,1	5,1	MÉDIA +/- DP:5,15	0,06
	Amplitude ( MV):	20,4	20,2	20	19,8	MÉDIA +/- DP: 20,10	0,26
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,5	3,3	MÉDIA +/- DP: 3,48	0,13
	Amplitude ( MV):	18,7	18,5	18,2	17,8	MÉDIA +/- DP:18,30	0,39
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,2	3,1	3,1	MÉDIA +/- DP: 3,15	0,06
	Amplitude ( MV):	17,7	17,5	17,5	17,5	MÉDIA +/- DP: 17,55	0,10
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,1	3	2,8	2,8	MÉDIA +/- DP: 2,93	0,15
	Amplitude ( MV):	17,5	17,5	17,3	17,3	MÉDIA +/- DP: 17,40	0,12
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,7	2,7	2,5	MÉDIA +/- DP:2,68	0,13
	Amplitude ( MV):	17,2	17,2	16,9	16,8	MÉDIA +/- DP: 17,03	0,21
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,3	2,3	2,3	MÉDIA +/- DP: 2,35	0,10
	Amplitude ( MV):	16,8	16,6	16,5	16,5	MÉDIA +/- DP: 16,60	0,14
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2	1,9	1,7	MÉDIA +/- DP: 1,98	0,25
	Amplitude ( MV):	16,3	16	15,7	15,5	MÉDIA +/- DP: 15,88	0,35
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,3	2,5	3,4	4,2	MÉDIA +/- DP: 3,10	0,88
	Amplitude ( MV):	16,2	16,9	17,9	18,7	MÉDIA +/- DP:17,43	1,10

Experiência 28: 09/10/20062							
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,2	5,2	5	5	MÉDIA +/- DP:5,10	0,12
	Amplitude ( MV):	20,5	20,2	19,7	19,7	MÉDIA +/- DP: 20,03	0,39
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,5	3,5	3,3	3,3	MÉDIA +/- DP: 3,40	0,12
	Amplitude ( MV):	19,2	19	18,8	18,6	MÉDIA +/- DP:18,90	0,26
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,2	3	3	MÉDIA +/- DP: 3,10	0,12
	Amplitude ( MV):	18,3	18,1	17,9	17,8	MÉDIA +/- DP: 18,03	0,22
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP: 2,88	0,15
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,7	2,5	2,5	MÉDIA +/- DP:2,60	0,12
	Amplitude ( MV):	17,2	17,2	16,8	16,7	MÉDIA +/- DP: 16,98	0,26
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,3	2,2	2,2	MÉDIA +/- DP: 2,30	0,14
	Amplitude ( MV):	16,6	16,5	16,2	16,1	MÉDIA +/- DP: 16,35	0,24
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2	1,7	1,5	MÉDIA +/- DP: 1,85	0,31
	Amplitude ( MV):	16	15,9	15,6	15,5	MÉDIA +/- DP: 15,75	0,24
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,8	3,5	4,3	MÉDIA +/- DP: 3,25	0,83
	Amplitude ( MV):	16,5	17,2	18,4	19	MÉDIA +/- DP:17,78	1,13

Experiência 29 : 11/10/2006							
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	4,9	4,9	4,8	4,7	MÉDIA +/- DP: 4,83	0,10
	Amplitude ( MV):	20,6	20,3	20,1	20,1	MÉDIA +/- DP:20,28	0,24
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,3	3,2	3,2	MÉDIA +/- DP:3,25	0,06
	Amplitude ( MV):	18,3	18,3	18,2	18,2	MÉDIA +/- DP: 18,25	0,06
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,2	3,1	2,9	2,8	MÉDIA +/- DP: 3,00	0,18
	Amplitude ( MV):	18,1	17,9	17,7	17,7	MÉDIA +/- DP: 17,85	0,19
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,8	2,7	2,5	2,5	MÉDIA +/- DP: 2,63	0,15
	Amplitude ( MV):	17,6	17,4	17,1	17	MÉDIA +/- DP: 17,28	0,28
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,3	2,2	2,1	MÉDIA +/- DP: 2,25	0,13
	Amplitude ( MV):	17	16,8	16,6	16,6	MÉDIA +/- DP: 16,75	0,19
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	2	1,9	1,8	MÉDIA +/- DP: 1,93	0,10
	Amplitude ( MV):	16,4	16,3	16,2	16,2	MÉDIA +/- DP:16,28	0,10
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	1,7	1,6	1,5	1,4	MÉDIA +/- DP: 1,55	0,13
	Amplitude ( MV):	16,1	15,8	15,6	15,4	MÉDIA +/- DP: 15,73	0,30
Rbi	Velocidade ( mm/min):	2,1	2,9	3,4	3,6	MÉDIA +/- DP: 3,18	0,67
	Amplitude ( MV):	16,3	17	18,1	18,6	MÉDIA +/- DP: 17,50	1,04

Experiência 30: 14/10/2006							
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,4	5,2	5,1	4,9	MÉDIA +/- DP:5,15	0,21
	Amplitude ( MV):	21,6	21,4	21,1	20,8	MÉDIA +/- DP: 21,23	0,35
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,7	3,5	3,4	3,4	MÉDIA +/- DP: 3,50	0,14
	Amplitude ( MV):	18,6	18,4	18	18	MÉDIA +/- DP:18,25	0,30
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,3	3,2	3,2	3	MÉDIA +/- DP: 2,18	0,13
	Amplitude ( MV):	18	17,8	17,7	17,6	MÉDIA +/- DP: 17,78	0,17
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	2,8	2,8	2,6	MÉDIA +/- DP: 2,80	0,16
	Amplitude ( MV):	17,5	17,2	17,1	17	MÉDIA +/- DP: 17,20	0,22
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,5	2,3	2,3	2,2	MÉDIA +/- DP:2,33	0,13
	Amplitude ( MV):	17	16,8	16,7	16,7	MÉDIA +/- DP: 16,80	0,14
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,1	2,1	2,1	2	MÉDIA +/- DP: 2,08	0,05
	Amplitude ( MV):	16,6	16,5	16,4	16,4	MÉDIA +/- DP: 16,48	0,10
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2	1,9	1,9	1,8	MÉDIA +/- DP: 1,90	0,08
	Amplitude ( MV):	16,3	16	15,9	15,5	MÉDIA +/- DP: 15,93	0,33
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	2,7	3	3,4	3,8	MÉDIA +/- DP: 3,23	0,48
	Amplitude ( MV):	16,4	17,3	17,8	18,4	MÉDIA +/- DP:17,48	0,85

Experiência 31: 16/10/2006							
Controle ( RB ) ( Sem Droga ) :	Velocidade ( mm/min):	5,1	4,9	4,7	4,7	MÉDIA +/- DP:4,85	0,19
100 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3,6	3,5	3,4	3,4	MÉDIA +/- DP: 3,48	0,10
	Amplitude ( MV):	18,5	18,4	18,3	18,3	MÉDIA +/- DP:18,38	0,10
200 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	3	3	2,8	2,7	MÉDIA +/- DP: 2,88	0,15
	Amplitude ( MV):	18,3	18,3	17,9	17,7	MÉDIA +/- DP: 18,05	0,30
300 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,7	2,5	2,5	2,4	MÉDIA +/- DP: 2,53	0,13
	Amplitude ( MV):	17,6	17,5	17,3	17,3	MÉDIA +/- DP: 17,43	0,15
400 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,4	2,3	2,2	2,2	MÉDIA +/- DP:2,28	0,10
	Amplitude ( MV):	17,2	17,2	17,1	16,9	MÉDIA +/- DP: 17,10	0,14
500 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	2,2	2,1	1,9	irregular	MÉDIA +/- DP: 2,07	0,15
	Amplitude ( MV):	16,8	16,5	16,1	irregular	MÉDIA +/- DP: 16,47	0,35
600 micromolares :	Velocidade ( mm/min):	irregular	irregular	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP: irregular	
	Amplitude ( MV):	irregular	irregular	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP: irregular	
Rbi :	Velocidade ( mm/min):	irregular	irregular	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP: irregular	
	Amplitude ( MV):	irregular	irregular	irregular	irregular	MÉDIA +/- DP: irregular	

## XI - ANEXO

Níveis de recomendação para trabalhos científicos ( *American Academy of Neurology* ).

A - Trabalho bem projetado, multicêntrico, randomizado, controlado e com relevância científica, Atende a protocolo de recomendações relevantes; apresenta termo de consentimento informado e segue as orientações de um comitê de ética médica, ( requer, pelo menos, dois estudos consistentes de Classe I ).

B – Algumas evidências de trabalhos randomizados atendem a recomendações, porém o suporte científico não é ótimo, No restante, é semelhante ao nível A, ( pelo menos um estudo Classe I ou dois estudos consistentes de Classe II ).

C – Trata-se de trabalhos baseados em consensos, não apresenta randomização e /ou grupos controle, ( pelo menos um estudo classe II ou dois estudos consistentes de Classe III ).

D – Trata-se de grupos isolados de pesquisa, sem randomização e/ou controles.

Classificação de esquemas requeridos para questões clínicas.

Classe I. Estudo randomizado , controlado clinicamente e com população representativa( multicêntrico). Controle estatístico efetivo, presença de características uniformes nos grupos estudados.

Classe II. Estudo randomizado, controlado clinicamente e com população representativa porém em número menor que o Classe I, Controle estatístico efetivo, presença de características uniformes nos grupos estudados.

Classe III. Estudo randomizado, controlado porém a evolução dos resultados é controlada de forma independente, geralmente a população é representativa, Controle estatístico efetivo e presença de características não uniformes em alguns grupos estudados.

Classe IV. Consensos clínicos, estudos de grupos isolados, observações clínicas.

# 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](#)