

Curso: Medicina

Equipe:

Professor Coordenador: Marina Suênia de Araújo Vilar

Professor Pesquisador: Tharcia Kiara B. de Oliveira

Alunos: Kiev Gabriel Ferreira Neri

Marcelo Henrique F. Sousa

Matheus Abrantes Paiva Pequeno

**DÉFICIT NEUROCOGNITIVO EM DESCENDENTES DE
RATOS WISTAR DECORRENTE DO USO VIGABATRINA
PELAS GENITORAS DURANTE A GESTAÇÃO**

Relatório de Pesquisa

Campina Grande, PB

2013

MARINA SUÊNIA DE ARAÚJO VILAR
THARCIA KIARA B. DE OLIVEIRA

**DÉFICIT NEUROCOGNITIVO EM DESCENDENTES DE
RATOS *WISTAR* DECORRENTE DO USO VIGABATRINA
PELAS GENITORAS DURANTE A GESTAÇÃO**

Relatório de pesquisa apresentado ao Núcleo de Pesquisa e Extensão (NUPEX) do Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento (CESED) de acordo com o que preconiza o regulamento.

Campina Grande - PB

2013

SUMÁRIO

1. Introdução e Referencial Teórico.....	4
1.1 Justificativa.....	5
1.2 Objetivos.....	6
2. Metodologia.....	6
2.1 Tipo de Estudo.....	6
2.2 Animais.....	7
2.3 Delineamento Experimental.....	7
2.4 Testes Utilizados.....	7
2.4 Análise Estatística.....	9
2.5 Aspectos Éticos.....	10
3. Resultados e Discussão.....	10
4. Conclusões.....	17
5. Referências Bibliográficas.....	18

1. Introdução e Referencial Teórico

A epilepsia é uma das principais desordens neurológicas que afeta pessoas de todas as raças, sexos, condições socioeconômicas e regiões do globo¹, com ampla distribuição, chegando a afetar cerca de 0,5 - 1% da população mundial², o equivalente a quase 50 milhões de pessoas em todo o mundo, das quais, 40 milhões vivem em países em desenvolvimento¹, apresentando também uma incidência cumulativa para toda a vida em cerca de 3 - 4%².

De acordo com a classificação mais atual, as epilepsias caracterizam-se por alterações crônicas, recorrentes e paroxísticas na função das áreas corticais e subcorticais envolvidas. Desse modo, muitas crises epiléticas manifestam-se através de alterações sensitivas, emocionais e/ou cognitivas³.

As epilepsias constituem a condição neurológica crônica mais frequentemente observada nas gestantes e aproximadamente de 0,3 a 0,5% de todos os nascimentos são de mães portadoras de epilepsia⁴, trazendo consigo um maior risco de complicações gestacionais, além da possibilidade de um aumento na frequência das crises⁵, e, caso venha a ocorrer algum ataque epilético durante o parto, isto afetará a frequência cardíaca fetal, pode causar hipóxia, levando ao sofrimento fetal agudo⁶.

Além dos efeitos acima descritos, a convulsão do tipo tônico-clônica aumenta a pressão intrauterina, aumenta os riscos de traumatismos para a mãe, gerando também, acidose láctica, a qual é transferida para o feto⁷. Todo esse quadro ainda é piorado, visto que muitas mães interrompem a terapêutica anticonvulsivante quando descobrem a gravidez, podendo ocasionar até mesmo o óbito devido aos ataques epiléticos⁸, ilustrando deste modo, a importância de um tratamento efetivo.

A farmacocinética de muitas drogas antiepiléticas (DAEs) clássicas sofre importantes modificações durante a gestação, decorrente da combinação de múltiplos fatores tais como: modificação do pH gástrico, da taxa de esvaziamento gástrico, da mobilidade intestinal, do aumento do fluxo renal e da taxa de filtração glomerular, do peso corporal, da composição plasmática (aumento do volume plasmático), de alterações hemodinâmicas, da diminuição das proteínas plasmáticas e competição por sítios receptores, de influências hormonais e da contribuição da unidade feto-placentária para a distribuição da droga⁹.

Em adição aos efeitos próprios das DAEs, também pode haver contribuição dos metabolitos tóxicos da DAEs, redução da disponibilidade de folato, lesão hipoxica associada a convulsões e predisposição genética¹⁰.

Algumas conseqüências do uso de DAE durante a gravidez, como a redução da disponibilidade de folato pode trazer o aumento do risco de malformações congênitas, as quais na população geral é de 1 a 2%¹¹, enquanto o uso de DAE para grávidas, em monoterapia, tais índices variam de 2,3 a 7,8%, e em politerapia, esse índice aumenta para 6,5 a 18,8%¹², e estão associados, principalmente, a defeitos cardíacos, fendas labial e do palato (fenitoína, fenobarbital e pirimidona), defeitos do tubo neural (carbamazepina, valproato de sódio), anomalias do aparelho urinário, e síndromes de dismorfismo e atraso mental^{13,14,15}, e pesquisas mostram que as malformações resultam da exposição aos fármacos durante o primeiro trimestre, enquanto que a exposição no último trimestre parece associar-se a atraso no desenvolvimento cognitivo¹⁶, porém dados sobre os efeitos das DAEs sobre o desenvolvimento neurocognitivo na prole de mães que foram tratadas durante a gestação são pouco conclusivas¹⁷.

Os novos anticonvulsivantes tendem a ter uma menor ligação à proteínas (topiramato, oxcarbazepina, felbamato) ou não se unem a elas (gabapentino e vigabatrina) e são eliminados por via renal. A vigabatrina e o gabapentino não tem efeito no sistema de enzimas citocromo P450. O gabapentino, a lamotrigina e a vigabatrina não possuem efeito antifolato. Estes anticonvulsivantes também não tem metabolitos arenoxidos, devendo ser administrados em monoterapia, podendo ser uma boa alternativa para a gestante. No mais, realmente se sabe pouco sobre sua farmacocinética e sua segurança durante a gestação¹⁸.

Levando em consideração as vantagens dos novos anticonvulsivantes sobre os clássicos, em diversos critérios¹⁸, sobretudo no tratamento de gestantes com epilepsia, o medicamento escolhido a ser descrito é a vigabatrina, uma vez que, há a necessidade de estudos complementares sobre seus possíveis danos ao desenvolvimento cognitivo dos descendentes provindos de gestações, nas quais o uso desse medicamento foi feito durante todo o período gestacional¹⁷.

1.1 Justificativa

O tema escolhido revela sua importância por retratar um grande desafio da Obstetrícia e da Neurologia nos dias atuais: a questão do tratamento da epilepsia em mulheres no período gestacional, levando em consideração que essa doença neurológica é a mais comum na gravidez. Existe uma lacuna no meio científico referente às características e à diversidade dos defeitos neurocognitivos gerados nos descendentes das genitoras que fizeram uso de AEDs durante a gestação. Os efeitos teratogênicos, por

outro lado, já foram averiguados em diversos estudos, nos quais foram exploradas as propriedades e particularidades presentes nos antigos e novos fármacos.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

Verificar alterações no processo aprendizagem-memória em ratos Wistar, descendentes de fêmeas usuárias do fármaco Vigabatrina durante período gestacional.

1.2.2 Objetivos Específicos

- a. Averiguar se as dosagens administradas serão letais para as genitoras ou ocasionarão efeitos teratogênicos nos descendentes.

- b. Analisar o desenvolvimento cognitivo dos descendentes em duas faixas etárias distintas.

- c. Ponderar se há discrepância de evolução no aprendizado empregando diferentes dosagens nas genitoras.

2. Metodologia

2.1 Tipo de Estudo

Tratou-se de um estudo exploratório, experimental e comparativo. A escolha deste tipo de estudo foi realizada visando prover um maior conhecimento sobre os possíveis efeitos da administração de VGB durante a gestação, visto que já existem diversos estudos apenas sobre os efeitos teratogênicos de tal droga.

O estudo experimental pode, convincentemente, demonstrar relações de causa e efeito, de acordo com uma variável independente, possivelmente produzindo mudanças correspondentes na variável dependente (Gil, 2008).

O método comparativo foi escolhido por ser um tipo de investigação quantitativa que procura descobrir possíveis causas e efeitos de um padrão de comportamento ou características pessoais comparando indivíduos nos quais está presente com indivíduos nos quais está ausente ou em menor grau (Gil, 2008).

2.2 Animais

Foram utilizadas 12 ratas albinas primíparas da linhagem Wistar (250-300g) e suas descendências (compostas por 28 ratos), provenientes da colônia de criação do biotério da Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande - FCM. Os animais foram alojados em gaiolas de polipropileno com dimensão de 430x430x200 mm (CxLxA) num ambiente com temperatura de 23,1° C, num ciclo de luz/escuridão (12 h) e tiveram livre acesso à água filtrada. Os animais foram acasalados na proporção de 1 macho para 3 fêmeas e o estado de prenhez foi determinado através da observação da presença de espermatozóides na secreção vaginal.

2.3 Delineamento Experimental

Para os experimentos as ratas foram subdivididas em grupos, distribuídas ao acaso. No grupo controle (Gc), as mães não receberam nenhuma medicação; as genitoras pertencentes ao segundo grupo (G1), receberam uma dose única diária de 200mg/kg de Vigabatrina (VGB) intraperitoneal, dissolvida em solução salina; e nas ratas do terceiro grupo (G2), a dose foi de 400mg/kg. A medicação foi administrada durante toda a gestação.

A partir da prole das ratas prenhas, foram selecionados aleatoriamente 12 filhotes para representar o Gc; 7 no G1; e o G2, com apenas 5 representantes. O número reduzido de filhotes nos grupos que receberam a medicação deve-se a morte do restante da prole durante a gestação ou logo após o parto. Após o nascimento, os filhotes foram submetidos aos testes referidos abaixo nos terceiro e quinto meses de vida.

2.4 Testes Utilizados

a. Esquiva Passiva

A tarefa consiste basicamente em uma sessão de treino, na qual o animal é punido com um choque nas patas após emitir determinado comportamento, neste caso, passar de um compartimento da caixa para outro, e uma sessão de teste de retenção, na qual o tempo que o animal leva para emitir o mesmo comportamento é registrado e utilizado como uma medida de aprendizagem. Animais normais tendem a inibir esse comportamento que foi punido, e portanto, apresentam uma latência muito maior no teste de retenção quando comparada com a que foi apresentada no treino.

Aparelho: Será utilizada uma caixa do estilo step-through, a qual consiste em duas caixas acrílicas, ambas medindo 22 X 21 X 22 cm, conectadas por uma portaguilhotina. As paredes do compartimento seguro são brancas, enquanto o outro compartimento, onde os animais recebem o choque, é formado por paredes pretas. A base é formada por grades metálicas dispostas em paralelo e está conectada com um gerador de choque, o qual pode produzir choques de intensidade e duração variados.



Procedimento:

Sessão de Treino: O animal será colocado dentro do compartimento claro da caixa de esquiva. Neste momento a porta que dá acesso ao compartimento preto estará fechada e, após 10 s, ela é aberta, permitindo a passagem do animal. O tempo que o animal leva para passar com as quatro patas ao compartimento escuro é registrado. Assim que o animal entra totalmente no compartimento de choque a porta é fechada e o mesmo recebe um choque nas patas de 0,7 mA, por 2 s. O animal é retirado imediatamente após o choque.

Sessão de Teste de Retenção: Após 24 horas da sessão de treino, o animal é colocado novamente no compartimento claro da caixa de esquiva, com a porta fechada. Após 10 s, abre-a e registra-se o tempo que o animal leva para passar com as quatro patas ao compartimento escuro. Nenhum choque é aplicado nessa sessão e o tempo de latência é utilizado como medida de aprendizagem.

b. Condicionamento Clássico do Medo

É uma forma de condicionamento clássico, no qual um estímulo neutro, neste caso um som, é pareado com um estímulo aversivo, neste caso um choque. Após um ou mais pareamentos, o som por si só passa a predizer a ocorrência do choque, provocando respostas características de medo. Em ratos as respostas condicionadas incluem: (a) mudança comportamental, como uma completa imobilidade do animal, conhecido freezing.



(b) mudanças no sistema autônomo, principalmente frequência cardíaca, (c) alterações neuroendócrinas, entre outras. No presente estudo, utilizaremos o freezing como medida de condicionamento.

Aparelho: Será utilizada o mesmo equipamento do teste de Esquiva Passiva.

Procedimento:

Sessão de Treino: O animal será colocado na caixa de condicionamento, e após 2 min, serão aplicados 5 choques de 1,0 mA nas patas, com 1 s de duração e intervalos de 30 s, e será retirado 60 s após o último choque.

Sessão de Teste: Após 24 horas da sessão de treino, o animal será colocado no mesmo contexto aplicado anteriormente, e será registrado o tempo de freezing, minuto a minuto, durante 5 minutos.

c. Labirinto Aquático

Esse é o modelo mais utilizado para o estudo de aprendizagem espacial, e consiste em uma piscina, com uma plataforma oculta, no qual o animal deverá seguir pistas localizadas fora do labirinto para conseguir chegar até ela.

Aparelho: Será utilizada uma piscina com 1 m de diâmetro, e profundidade de 0,5 m, preenchida por água a 22° C até uma altura de 25 cm. A plataforma de PVC apresenta 10 cm de diâmetro, podendo estar 2 cm abaixo da superfície, ou 1 cm acima, dependendo da variante utilizada.

Procedimento:

Plataforma Oculta: Na sala deverá haver pistas indicando os pontos cardeais Norte, Sul, Leste e Oeste, e a piscina será dividida em quadrantes a partir destes pontos, a plataforma deve ser colocada em um ponto fixo no centro de cada quadrante. Será realizada um sessão de treino por dia, consistindo em quatro tentativas (uma para cada quadrante onde a plataforma estará fixada), cada uma de 2 min, durante 15 dias consecutivos. Ao encontrar a plataforma o animal deverá permanecer 30 s antes de ser retirado. No dia seguinte ao fim da sequência de treinos, a plataforma é retirada do labirinto, e durante 2 minutos será anotado o tempo em que o animal fica em cada quadrante. Será utilizado como medida de aprendizagem o tempo no qual o animal leva para encontrar o local da plataforma durante os dias de treino.

2.5 Análise Estatística

Avaliaram-se os dados obtidos com uso do software ASSISTAT versão 7.6 Silva e Azevedo (2009), em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), em que os experimentos foram dispostos em esquema fatorial com repetições, onde a media dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 1 e 5% de probabilidade.

2.6 Aspectos Éticos

No que se refere aos aspectos éticos o projeto foi encaminhado para a CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento – CESED, que obedece aos critérios estabelecidos na Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 onde relata a criação e a utilização de animais em atividades de ensino e pesquisa científica, em todo o território nacional.

3. Resultados e Discussão

A administração da droga realizada durante a gestação não levou a morte de genitoras ou teratogenicidade em nenhuma prole, porém alguns fatos chamaram a atenção: (1) o ganho de peso das ratas grávidas do grupo 2 foi bem menor que as representantes dos grupos controle e G1, em algumas ocasiões, foram presenciadas, inclusive, a total estagnação de massa corpórea durante a gravidez em alguns espécimes; e (2) a alta mortalidade intrauterina e perinatal tanto no grupo 1 quanto no 2, sendo bem mais elevada neste último, de tal modo foram realizadas duas tentativas extras de procriação para aumentar a quantidade de representantes, porém com os mesmos resultados. Tais dados corroboram na justificativa do N tão baixo destes grupos quando comparados com o grupo controle.

O estudo consistiu na realização de três testes para avaliação de memória e aprendizagem da prole. Sendo eles: Labirinto Aquático de Morris, Esquiva Passiva e Condicionamento Clássico do Medo. Tais testes foram realizados no 3º e 5º mês de vida dos animais, representando a 1ª e 2ª fase respectivamente.

Avaliando o teste do labirinto aquático que visa avaliar a orientação espacial, foi possível perceber ao analisarmos o grupo controle e os grupos dos animais tratados que estes últimos apresentaram maior grau de dificuldade para localizar a plataforma oculta durante o teste, apresentando maior média (15,97 segundos) na primeira fase do teste, o que representou significância estatística quando comparado ao grupo controle ($p < 0,02$), como pode ser visto na Figura 1.

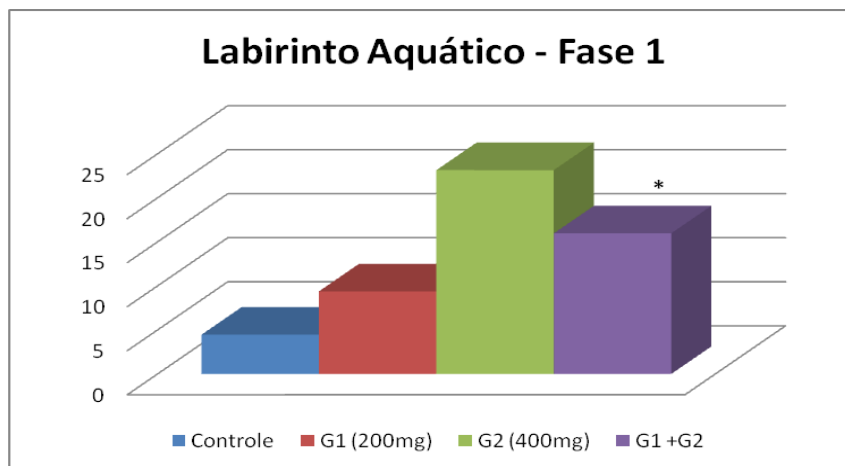


Figura 1: Labirinto Aquático. Determinação da aprendizagem de animais com 3 meses tratados com vigabatrina. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

O mesmo teste foi realizado quando os animais estavam com 5 meses, representando a segunda fase, na qual foi verificado o mesmo perfil, a partir disto, pode-se concluir que nos dois momentos testados os animais tratados apresentaram um dano no processo de aquisição e retenção da memória (Figura 2), sendo tal achado um possível reflexo da medicação no processo ensino-aprendizado do animal.

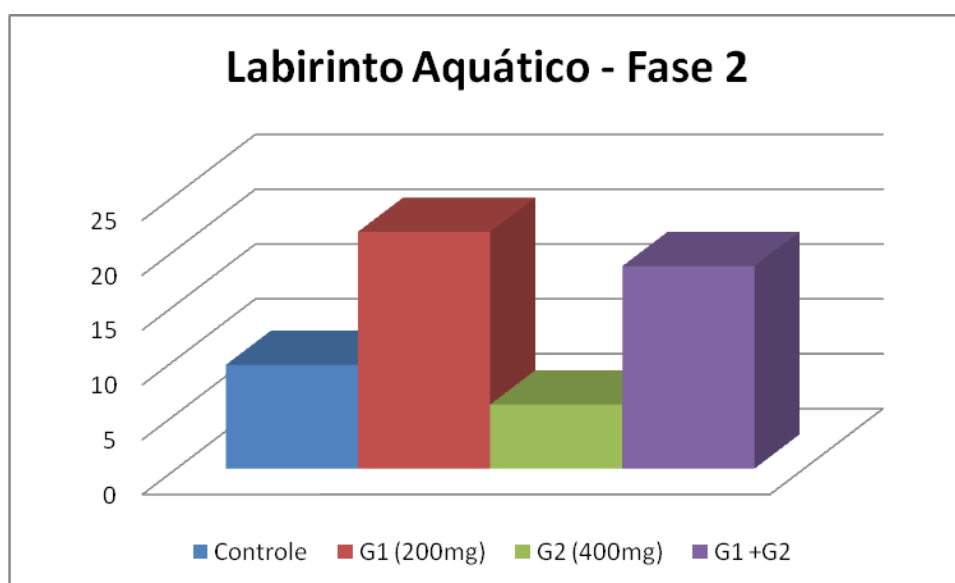


Figura 2: Labirinto Aquático. Determinação da aprendizagem de animais com 5 meses tratados com vigabatrina. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Estudo semelhante foi realizado por Maia (2004), utilizando o mesmo teste do labirinto aquático conseguiu mostrar que a L-Deprenil promoveu uma redução dos danos provocados por uma isquemia cerebral transitória no processo de aquisição e

retenção da memória dos animais. Um outro estudo que visava avaliar o efeito da administração crônica pós-natal dos Ácidos Propiônico e Metilmalônico sobre o Comportamento de ratos no Labirinto Aquático de Morris, não verificou déficit de aprendizado dos animais tratados quando comparados ao grupo controle (Pettenuzzo, 200).

No teste de Condicionamento Clássico do Medo, utilizado para determinar a resposta em duas áreas cerebrais distintas: (1) amígdala, responsável pela reação ao medo e aprendizado; e (2) hipocampo, responsável pelo mapa cognitivo e processamento de informações espaciais. Foi visto na primeira fase uma resposta média maior dos ratos pertencentes à prole de genitoras medicadas (138,42 s), quando comparados aos ratos do grupo controle (236 s), representando significância estatística em tal achado ($p < 0,01$).

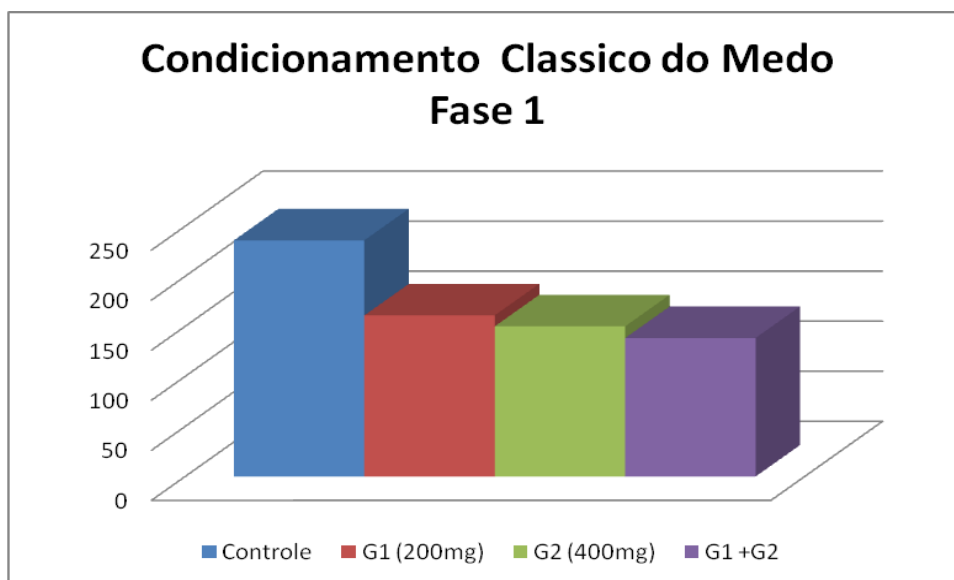


Figura 3: Condicionamento Clássico do medo. Determinação da aprendizagem de animais com 5 meses tratados com vigabatrina. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Assim como o teste do labirinto aquático, na segunda fase do teste foi aferida uma média maior para os ratos dos grupos medicados em comparação ao controle, de tal modo, pode-se avaliar um déficit na resposta ao medo, no aprendizado e também no aspecto que se refere ao processamento espacial.

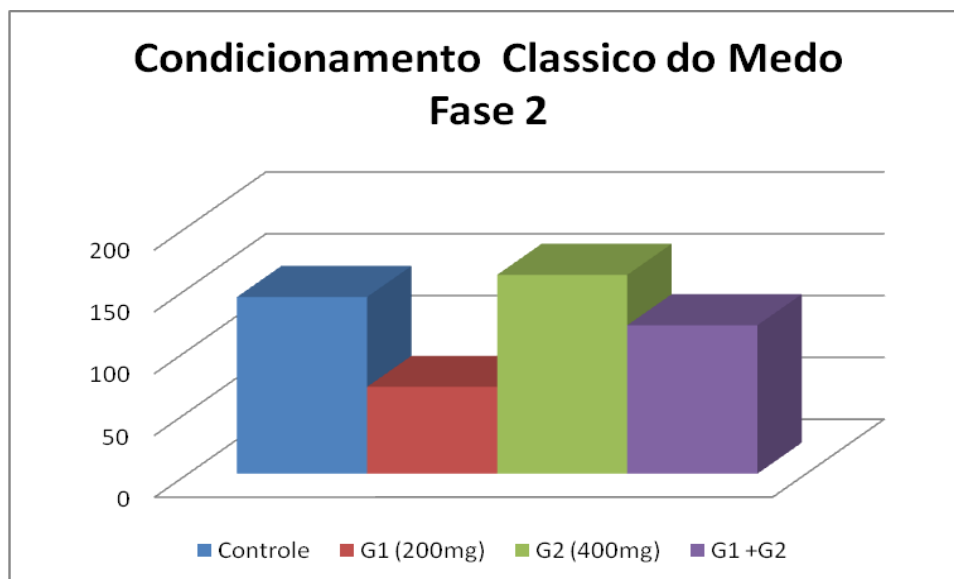


Figura 4: Condicionamento Classico do medo. Determinação da aprendizagem de animais com 5 meses tratados com vigabatrina. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

O teste de Esquiva Passiva é amplamente utilizado na literatura para investigar se determinadas manipulações experimentais são capazes de afetar os processos mnemônicos, sendo realizado em duas etapas distintas a cada fase, a primeira para avaliar memória de curta duração e a segunda, de longa duração.

As respostas de ambos os grupos na primeira e segunda fase, tanto com relação à memória de curta quanto a de longa duração, foram semelhantes ou até melhores que a do grupo controle, como demonstrada nas figuras 5 e 6 abaixo, podendo indicar que a administração da droga em ratos durante a gravidez não leva a um declínio significativo da capacidade mnemônica.

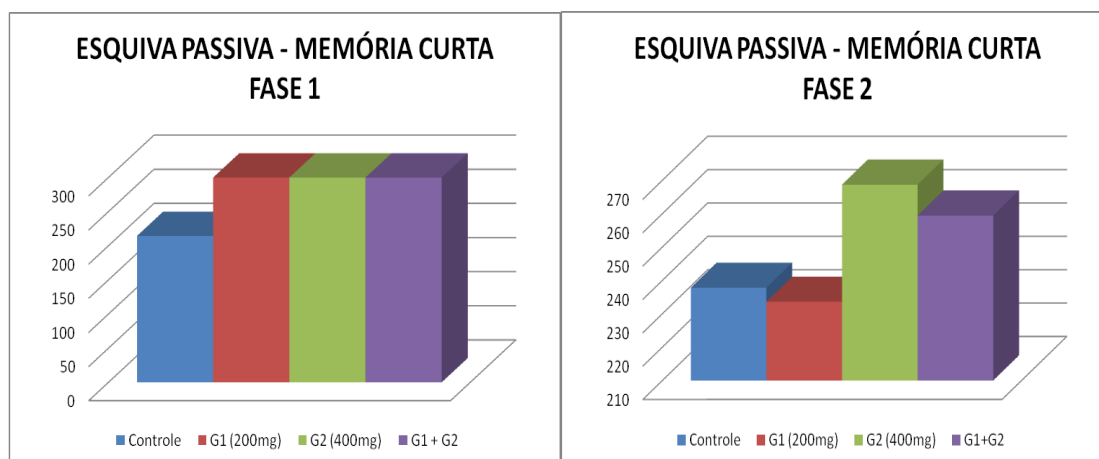


Figura 5: Esquiva Passiva. Avaliação da Memória Curta de animais com 3 e 5 meses, fase 1 e 2 respectivamente, tratados com vigabatrina. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

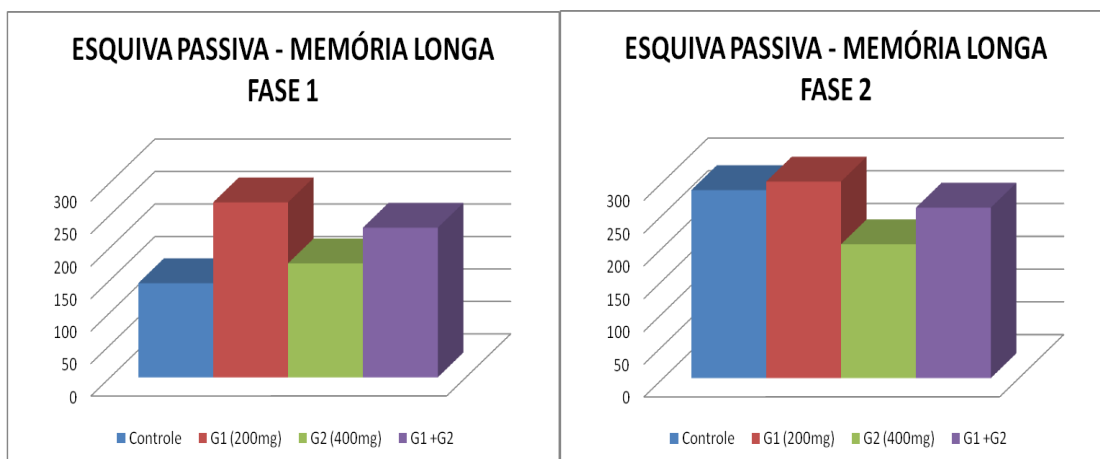


Figura 6: Esquiva Passiva. Avaliação da Memória Longa de animais com 3 e 5 meses, fase 1 e 2 respectivamente, tratados com vigabatrina. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Em um estudo utilizando L-Deprenil (Maia, 2004) na prevenção de alterações neuroquímicas e comportamentais induzidas pela isquemia cerebral transitória, os ratos submetidos ao teste de esquiva passiva que receberam a droga apresentaram uma boa retenção da memória, tanto na fase imediata (memória recente), quanto na fase de consolidação (memória tardia), quando comparadas ao segundo grupo. Em um segundo estudo, utilizando o Lítio em genitoras gestantes (Guilherme, 2013), foi aferido uma diferença de aprendizado com relação ao grupo controle, revelando uma alteração comportamental relacionada a uma desatenção, baixo controle de impulso e hiperatividade dos animais.

Um outro objetivo da pesquisa era verificar se houve influência da dose na resposta neurocognitiva dos animais. Ao realizarmos uma avaliação criteriosa entre os grupos tratados a fim de verificar influências da dose administrada (200 e 400mg), pode-se encontrar alguns dados relevantes.

Na primeira fase do Labirinto Aquático, o grupo 1 apresentou uma resposta superior ao segundo grupo, com médias de 9,39 s e 23,15 s, respectivamente ($p < 0,21$), porém ao passarmos para a segunda fase, o grupo 2 reduz a média para 5,85 s, enquanto a média do grupo 1 sobe para 21,6 s ($p < 0,25$), evidenciando que o grupo que recebeu a menor dose foi capaz de manter e melhorar o processo de aquisição e retenção do aprendizado, mostrando melhor orientação no espaço (Figura 7).

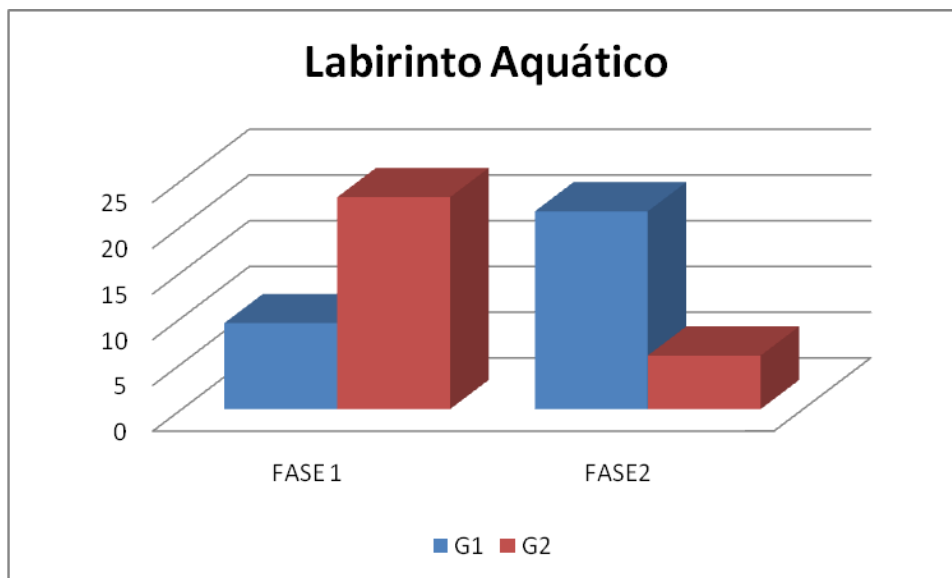


Figura 7: Labirinto Aquático. Determinação da aprendizagem de animais com 3 e 5 meses, fase 1 e 2 respectivamente, tratados com dose 200 e 400 mg de vigabatrina . * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

No teste de Condicionamento Clássico do Medo, a resposta avaliada demonstrou que nas duas fases de experimentos o grupo 2 apresentou uma média de *freezing* maior, principalmente na segunda etapa, que representou significância estatística quando comparado ao grupo controle ($p < 0,02$), Figura 8 . Tal achado pode indicar uma resposta aumentada da amígdala e/ou do hipocampo, representando uma hiperreatividade à estímulos que induzam o medo na prole de genitoras com doses de 400mg/kg.

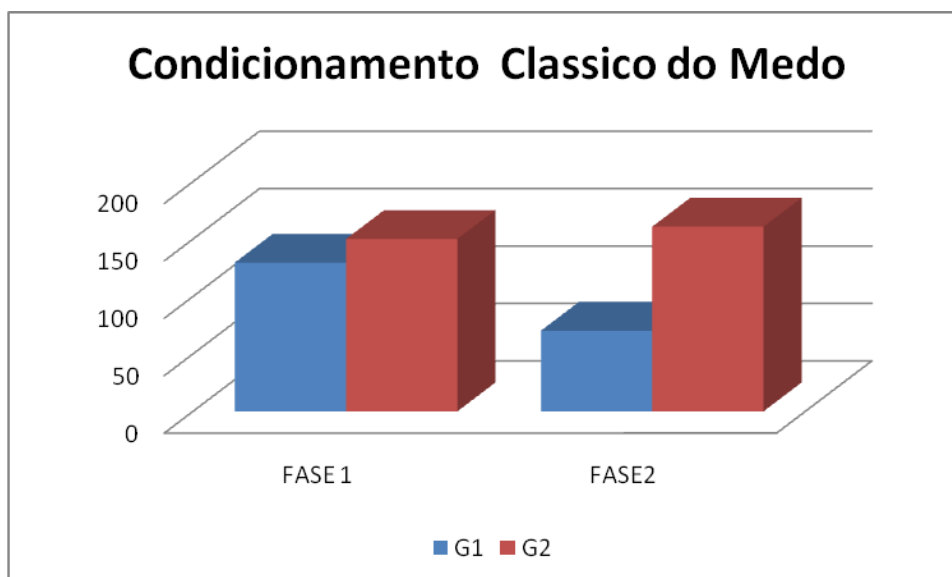


Figura 8: Condicionamento Classico do Medo. Determinação da aprendizagem de animais com 3 e 5 meses, fase 1 e 2 respectivamente, tratados com dose 200 e 400 mg de vigabatrina . * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

Já os testes de esquiva passiva, quando comparada a memória de longa duração entres os dois grupos tratados, há um predomínio do grupo 1 na obtenção de uma média de tempo maior, resultando de tal modo, em um melhor aprendizado, tanto na primeira quanto na segunda fases, sendo mais proeminente a diferença neste último, como demonstrado abaixo. O que sugere que a dose maior possa ter diminuído o processo de aprendizagem do G2.

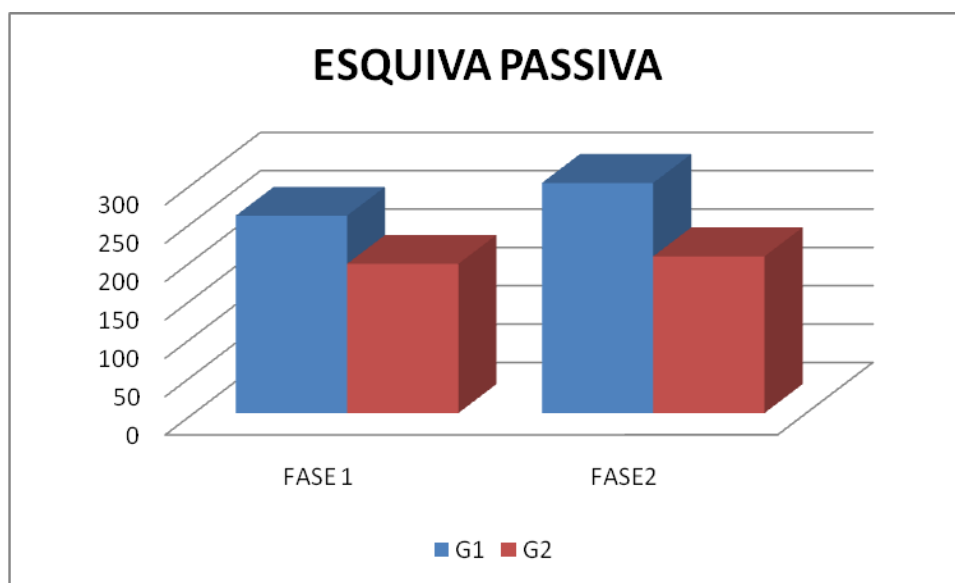


Figura 9: Esquiva Passiva. Determinação da aprendizagem de animais com 3 e 5 meses, fase 1 e 2 respectivamente, tratados com dose 200 e 400 mg de vigabatrina . * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

4. Conclusão

Pelos resultados obtidos nos experimentos pode-se inferir que a administração de VGB durante a gestação leva a um aumento na mortalidade perinatal ou intrauterina de ratos, assim como dificuldade no ganho de peso durante tal período, sendo esse desfecho dose-dependente, justificando, assim o baixo número de representantes nos grupos formados pela prole de genitoras tratadas.

Da totalidade de animais que sobreviveram após o período perinatal, quando comparados ao grupo controle, aqueles apresentam um déficit importante com relação a resposta ao medo, aprendizado e principalmente, orientação espacial, porém com capacidade mnemônica aparentemente preservada, como demonstrados nos gráficos supracitados pela média de G1 e G2 somados.

Quando a comparação é feita entre as doses, para aferir qual seria mais maleficiente, é demonstrado, pelos resultados apresentados, que não há diferença estatisticamente revelante entre os dois grupos no tocante a memória espacial, aprendizado ou capacidade mnemônica.

Como conclusão geral deste estudo, pode-se afirmar que a VGB gera um efeito tóxico caso administrado durante a gravidez em ratos, sendo a mortalidade intrauterina e perinatal dose-dependentes, já os déficits apresentados pelos grupos formados pelas proles destas genitoras, não parecem ter relação com a dose administrada, trazendo um prejuízo importante no âmbito de orientação espacial, aprendizado e resposta ao medo, porém sem alteração da capacidade mnemônica.

5. Referências

- 1 - Scott RA, Lhatoo SD, Sander JW. **The treatment of epilepsy in developing countries: where do we go from here?** Bull World Health Organ. 2001;79(4):344-51.
- 2 - Browne TR, Holmes GL. **Epilepsy.** New England Journal Medicine. 2001; 344:1145-51.
- 3 - Costa JC, Russo RE, Guilherme G, Velluti JC. **Bases celulares da epilepsia.** Jornal da Liga Brasileira de Epilepsias. 1992; 5(1):9-17.
- 4 - Samren EB, van Dujin CM, Christiaens GC, et al. **Antiepileptic drug regimens and major congenital abnormalities in the offspring.** Ann Neurol. 1999;46:739-46.
- 5 - Yerby M. **Pregnancy and epilepsy.** Epilepsia. 1991;32(Suppl. 6):S51-9.
- 6 - Teramo K, Hiilesmaa V, Bardy A, Saarihosk S. **Fetal Heart Rate During a Maternal Grand Mal Epileptic Seizure.** J Perinat Med 1979; 7: 3-6.
- 7 - Lipka K, Bulow HH. **Lactic acidosis following convulsions.** Acta Anaesthesiol Scand 2003;47:616-8
- 8 - Adab N, Kini U, Vinten J, Ayres J, Baker G, Clayton-Smith J, Coyle H, et al. **The longer term outcome of children born to mothers with epilepsy.** J Neurol Neurosurg Psychiatry 2004;75:1575-83.
- 9 - Perucca E. **Drug metabolism in pregnancy, infancy and childhood.** Pharmacol Ther. 1987;34:129-43.
- 10 - LaJoie J, Moshe SL. **Effects of seizures and their treatment on fetal brain.** Epilepsia 2004;45(Suppl 8):48–52.
- 11 - Holmes LB, Harvey EA, Coull BA, et al. **The teratogenicity of anticonvulsant drugs.** N Engl J Med. 2001;344:1132-8
- 12 - Pennell PB. **The importance of monotherapy in pregnancy.** Neurology. 2003;60(Suppl. 4):S31-S38.
- 13 - Ornoy A, Cohen E. **Outcome of children born to epileptic mothers treated with carbamazepine during pregnancy.** Archives of Disease in Childhood 1996;75:517-20.

14 - **Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology.** Practice parameter: management issues for women with epilepsy. *Epilepsia*. 1998;39(11):1226-31.

15 - El-Sayed YY. **Obstetric and gynaecological care of women with epilepsy.** *Epilepsia* 1998;39(suppl 18):S17-S25.

16 - Kaplan PW. **Reproductive health effects and teratogenicity of antiepileptic drugs.** *Neurology* 2004;63:13-23.

17 - Adab N, Tudur SC, Vinten J, Williamson PR, Winterbottom JB. **Common antiepileptic drugs in pregnancy in women with epilepsy.** *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(3).

18 - Brown JP, Boden P, Singh L, Gee NS. **Mechanisms of action of gabapentin.** *Rev Contemp Pharmacother* 1996; 7: 203-14.

19 – Guilherme MC, et al. **Efeitos do Tratamento Perinatal com Lítio na Memória e Aprendizado de Ratos.** *Rev. Ciênc. Méd.*, 12 (3): 235-245, Campinas – SP, 2003.