

CAROLINE COUTINHO DE BARCELOS

**EFEITOS NEUROMUSCULARES DO ATRACÚRIO
E DO ROCURÔNIO EM RATOS PRÉ-TRATADOS COM
CARBAMAZEPINA E FENOBARBITAL.
ESTUDO *IN VITRO* E *IN VIVO*.**

CAMPINAS

2007

CAROLINE COUTINHO DE BARCELOS

**EFEITOS NEUROMUSCULARES DO ATRACÚRIO
E DO ROCURÔNIO EM RATOS PRÉ-TRATADOS COM
CARBAMAZEPINA E FENOBARBITAL.
ESTUDO *IN VITRO* E *IN VIVO*.**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre
em Farmacologia*

ORIENTAÇÃO: PROF^a. DR^a. LÉA RODRIGUES SIMIONI

CO-ORIENTAÇÃO: PROF^a. DR^a. YOKO OSHIMA FRANCO

CAMPINAS

2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

B235e Barcelos, Caroline Coutinho de
Efeitos neuromusculares do atracúrio e do rocurônio em ratos pré-tratados com carbamazepina e fenobarbital. Estudo *in vitro* e *in vivo* / Caroline Coutinho de Barcelos. Campinas, SP : [s.n.], 2007.

Orientadores : Léa Rodrigues Simioni, Yoko Oshima Franco
Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Atracúrio. 2. Rocurônio. 3. Agentes não Despolarizantes.
4. Medicamentos - Interações. 5. Carbamazepina. 6. Fenobarbital
7. Anticonvulsivantes. I. Simioni, Léa Rodrigues. II. Franco,
Yoko Oshima. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Ciências Médicas. IV. Título.

Título em inglês : Neuromuscular effects of atracurium and rocuronium in pre treated rats with carbamazepine and phenobarbital. Study in vitro and in vivo

Keywords: • Atracurium
• Rocuronium
• Non-depolarizin agents
• Medication – interactions
• Carbamazepine
• Phenobarbital
• Anticonvulsants

Titulação: Mestre em Farmacologia

**Banca examinadora: Profa. Dra. Léa Rodrigues Simioni
Profa. Dra. Eliana Marisa Ganem
Prof. Dr. Cleber Evandro Teixeira**

Data da defesa: 25 - 04 - 2007



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Profa. Dra. Léa Rodrigues Simioni

Membros:

Profa. Dra. Léa Rodrigues Simioni

Prof. Dr. Cleber Evandro Teixeira

Profa. Dra. Eliana Marisa Ganem

Eliana M Ganem

Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data da Defesa: 25/04/2007

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado ao Prof^o. Dr. Marcos Dias Fontana (*in memoriam*) por me aceitar como aluna, confiar e principalmente acreditar na minha capacidade.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Léa Rodrigues Simioni pela oportunidade e orientação.

À co-orientadora Prof^a. Dr^a. Yoko Oshima Franco, pela amizade, paciência e ensinamentos ao longo deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Angélica de Fátima Assunção Braga, que também considero como minha co-orientadora, pelo apoio, dedicação, orientação e também muita paciência.

Aos técnicos Toninho e Gildo, pela paciência e disponibilidade de tempo para ensinar as técnicas utilizadas neste estudo.

Ao amigo Thomaz Augusto Silva pelo ensinamento e ajuda da difícil técnica de dosagem de citocromo P450.

À minha mãe Helenice Z. Coutinho, pelo apoio incondicional, amor e paciência.

Ao meu namorado Daniel Gomes pela ajuda em tornar o “sonho da Unicamp” em realidade.

Aos amigos do laboratório, Samanta, Silmara, Yolanda, Sandro, Mário, Dimas, Priscila, Charlene, Sara, Valdemir e Gina, pela ajuda ao longo deste trabalho.

Ao Wanderlei, Elaine e Fran pela disposição e ajuda.

À Capes, pelo auxílio financeiro.

À Unicamp, pela realização deste trabalho.

A todos que colaboraram direta e indiretamente na realização deste trabalho.

"Despertar a curiosidade, inata ao homem e vivacíssima no menino, eis o primeiro empenho do professor, num método racional. Da curiosidade nasce à atenção; da atenção à percepção e a memória inteligente."

Rui Barbosa, 1889.

	PÁG.
RESUMO	<i>xiii</i>
ABSTRACT	<i>xv</i>
1- INTRODUÇÃO	17
2- OBJETIVOS	27
3- MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1- Animais	30
3.2- Fármacos e Concentrações	30
3.3- Métodos Utilizados	30
3.3.1- Distribuição dos grupos.....	30
3.3.2- Tratamento.....	31
3.3.3- Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato (NFD).....	31
3.3.4- Preparação Nervo Ciático-Poplíteo Externo – Músculo Tibial Anterior (NPETA).....	31
3.4- Dosagem de Citocromos P450 e b5 em Microssomos de Ratos	32
3.4.1- Isolamento do Fígado (Método de Perfusão).....	32
3.4.2- Isolamento dos Microssomos.....	32
3.4.3- Concentrações Específicas de Citocromo P450 e b5.....	33
3.5- Análise estatística	34
4- RESULTADOS	35
4.1- Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato (NFD)	36
4.1.1- Tratamento com a carbamazepina.....	36
4.1.2- Tratamento com o fenobarbital.....	41

4.2- Preparação Nervo Ciático-Poplíteo Externo – Músculo Tibial Anterior (NPETA).....	45
4.2.1- Tratamento com a carbamazepina.....	45
4.2.2- Tratamento com o fenobarbital.....	49
4.3- Concentrações de citocromos P450 e b5 redutase em microsossomos hepáticos.....	53
5- DISCUSSÃO.....	55
6- CONCLUSÃO.....	61
7- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
9- ANEXOS.....	73
Anexo 1- Confirmação de submissão do artigo.....	74
Anexo 2- Certificado de aprovação da Comissão de Ética em Experimentação Animal.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

ATC	atracúrio
BNM	bloqueador neuromuscular
BSA	albumina sérica bovina
b5 redutase	citocromo b5 redutase
CBZ	carbamazepina
CO	monóxido de carbono
DE ₅₀	dose eficaz em 50% dos indivíduos
DE ₉₅	dose efetiva para bloqueio de 95% da resposta do adutor do polegar
DTN	ditionito de sódio
DP	desvio-padrão
FB	fenobarbital
GABA	ácido gama-amino-butírico
Hz	hertz
JNM	junção neuromuscular
µg	micrograma
mim	minutos
ml	mililitros
mM	milimolar
mV	milivolts
n	números de experimentos
NaCl	cloreto de sódio
NADH	nicotinamida-adeninucleotídeo

NFD	nervo frênico-diafragma
nM	nanomolar
NPETA	nervo ciático-poplíteo externo-tibial anterior
P450	enzimas microsossomais P450, pois apresentam pico de absorção espectrofotométrica no comprimento de onda de 450 nm
ROC	rocurônio

	PÁG.
Figura 1- Fórmula estrutural do atracúrio.....	20
Figura 2- Fórmula estrutural do rocurônio.....	22
Figura 3- Fórmula estrutural da carbamazepina.....	24
Figura 4- Fórmula estrutural do fenobarbital.....	26
Figura 5- Desenho experimental da metodologia.....	34
Figura 6- Registros miográficos representativos da resposta contrátil de diafragma de ratos à estimulação indireta (n=5).....	37
Figura 7- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos.....	38
Figura 8- Registros miográficos representativos das respostas contráteis de diafragmas de ratos à estimulação indireta (n=5).....	39
Figura 9- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos.....	40
Figura 10- Registros miográficos representativos da resposta contrátil de diafragma de ratos à estimulação indireta (n=5).....	42
Figura 11- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil de diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos.....	43
Figura 12- Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo diafragma de ratos à estimulação indireta (n=5).....	44

Figura 13-	Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos.....	45
Figura 14-	Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5).....	46
Figura 15-	Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo tibial anterior à estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos.....	47
Figura 16-	Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5).....	48
Figura 17-	Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo diafragma a estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos.....	49
Figura 18-	Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5).....	50
Figura 19-	Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo tibial anterior à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos.....	51
Figura 20-	Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5).....	52
Figura 21-	Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo tibial anterior à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos.....	53
Figura 22-	Concentração de citocromos P450 e b5 redutase em microsomas de ratos.....	54

RESUMO



Atracúrio (ATC) e rocurônio (ROC) são bloqueadores neuromusculares de ação intermediária. Neste estudo, seus efeitos neuromusculares foram investigados *in vitro* e *in vivo* em ratos pré-tratados, via gavagem (7d), com os anticonvulsivantes (AC) carbamazepina (CBZ, 40 mg/kg) e fenobarbital (FB, 20 mg/kg) e sacrificados no 8º dia, sob anestesia com uretana. Os resultados foram comparados com a condição-controle (ratos não tratados com AC). A exposição crônica a AC pode determinar a indução de enzimas microsomais responsáveis pela metabolização (oxidação) de fármacos. Para o controle desse fenômeno farmacológico foram determinadas as concentrações enzimáticas de citocromo P450 e b5 redutase, em microsomos hepáticos de ratos tratados com AC, e comparados aos controles. As preparações *in vitro* e *in vivo* foram montadas de acordo com as técnicas de Bulbring e de Leeuwijn e Wolters, respectivamente. As concentrações utilizadas dos bloqueadores nas preparações *in vitro* e *in vivo* foram, respectivamente, 20 µg/mL e 0,5 mg/kg para atracúrio (ATC); 4 µg/mL e 0,6 mg/kg para rocurônio (ROC). Cada protocolo teve um n=5 e as respostas foram observadas por 60 min. Os resultados tanto *in vitro* quanto *in vivo* mostraram que o pré-tratamento com a carbamazepina reduziu a resposta contrátil em cerca de 30%. Sob sua vigência, não houve alteração do bloqueio produzido pelo atracúrio e pelo rocurônio, possivelmente porque o tempo de tratamento com a carbamazepina não foi suficiente para causar indução enzimática. Em relação ao fenobarbital, os resultados *in vitro* e *in vivo* mostraram nenhuma alteração significativa sob a resposta contrátil. Sob sua vigência, diminuiu a sensibilidade do ATC em produzir o bloqueio neuromuscular *in vitro*. Contudo, *in vivo* potencializou o bloqueio neuromuscular de ambos os bloqueadores estudados. Essas alterações observadas em ambos os modelos experimentais podem ser devidas à indução ocorrida com o fenobarbital, conforme comprovado pela concentração de citocromo P450 (0,69 nmol/mg proteína) e b5 redutase (0,62 nmol/mg proteína).

ABSTRACT



Atracurium (ATC) and rocuronium (ROC) are neuromuscular blockers of intermediate action. In this study, the neuromuscular effects had been investigated *in vitro* and *in vivo* in treated rats, by gavage (7d), with the anticonvulsants (AC) carbamazepine (CBZ, 40 mg/kg) and phenobarbital (FB, 20 mg/kg) and sacrificed on the eighth day, under anesthesia with urethane. The results had been compared with the control-condition (rats not treated AC). The chronic exposition the AC can determine the induction of microsomes enzyme for the responsible metabolization (oxidation) of drugs. For the control of this pharmacologic phenomenon the enzymatic concentrations of P450 and b5 cytochromes had been determined, in livers microsomes of rats treated with AC, and compared with the controls. The preparations *in vitro* and *in vivo* had been followed the Bulbring and Leeuwijn and Wolters techniques, respectively. The *in vitro* and *in vivo* concentrations were 20 µg/ml and 0.5 mg/kg, respectively, for atracurium (ATC); and 4 µg/ml and 0.6 mg/kg for rocuronium (ROC). Each protocol presented n=5 and the answers were calculated during 60 minutes. The *in vitro* and *in vivo* results showed that treatment with carbamazepine reduced the extent of muscle response in about 30%. Under its validity, did not alter the extent of the muscle response block produced by atracurium and rocuronium possibly because the period of time of carbamazepine treatment was not enough to cause enzymatic induction. Regarding phenobarbital, the *in vitro* and *in vivo* results did not alter significant the extent of the muscle response block produced. Under its validity, reduced the ATC sensitivity the block neuromuscular *in vitro* produced. However, *in vivo* increased the neuromuscular block of both the blockers studied. These alterations observed in both the experimental models can have occurred induction with the phenobarbital, as proven P450 (0,69 nmol/mg protein) and b5 (0,62 nmol/mg protein) of cytochrome concentration.

1- INTRODUÇÃO

A história do curare teve início com a descoberta deste continente, onde os primeiros exploradores verificaram que os índios usavam um veneno nas pontas das flechas para caçar animais selvagens para alimentação. Os exploradores notaram ainda que esses animais morriam por paralisia da musculatura esquelética e o mais incrível disto, é que os índios não apresentavam nenhum sinal de intoxicação (Taylor, 1996; Silva, 2000).

Os primeiros estudos sobre o curare ocorreram no século XVI, quando amostras das preparações dos venenos foram levadas para a Europa; mas foi Claude Bernard, fisiologista francês, em 1856, quem descreveu o modo de ação paralisante do curare na junção neuromuscular (Goodman e Gilman, 1996).

O curare é uma mistura de alcalóides de ocorrência natural encontrados em diversas plantas e após inúmeras pesquisas, King em 1935, descobriu a estrutura essencial da d-tubocurarina que foi extraída do *Condrodendron tomentosum*, um vegetal que se encontra na Amazônia (Gómez et al., 2000).

O primeiro ensaio com o curare na anestesia foi descrito em 1942 por Griffith e Johnson; e depois da Segunda Guerra Mundial foi amplamente utilizado na prática clínica com a finalidade de causar relaxamento muscular (Goodman e Gilman, 1996).

No Brasil, o interesse pelas drogas curarizantes ocorreu ainda na década de 1940. No campo da farmacologia, Vital Brazil e colaboradores publicaram os primeiros resultados de suas pesquisas com os alcalóides solúveis do *Chondodendron platyphilum*. Já na área clínica, Guimarães e Souza realizaram a primeira anestesia em que se empregou o curare (Intocostrin®) em paciente submetido à anestesia geral com ciclopropano (Duarte, 2000).

Problemas na preparação do fármaco e no seu abastecimento estimularam o interesse em desenvolver substâncias sintéticas que pudessem causar bloqueio neuromuscular. Por anos não obtiveram êxito ao priorizar a potência, entre outras características, e alguns fármacos sobreviveram por curto tempo. Por muitos anos foi considerada a estrutura da d-tubocurarina proposta por King mas a busca por bloqueadores neuromusculares foi dirigida pela idéia de que a presença de nitrogênios quaternários seria

indispensável para produzir um bloqueio neuromuscular e que estes deveriam estar separados por uma distância de 1,2 a 1,4 nm e posteriormente foi constatado que um dos átomos de nitrogênio correspondia a uma amina terciária e promovia atividade bloqueadora (Gómez et al., 2000).

Atualmente, a d-tubocurarina não é mais utilizada na prática clínica; somente em estudos experimentais como protótipo, devido ao bloqueio persistente e a dificuldade de reversão completa do bloqueio após a cirurgia. Com isto, os relaxantes neuromusculares de uso atual são totalmente sintéticos (Taylor, 1996).

Bloqueador neuromuscular designa não somente as substâncias que atuam nos receptores nicotínicos, impedindo a ação da acetilcolina, como aquelas que interferem com a sua síntese ou liberação e conseqüentemente com a transmissão do impulso nervoso (Waud, 1984). A denominação relaxante muscular, comumente empregada, é imprecisa porque engloba não somente as substâncias que atuam na junção neuromuscular como as que promovem relaxamento muscular esquelético atuando no sistema nervoso central (Bourillet e Cheymol, 1966).

Para ocorrer a transmissão neuromuscular, um tipo diferente de transmissão nervosa ocorre quando um axônio se liga ao receptor nicotínico da placa terminal do músculo, em uma estrutura especializada chamada de junção neuromuscular. Um potencial de ação que ocorre nesse local é conhecido como potencial de placa terminal. Em uma junção neuromuscular, o axônio subdivide-se em inúmeros botões terminais localizados em depressões formadas na placa motora. A acetilcolina é o transmissor especial utilizado na junção neuromuscular (Goodman e Gilman, 1996; Taylor, 2001).

Os bloqueadores neuromusculares apresentam em sua estrutura um ou mais grupos de amônio quaternário, carregados positivamente, que se ligam às subunidades α do receptor nicotínico na placa motora, mimetizando a ação da acetilcolina causando despolarização antes da paralisia ou impedindo o acesso da acetilcolina ao receptor evitando a despolarização (Hunter, 1999; Taylor, 2001; Stoelting e Hillier, 2006)

O atracúrio tem uma DE_{50} de 0,13 (dose eficaz em 50% dos indivíduos) e DE_{95} de 0,25 mg/kg em dose única é 2,5 vezes mais potente que a d-tubocurarina e tem início de ação de aproximadamente dois minutos e duração de ação de aproximadamente 30 minutos. A recuperação espontânea do bloqueio neuromuscular é relativamente rápida e segue o modelo dos bloqueadores de duração intermediária conjuntamente com vecurônio, rocurônio e o cisatracúrio. Varia de 25 a 75% e é facilmente antagonizada pelos anticolinesterásicos; a recuperação é mais rápida com edrofônio do que com neostigmina, apesar da neostigmina ser mais usada (conseqüente hipotensão arterial e taquicardia) (Miller et al., 1984; Miller e Von Ehrenburg, 1994; Savarese e Wastila, 1995; Sparr et al., 2001).

Após o uso de doses repetidas para a manutenção do bloqueio neuromuscular não se observa alteração na curva de recuperação, demonstrando que o atracúrio não é cumulativo (Basta et al., 1982; Sparr et al., 2001), provavelmente devido à sua maneira particular de degradação e metabolismo.

O rocurônio é um bloqueador neuromuscular aminoesteróide do tipo adespolarizante. É um composto de amônio quaternário com características químicas e neuromusculares semelhantes ao vecurônio. Tem início de ação rápido e duração de efeito intermediário de aproximadamente 30 minutos. É praticamente isento de ação bloqueadora ganglionar e vagolítica, não possui efeitos cardiovasculares e não libera histamina. Por essas vantagens, é muito utilizado em procedimentos cirúrgicos e para facilitar a intubação endotraqueal (Furtado et al., 1997; Silva, 2000; Sparr et al., 2001).

O rocurônio tem uma DE_{50} de 0,14 e uma DE_{95} de 0,3 mg/kg, é 1,5 vezes menos potente que o atracúrio e vecurônio, e é facilmente antagonizado pelos anticolinesterásicos. Tem eliminação predominantemente hepática sem liberação de metabólitos (Furtado et al., 1997; Gómez et al., 2000; Stoelting e Hillier, 2006).

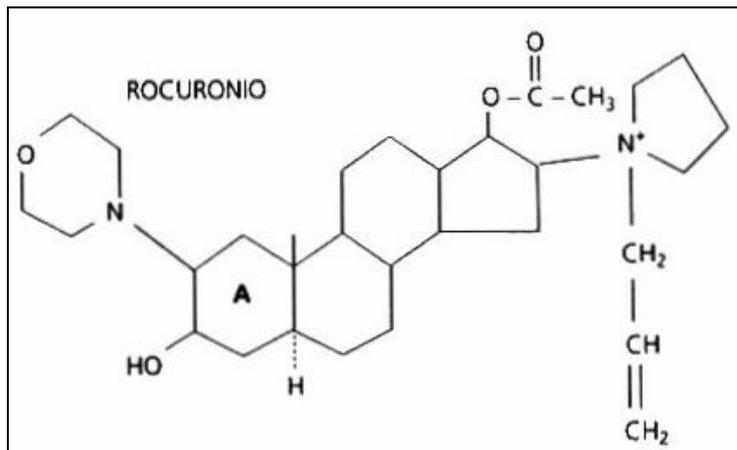


Figura 2- Fórmula estrutural do Rocurônio

(Fonte: Gómez et al., 2000).

Muitos são os fármacos utilizados nos períodos pré ou per-operatório que podem interferir na transmissão neuromuscular porque são utilizados conjuntamente com os bloqueadores neuromusculares.

Essas interações medicamentosas podem afetar a farmacocinética e a farmacodinâmica dos bloqueadores neuromusculares, podendo existir tanto alterações na distribuição, metabolismo ou eliminação, como, por exemplo, aumento ou diminuição na liberação, transmissão e síntese de acetilcolina na placa motora (Gómez et al., 2000).

Dentre as interações mais frequentes, estão o uso dos bloqueadores neuromusculares com anestésico local e inalatório, ansiolíticos, anticonvulsivantes, antibióticos, bloqueadores de canal de cálcio, lítio etc. (Martins e Martins, 1997; Gómez et al., 2000; Loyola et al., 2006; Souza et al., 2006).

Entre as drogas com ação no sistema nervoso central estão os anticonvulsivantes, que correspondem a um grupo de medicamentos amplamente utilizados em pacientes com epilepsia, transtorno bipolar e neuralgia do trigêmeo (Katzung, 1994; Harvey e Champe, 1998; Rang, Dale e Ritter, 2001).

A epilepsia é o segundo distúrbio neurológico mais comum depois do acidente vascular cerebral. A incidência da epilepsia varia de acordo com a localização geográfica. Ela ocorre com maior frequência nos países em desenvolvimento, onde há maior ocorrência de desnutrição, doenças infecciosas e deficiência no atendimento médico. Em países mais desenvolvidos, a incidência é de aproximadamente 1%, subindo para 2% em nações menos desenvolvidas. A epilepsia é mais comum na infância, quando aumenta a vulnerabilidade a infecções do sistema nervoso central (meningite), acidentes (traumatismos do crânio) e doenças como sarampo, varicela e caxumba, cujas complicações podem causar crises epiléticas. O problema também poderá se manifestar com o envelhecimento e suas complicações vasculares (LIGA BRASILEIRA DE EPILEPSIA, 2006).

O evento mais comum na epilepsia, embora não seja regra, é a convulsão, caracterizada por descargas frequentes e anormais de neurônios no cérebro, ou seja, a despolarização repetida de neurônios cerebrais, resultando em movimentos ou percepções como alucinações auditivas, visuais e olfatórias, tremores etc. As possibilidades para a ocorrência da epilepsia são, entre outros distúrbios da membrana neuronal, diminuição da inibição ou aumento da excitação (Katzung, 1994; Harvey e Champe, 1998; Guerreiro e Guerreiro, 2004).

A epilepsia é classificada em dois grupos: parcial ou focal, subdivididos em simples e complexa; e generalizada também subdivididos em tônico-clônicas ou grande mal, crises de ausência ou pequeno mal, mioclônicas, convulsões febris na infância e estado epilético. Se as alterações epiléticas ficam restritas a uma parte do cérebro, a crise chama-se parcial; se o cérebro inteiro está envolvido, chama-se generalizada. Existem, ainda, várias outras manifestações de epilepsia e os medicamentos são prescritos de acordo com o tipo de crise que o paciente apresenta. Dentre os medicamentos mais indicados estão a carbamazepina e o fenobarbital, prescritos para mais de um tipo de epilepsia (Guerreiro e Guerreiro, 2004; LIGA BRASILEIRA DE EPILEPSIA, 2006).

A carbamazepina é um composto tricíclico originalmente desenvolvido para o tratamento da depressão bipolar e inicialmente comercializado para o tratamento da neuralgia do trigêmeo. Só que também se mostrou eficaz no tratamento de pacientes com epilepsia. Atualmente é utilizada no tratamento das crises parciais simples e complexas e

também se mostrou eficaz em diminuir as crises tônico-clônicas e as manifestações dolorosas na neuralgia do nervo trigêmeo (Katzung, 1994).

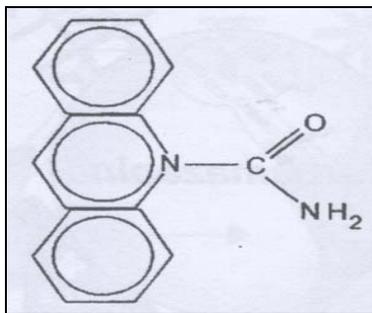


Figura 3- Fórmula estrutural da carbamazepina

(Fonte: Guerreiro e Guerreiro, 2004).

A carbamazepina apresenta em sua estrutura química a porção de ureida presente no anel heterocíclico e muitas semelhanças com a fenitoína; é lentamente absorvida por via oral e pelo trato gastrointestinal e tem uma biodisponibilidade de 80 a 90%; é um composto lipofílico que atravessa facilmente a barreira hematoencefálica (Guerreiro e Guerreiro, 2004); tem uma meia-vida de 6 – 12 horas com uma concentração sanguínea terapêutica de 5 a 8 µg/ml e apenas 70% da droga está ligada às proteínas plasmáticas do sangue (Katzung, 1994; Harvey e Champe, 1998; Rang et al., 2001).

O mecanismo de ação da carbamazepina indica que ela bloqueia os canais de sódio nas concentrações terapêuticas e inibe a deflagração repetitiva de alta frequência nos neurônios em cultura; age também pré-sinápticamente, diminuindo a transmissão sináptica. Mas, um dos supostos mecanismos de ação, a potencialização da ação do ácido γ -amino-butírico (GABA) é controverso, pois alguns autores acreditam que a carbamazepina não influencia o GABA no que se refere à sua recaptação em partes do cérebro (Katzung, 1994). Em relação aos canais de sódio, a carbamazepina afeta a excitabilidade das membranas através de uma ação sobre esses canais que são voltagem dependentes, que transportam a corrente para o interior da célula, necessária para que ocorra o potencial de ação. Essa ação tem uma propriedade chamada de dependência do

uso, ou seja, quanto maior a frequência dos disparos maior o bloqueio produzido; as drogas anticonvulsivantes se ligam a neurônios despolarizados, impedindo a repolarização e conseqüentemente um novo potencial de ação (Rang et al., 2001).

A metabolização da carbamazepina é quase totalmente hepática, e as maiores vias de biotransformação são via epóxido-diol, hidroxilação aromática e conjugação. A carbamazepina é oxidada pelo sistema do citocromo P450 e a carbamazepina-10, 11-epóxido é considerado o mais importante produto do metabolismo da carbamazepina (Guerreiro e Guerreiro, 2004).

A citocromo P450 é uma hemoproteína que recebe este nome por exibir um pico em 450 nm proeminente em espectros ópticos, na região visível, quando reduzido por ditionito de sódio e ligado ao monóxido de carbono (Omura e Sato, 1964).

O sistema enzimático citocromo P450 consiste num grupo de isoenzimas, onde aproximadamente 50% de todos os medicamentos são substratos do CYP3A4 que estão presentes no fígado e enterócitos do trato gastrointestinal. Assim, o metabolismo parcial começa no fígado. Os medicamentos metabolizados pelas enzimas do citocromo P450 podem ter um efeito por meio de três processos: por metabolismo, por inibição ou indução de enzimas ou pelos três processos juntos. Os indutores aumentam a produção de enzimas e assim aceleram o metabolismo. Conseqüentemente, os níveis de substratos no plasma baixam, originando concentrações subterapêuticas. Os indutores do CYP3A4 incluem a carbamazepina, fenitoína, rifabutina, rifampicina e a erva de S. João (Dresser et al., 2000).

O fenobarbital é um barbitúrico de ação prolongada, freqüentemente utilizado no tratamento dos quadros de convulsões tônico-clônicas generalizadas e convulsões parciais simples com sintomas motores, formas de epilepsia focal, bem como na ansiedade e na insônia (Silva e Hartmann, 2006). Apresenta em sua estrutura química um anel fenil e também muitas semelhanças com a fenitoína. O fenobarbital é bem absorvido por via oral e alcança livremente o cérebro. Tem uma meia-vida longa de 50 – 140 horas com uma concentração sanguínea terapêutica de 10 a 40 µg/ml e apenas 50% da droga está ligada às proteínas plasmáticas do sangue. Cerca de 25% são excretados de forma inalterada na urina e os 75% restantes deste fármaco são inativados pelo sistema microsomal hepático (Mattson et al., 1985; Katzung, 1994; Harvey e Champe, 1998; Rang et al., 2001).

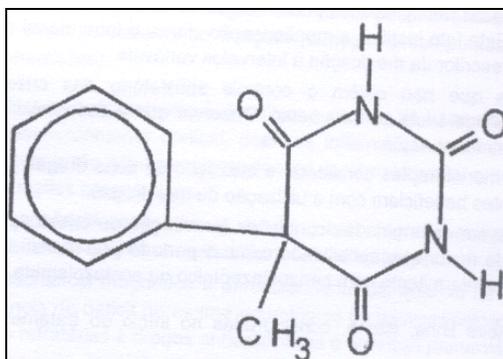


Figura 4- Fórmula estrutural do fenobarbital

(Fonte: Guerreiro e Guerreiro, 2004).

O mecanismo de ação do fenobarbital indica que ele interfere no transporte de sódio e potássio através da membrana, ocorrendo inibição do sistema ativador reticular mesencefálico, inibe a transmissão polissináptica e potencializa a ação do GABA quanto à entrada de cloreto no neurônio, mesmo não se ligando ao receptor benzodiazepínico. O fenobarbital é metabolizado no fígado pelo sistema P450 e quando usado cronicamente pode aumentar o metabolismo de outros fármacos, da fosfatase alcalina, da gama glutamil transferase e diminuir o metabolismo da bilirrubina e do cálcio sérico (KATZUNG, 1994).

As interações entre os bloqueadores neuromusculares e outros fármacos têm sido amplamente estudadas, onde alguns mecanismos de ação foram confirmados, outros ainda não, permanecendo como teoria na literatura.

2- OBJETIVOS

2.1- Geral

Avaliar em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo* a influência da carbamazepina e do fenobarbital nas respostas musculares e no bloqueio neuromuscular produzido por diferentes bloqueadores neuromusculares.

2.2- Específicos

2.2.1- Avaliar os efeitos da carbamazepina e do fenobarbital nas respostas dos músculos diafragma e tibial anterior e no bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio e rocurônio;

2.2.2- Determinar as concentrações de citocromo P450 e b5 redutase em microsossomos hepáticos de ratos expostos ou não à carbamazepina e fenobarbital.

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Animais

Trata-se de estudo experimental *in vitro* e *in vivo* e os procedimentos usados estão de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, sob protocolo n° 862-2 (Anexo 2). Foram utilizados ratos machos de linhagem Wistar, com peso entre 180-200g, fornecidos pelo Biotério Central da UNICAMP, Campinas (SP). Os animais foram mantidos em gaiolas, em temperatura e iluminação controlada (12 horas claro e 12 horas escuro) e receberam água e ração *ad libitum*.

3.2- Fármacos e Concentrações

- Atracúrio – Tacrium[®] (50 mcg/ml) 20 µg/ml, laboratório Cristália, Campinas - SP
- Rocurônio – Esmeron[®] (10 mg/ml) 4 µg/ml, laboratório Orgánon, Campinas - SP
- Carbamazepina – Tegretol[®] (Suspensão a 2%) 40 mg/kg, laboratório Novartis, Taboão da Serra - SP
- Fenobarbital – Gardenal[®] (40 mg/ml) 20 mg/kg, laboratório União Química, Diadema - SP

3.3- Métodos Utilizados

3.3.1- Distribuição dos grupos

Os animais foram distribuídos inicialmente em dois grupos: tratados, subdivididos em: tratados com carbamazepina e tratados com fenobarbital e não tratados.

3.3.2- Tratamento

Os animais, com seis semanas de vida, foram distribuídos para tratamento via gavagem em dois grupos: grupo 1 tratado com carbamazepina (0,2 ml) e grupo 2 tratado com fenobarbital (0,12 ml). O tratamento durou sete dias e foi realizado sempre no mesmo horário. Os animais foram, então, submetidos aos experimentos no oitavo dia.

3.3.3- Preparação Nervo Frênico-Diafragma de Rato (NFD)

Ratos machos pesando entre 180-200g, tratados ou não com os anticonvulsivantes carbamazepina ou fenobarbital, foram anestesiados com uretana (1,2 mg/kg), via intra-peritoneal e sacrificados pela secção e sangria dos vasos cervicais para a retirada do hemidiafragma esquerdo com seu respectivo nervo frênico. A preparação foi retirada (Bülbring, 1946), colocada em cuba contendo solução de Tyrode com a seguinte composição em mM: NaCl - 137; KCl - 2,7; CaCl₂ - 1,8; NaHCO₃ - 11,9; MgCl₂ - 0,25; NaH₂PO₃ - 0,3 e glicose - 11, e presa através dos músculos da costela por ganchos existentes na base da cuba. A temperatura foi mantida a 37°C e a preparação aerada com carbogênio (mistura de 95% O₂ e 5% CO₂). O registro da força de contração muscular foi obtido através de transdutor isométrico Load Cell BG-10 GM, acoplado a um fisiógrafo Gould Universal Amplifier Model RS 3400. O músculo foi submetido à tensão constante de 5 g/cm e à estimulação indireta (nervo frênico) gerado por estimulador S48F (Grass Instruments), de 0,2 ms de duração e 0,1 Hz de frequência. Após três minutos para a obtenção do controle, adicionou-se à cuba atracúrio (20 µg/ml) ou rocurônio (4 µg/ml) e estimulou-se a preparação por mais sessenta minutos para avaliação da porcentagem do bloqueio neuromuscular.

3.3.4- Preparação Nervo Ciático-Poplíteo Externo-Músculo Tibial Anterior (NPETA)

Os ratos, tratados ou não com os anticonvulsivantes carbamazepina ou fenobarbital, foram anestesiados com uretana (1,2 mg/kg), via intra-peritoneal e submetidos à traqueostomia para possibilitar o uso da ventilação mecânica que foi mantida usando um respirador Ugo Basile (mod. 7025), padronizado para manter volume corrente de 1,2 ml/kg

de peso corporal e frequência respiratória de 70 movimentos/min. Após a dissecação e secção do tendão do músculo tibial anterior e do nervo ciático foi realizada a trepanação da tibia para a fixação do membro a uma base de cortiça. O tendão do músculo tibial anterior foi conectado a um transdutor isométrico (BG 50g) e este ao fisiógrafo (Gould RS 4300). O coto distal do nervo ciático foi estimulado (Estimulador Grass S48) através de eletrodos nele fixados, utilizando-se estímulos supramaximais de 0,2 ms de duração e frequência de 0,1 Hz. Após o registro em condições controle (por 3 min) e a verificação do perfeito estado da preparação, as drogas (Atracúrio - 0,5 mg/kg) e Rocurônio - 0,6 mg/kg) foram injetadas pela veia peniana, através de uma cânula encaixada numa seringa contendo as drogas (Leeuwijn e Wolters, 1977), e estimulou-se a preparação por mais sessenta minutos para avaliação da porcentagem do bloqueio neuromuscular.

3.4- Dosagem de Citocromos P450 e b5 redutase em Microsossomos de Ratos

3.4.1- Isolamento do fígado (método de perfusão)

Ratos machos pesando entre 180-200g foram anestesiados com halotano e sacrificados pela secção e sangria dos vasos cervicais. Foi feita uma incisão ventral para a exposição do fígado e, com o auxílio de um catéter, foi injetado no ventrículo cardíaco 50 ml de solução fisiológica NaCl 0,9% sem heparina até o fígado obter uma coloração esbranquiçada e ser retirado e congelado em nitrogênio líquido.

3.4.2- Isolamento dos Microsossomos

Foram isolados microsossomos hepáticos a partir de fígados de ratos tratados com os anticonvulsivantes ou não. Os tecidos foram homogeneizados a mão com tampão fosfato de potássio que foi centrifugado a 10000 x g por 20 minutos (Centrífuga Beckman Avanti J-20 XPI). O sobrenatante foi coletado e ultracentrifugado a 100000 x g por uma hora. Os microsossomos desta centrifugação foram armazenados em freezer a -80 °C para posterior dosagem de proteínas totais, onde utilizou-se o método colorimétrico de Bradford (1976) tendo a albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

3.4.3- Concentrações Específicas de Citocromo P450 e b5 redutase

As concentrações específicas de citocromo P450 e b5 redutase foram determinadas utilizando-se a concentração de b5 redutase com nicotinamida-adeninucleotídeo (NADH) (1 mM) como redutor, e a concentração de P450 com ditionito de sódio (DTN) (2 mM) como redutor e monóxido de carbono (CO) como ligante. Para a análise utilizou-se um espectrofotômetro de placas (Biotek Powerwave 2). As concentrações dos citocromos foram calculadas segundo a fórmula de Lambert-Beer e relacionadas com a concentração de proteínas totais da amostra de microsossomos.

$$A / C.L.\epsilon$$

Fórmula de Lambert-Beer

Onde: A = delta absorvância

ϵ = absorvância específica: P450 = 91 / mM cm e b5 = 112/ mM cm;

L = pista óptica da cubeta, cm;

C = concentração de proteínas microsossomais, mg proteína/ml.

DESENHO EXPERIMENTAL

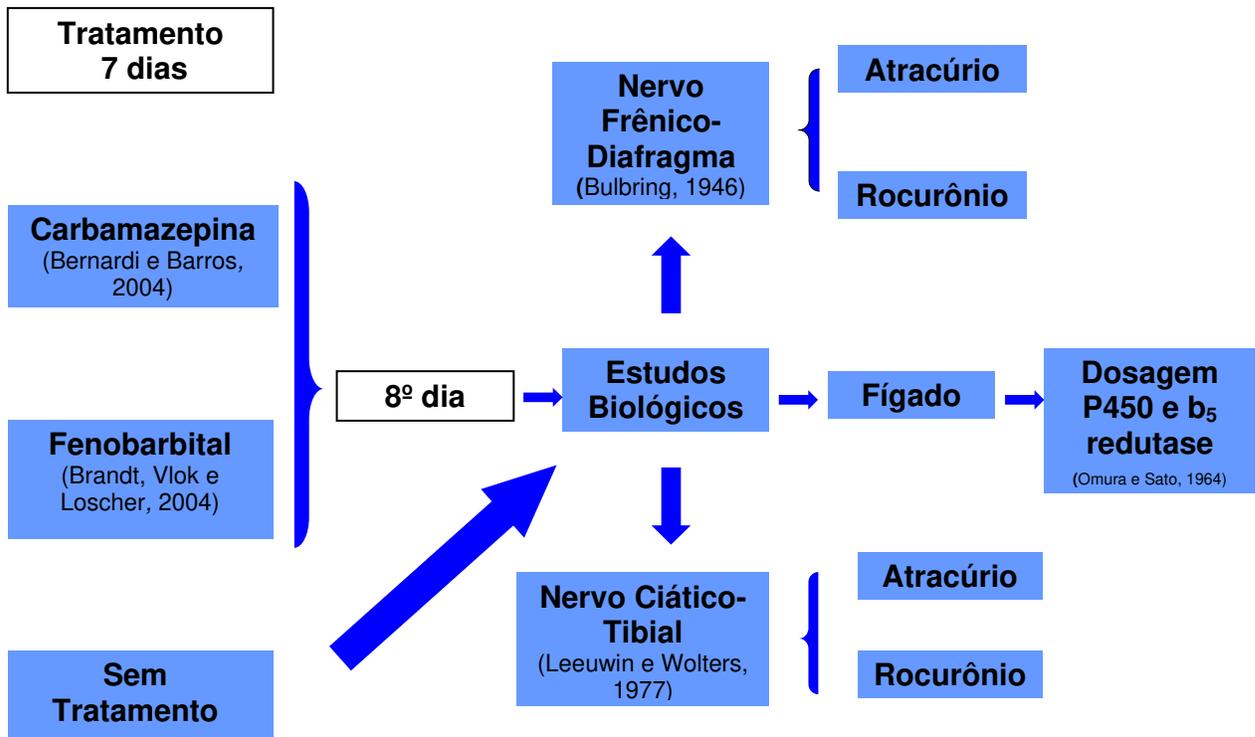


Figura 5- Desenho experimental da metodologia

3.5- Análise estatística

Os resultados foram expressos em média \pm desvio-padrão. A amplitude das respostas musculares foi comparada antes e 60 minutos após a administração das drogas. As concentrações de P450 e b₅ redutase obtidas em fígado de ratos previamente expostos à carbamazepina foram comparadas com as do grupo-controle (solução salina). Utilizou-se o teste t Student, assumindo-se o nível de significância de 5% ($\alpha = 5\%$). O poder do teste foi calculado e obteve-se $\beta > 20\%$ (poder $> 80\%$).

4- RESULTADOS

4.1- Preparação isolada Nervo Frênico-Diafragma de Rato (NFD)

4.1.1- Tratamento com a carbamazepina

A carbamazepina na concentração de 40 mg/kg e empregada em preparações isoladas de ratos causou uma redução média de $27,34 \pm 11,40\%$ na amplitude das respostas musculares à estimulação indireta (Figura 6A).

O bloqueio neuromuscular causado pelo atracúrio nas preparações de ratos expostos cronicamente à carbamazepina foi de $70,0 \pm 8,16\%$ (Figura 6B), sem diferença significativa em relação ao bloqueio observado em diafragma de ratos não expostos à carbamazepina, incubados com o atracúrio ($74,67 \pm 5,05\%$ - Figuras 6C). A representação gráfica aos 60 minutos desses procedimentos experimentais é mostrada na Figura 7.

Em relação ao rocurônio, nos ratos não expostos à carbamazepina, o bloqueio neuromuscular foi de $59,70 \pm 20,10\%$ (Figura 8B) *versus* $85,33 \pm 17,52\%$ (Figura 8C) nos expostos, sem diferença estatisticamente significante. A Figura 9 ilustra a representação gráfica, aos 60 minutos, desses protocolos experimentais.

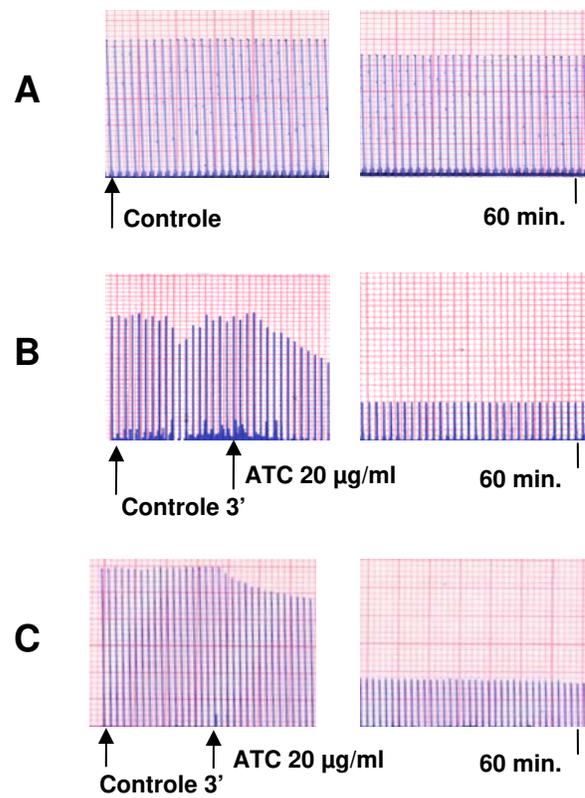


Figura 6- Registros miográficos representativos da resposta contrátil de diafragma de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com carbamazepina; em B utilizou-se o atracúrio (20 µg/ml) em ratos não tratados com carbamazepina e em C, utilizou-se o atracúrio (20 µg/ml) em ratos tratados com carbamazepina. ATC, atracúrio. Flecha indica o momento da adição.

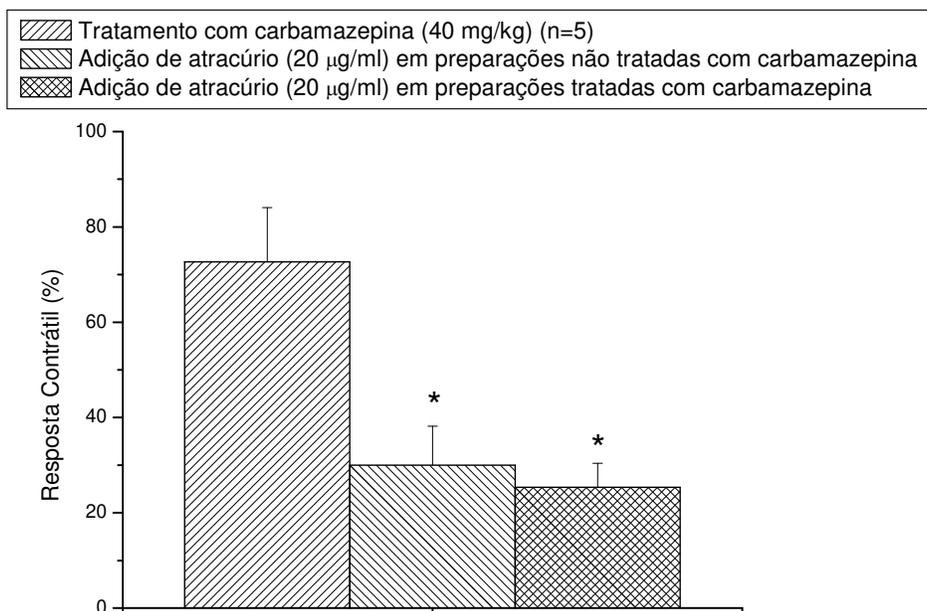


Figura 7- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos. * $p < 0,05$ em relação ao controle (tratamento com a carbamazepina apenas).

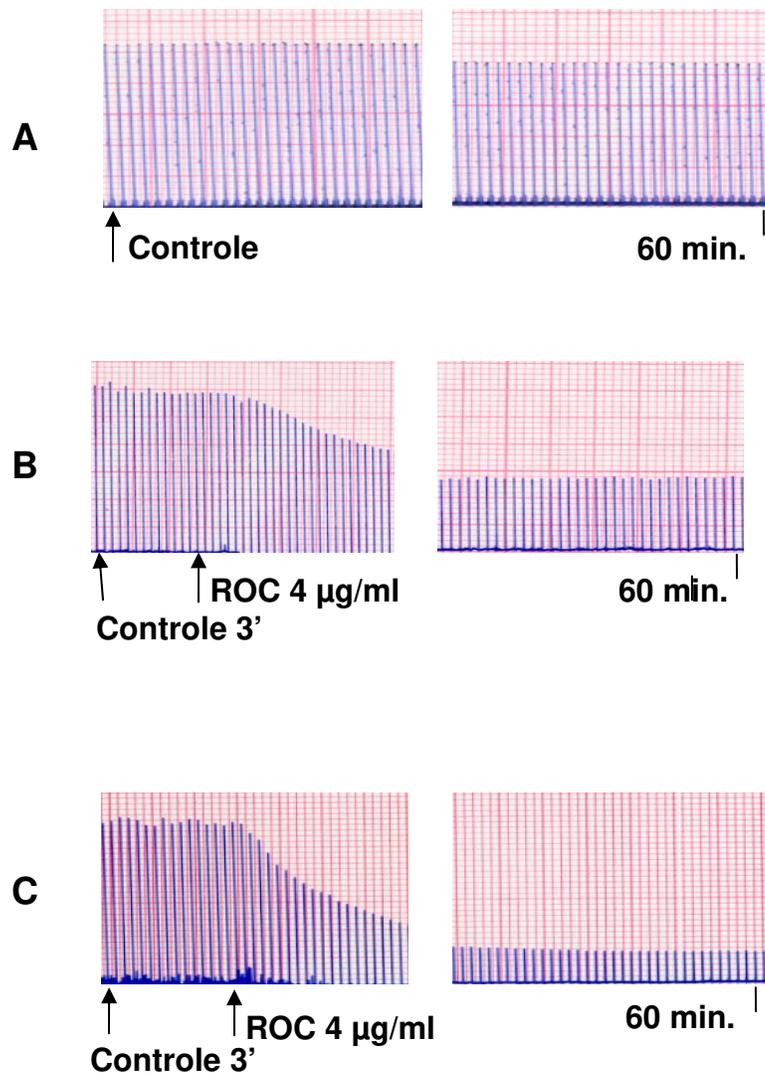


Figura 8- Registros miográficos representativos das respostas contráteis de diafragmas de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com carbamazepina; em B utilizou-se o rocurônio (4 µg/ml) em ratos não tratados com carbamazepina e em C, utilizou-se o rocurônio (4 µg/ml) em ratos tratados com carbamazepina. ROC, rocurônio. Flecha indica o momento da adição.

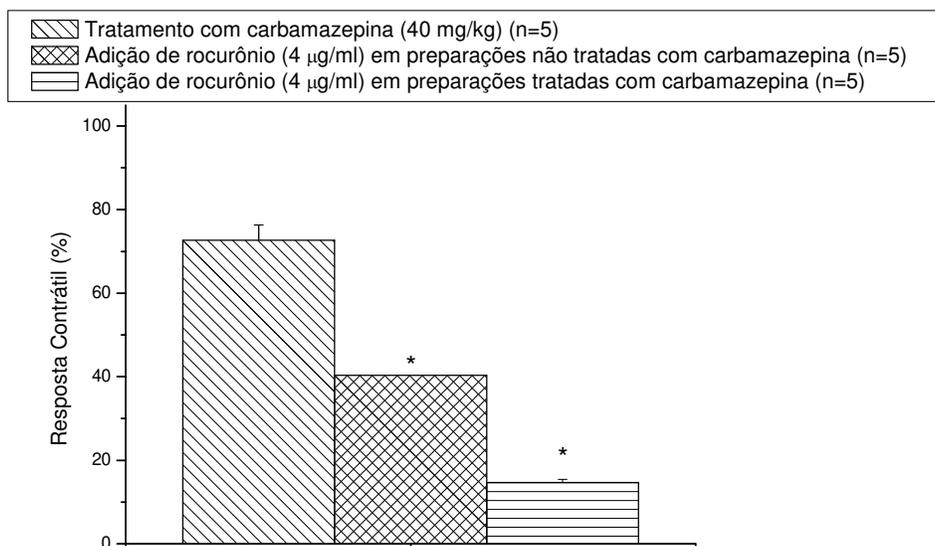


Figura 9- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos. * $p < 0,05$ em relação ao controle (tratamento com carbamazepina). Não houve diferença significativa entre os grupos que receberam rocurônio.

4.1.2- Tratamento com o fenobarbital

O fenobarbital na concentração estudada causou redução média de $8,0\% \pm 7,68\%$ na amplitude das respostas musculares à estimulação indireta (Figura 10A). O bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio nas preparações de ratos não expostos ao fenobarbital foi de $74,67\% \pm 5,05\%$ (Figura 10B) com diferença significativa quando comparado ao observado em diafragma de ratos tratados com fenobarbital ($22,67\% \pm 8,63\%$ - Figura 10C). A Figura 11 ilustra graficamente esses procedimentos, aos 60 minutos.

Em relação ao rocurônio, nos ratos não expostos ao fenobarbital, o bloqueio neuromuscular foi de $59,70\% \pm 20,10\%$ (Figura 12B) versus $80,0\% \pm 7,82\%$ (Figura 12C) nos expostos, sem diferença estatisticamente significativa. A Figura 13 mostra a representação gráfica, dos mesmos resultados, aos 60 minutos.

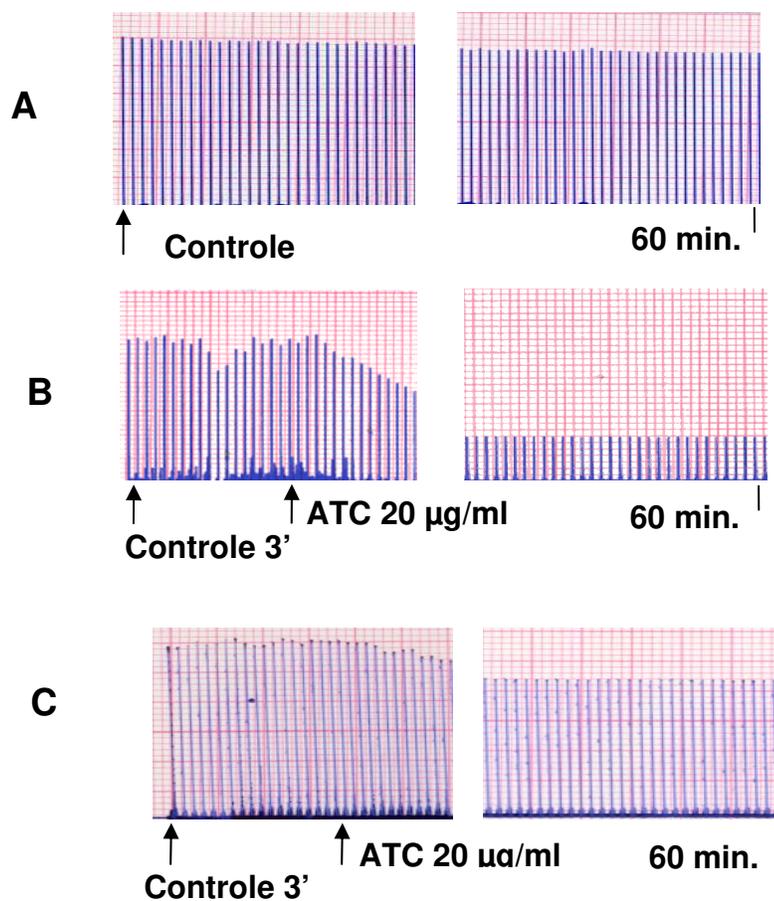


Figura 10- Registros miográficos representativos da resposta contrátil de diafragma de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com fenobarbital; em B utilizou-se o atracúrio (20 µg/ml) em ratos não tratados com fenobarbital e, em C, utilizou-se o atracúrio (20 µg/ml) em ratos tratados com fenobarbital. ATC, atracúrio. Flecha indica o momento da adição.

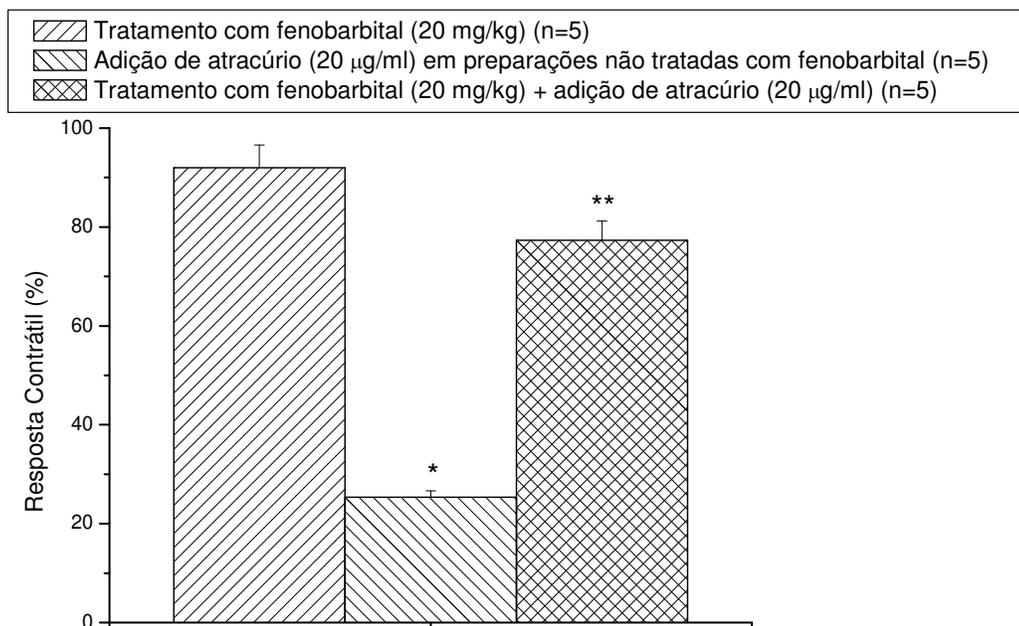


Figura 11- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil de diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos. (* $p < 0,05$ em relação ao controle (ratos tratados apenas com carbamazepina). ** $p < 0,05$ em relação a ratos não tratados com fenobarbital.

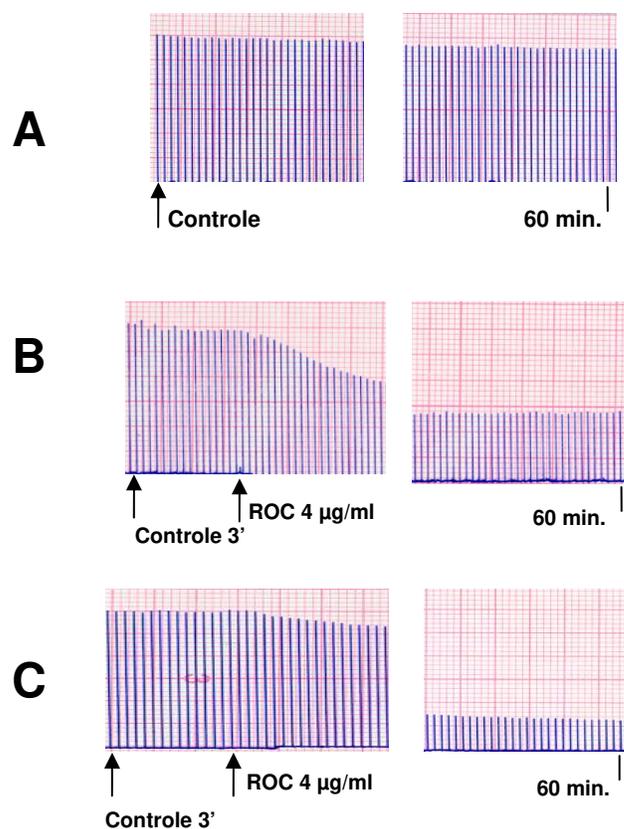


Figura 12- Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo diafragma de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com fenobarbital; em B utilizou-se o rocurônio (4 µg/ml) em ratos não tratados com fenobarbital e, em C, utilizou-se o rocurônio (4 µg/ml) em ratos tratados com fenobarbital. ROC, rocurônio. Flecha indica o momento da adição.

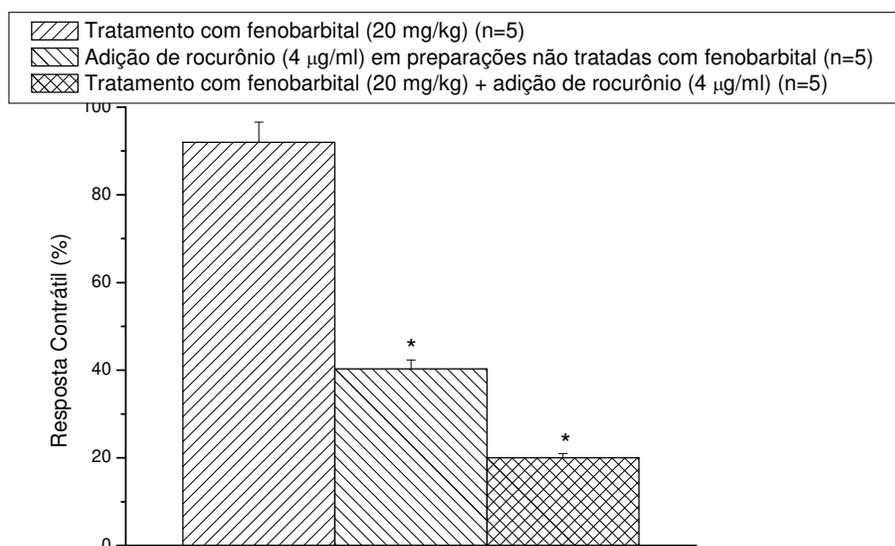


Figura 13- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo diafragma à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos. * $p < 0,05$ em relação ao controle (tratamento com fenobarbital).

4.2- Preparação Nervo Ciático-Poplíteo Externo – Músculo Tibial Anterior (NPETA)

4.2.1- Tratamento com a carbamazepina

A carbamazepina na concentração estudada e empregada isoladamente causou redução média de $30,67 \pm 16,05\%$ (Figura 14A) na amplitude das respostas musculares à estimulação indireta. O bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio em ratos não expostos a carbamazepina foi $56,47 \pm 12,50\%$ (Figura 14B) sem diferença significativa em relação ao bloqueio obtido com o atracúrio ($56,87 \pm 9,73\%$ - Figura 14C), em ratos expostos após 60 minutos. A Figura 15 ilustra graficamente os resultados frente aos tratamentos, aos 60 minutos.

Nos ratos que não receberam a carbamazepina, o bloqueio neuromuscular produzido pelo rocurônio foi de $65,84 \pm 6,92\%$ (Figura 16B) sem diferença significativa daquele observado em ratos expostos após 60 minutos ($78,99 \pm 18,39\%$ - Figuras 16C). A Figura 17 ilustra graficamente a mesma condição, aos 60 minutos.

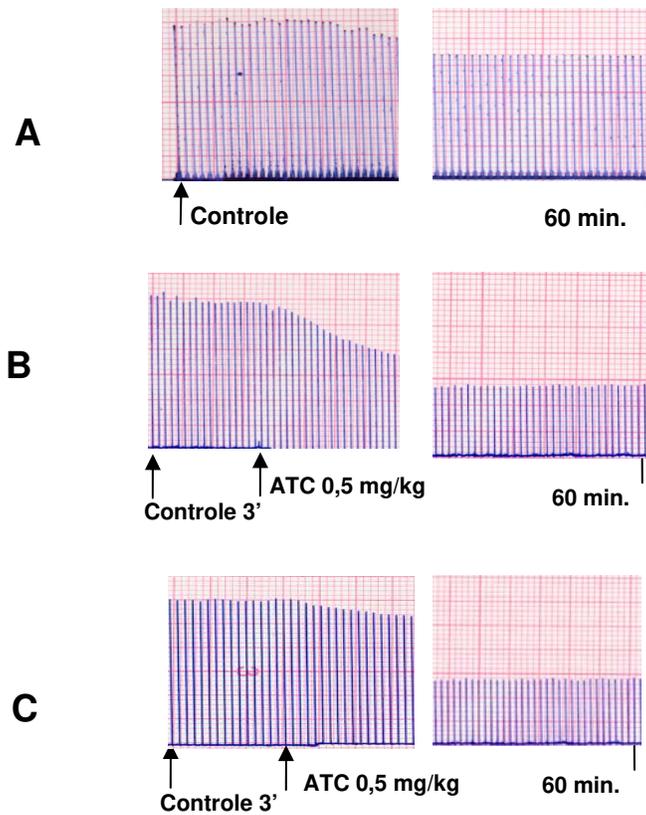


Figura 14- Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com carbamazepina; em B utilizou-se o atracúrio (0,5 mg/kg) em ratos não tratados com carbamazepina e, em C, utilizou-se o atracúrio (0,5 mg/kg) em ratos tratados com carbamazepina. ATC, atracúrio. Flecha indica o momento da adição.

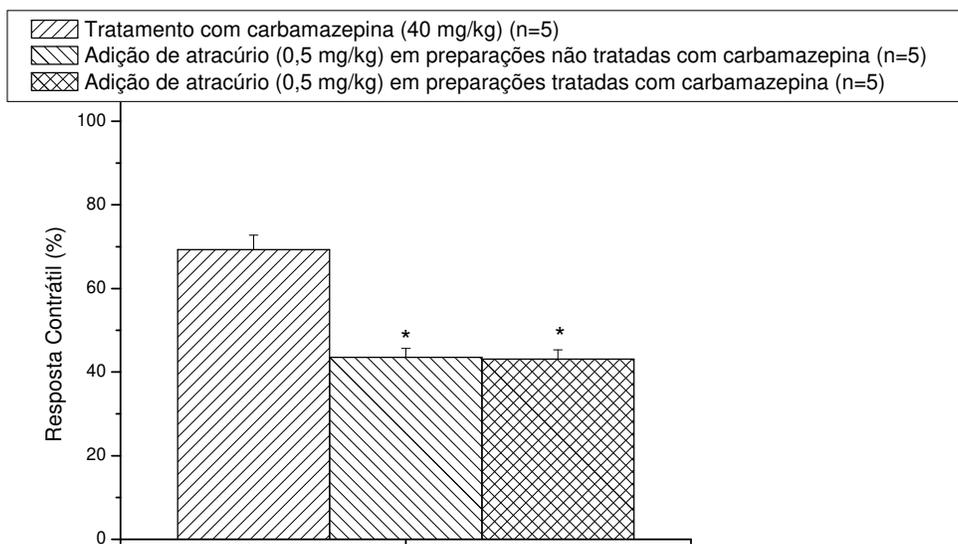


Figura 15- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo tibial anterior à estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos. * $p < 0,05$ em relação ao controle (tratamento com carbamazepina).

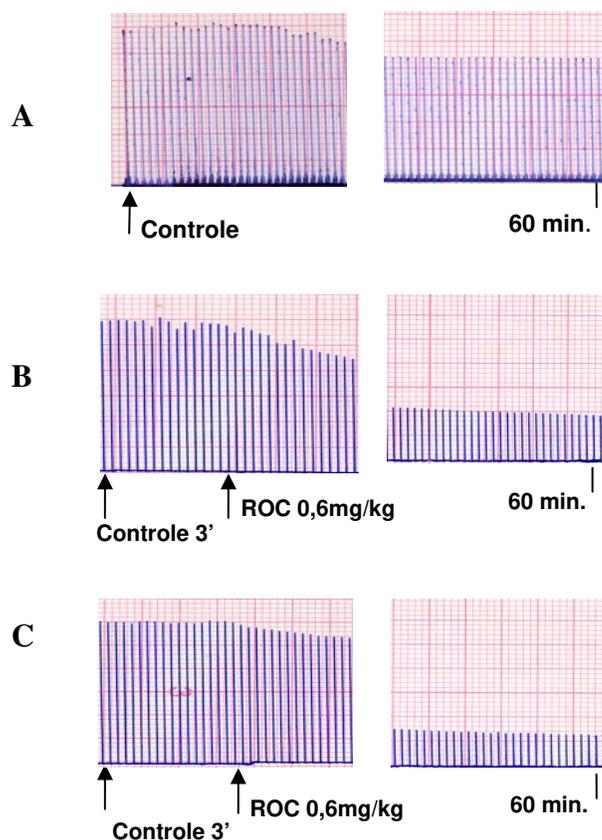


Figura 16- Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com carbamazepina; em B utilizou-se o rocurônio (0,6 mg/kg) em ratos não tratados com carbamazepina e, em C, utilizou-se o rocurônio (0,6 mg/kg) em ratos tratados com carbamazepina. ROC, rocurônio. Flecha indica o momento da adição.

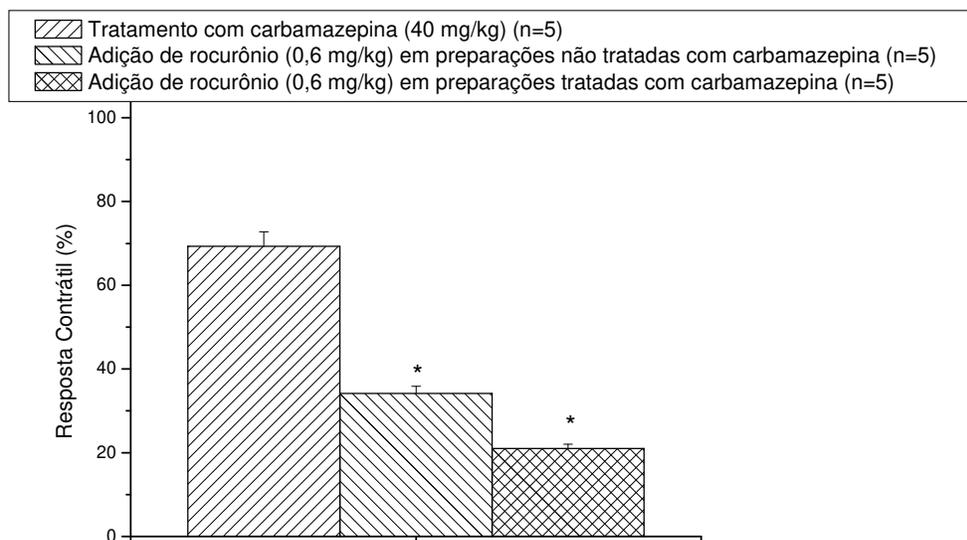


Figura 17- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo diafragma á estimulação indireta em ratos tratados ou não com carbamazepina aos 60 minutos. * $p < 0,05$ em relação ao controle (tratamento com a carbamazepina).

4.2.2- Tratamento com o fenobarbital

O fenobarbital na concentração estudada não causou alteração na amplitude das respostas musculares à estimulação indireta ao final dos 60 minutos de exposição. O bloqueio neuromuscular produzido pelo atracúrio em ratos não expostos ao fenobarbital foi de $56,47\% \pm 12,50\%$ (Figura 18B) com diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao observado em ratos não expostos ($88,22\% \pm 2,06\%$ - Figura 18C). A Figura 19 ilustra graficamente o resultado desses tratamentos aos 60 minutos.

O bloqueio produzido pelo rocurônio foi significativamente maior ($90,75\% \pm 4,21\%$ - Figura 20C) nos ratos expostos ao fenobarbital, do que o observado nos não expostos ($65,84\% \pm 6,92\%$ - Figura 20B). A Figura 21 ilustra graficamente o nível de bloqueio neuromuscular aos 60 minutos frente aos mesmos tratamentos.

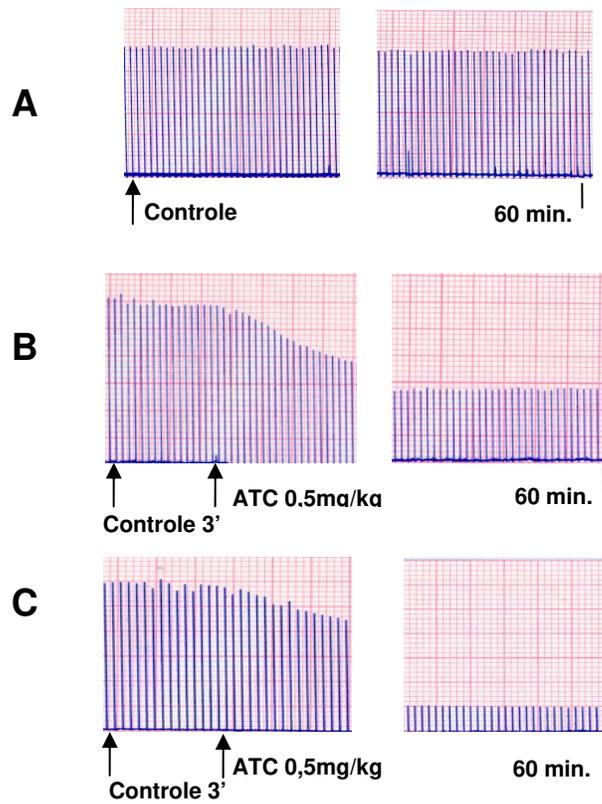


Figura 18- Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com fenobarbital; em B utilizou-se o atracúrio (0,5 mg/kg) em ratos não tratados com fenobarbital e, em C, utilizou-se o atracúrio (0,5 mg/kg) em ratos tratados com fenobarbital. ATC, atracúrio. Flecha indica o momento da adição.

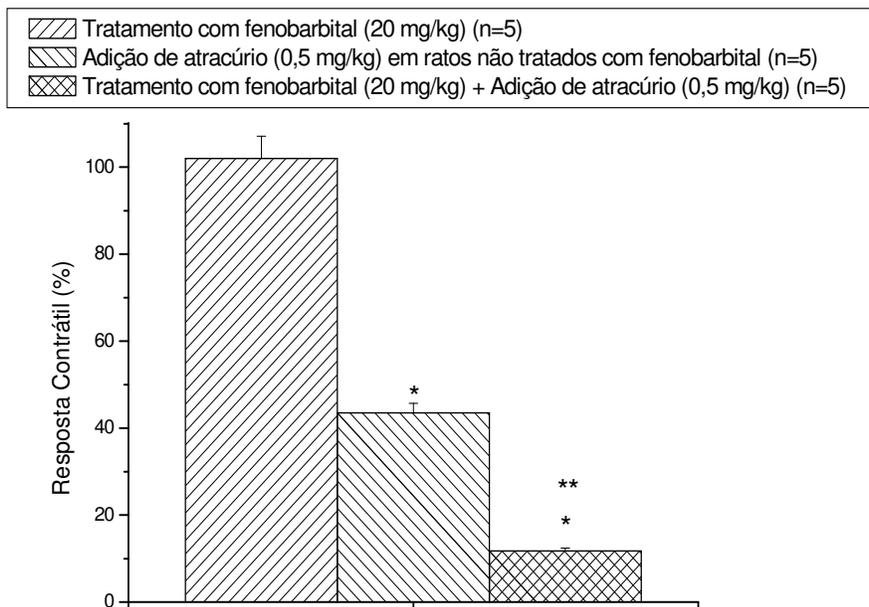


Figura 19- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo tibial anterior à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos. * $p < 0,05$ em relação ao controle (tratamento com fenobarbital) e ** $p < 0,05$ em relação ao atracúrio isoladamente (sem tratamento com fenobarbital).

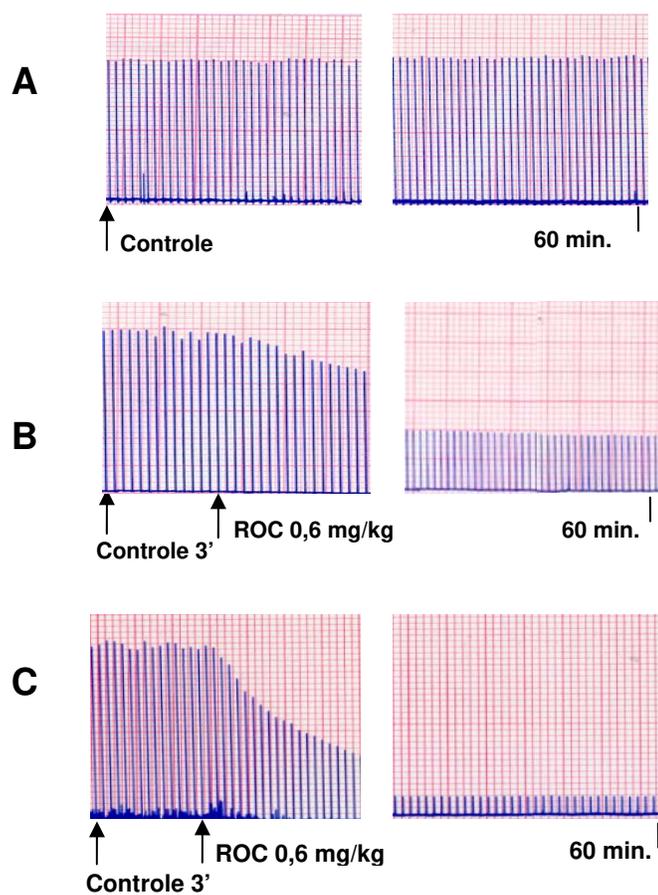


Figura 20- Registros miográficos representativos da resposta contrátil do músculo tibial anterior de ratos à estimulação indireta (n=5). Em A, apenas tratamento com fenobarbital; em B utilizou-se o rocurônio (0,6 mg/kg) em ratos não tratados com fenobarbital e, em C, utilizou-se o rocurônio (0,6 mg/kg) em ratos tratados com fenobarbital. ROC, rocurônio. Flecha indica o momento da adição.

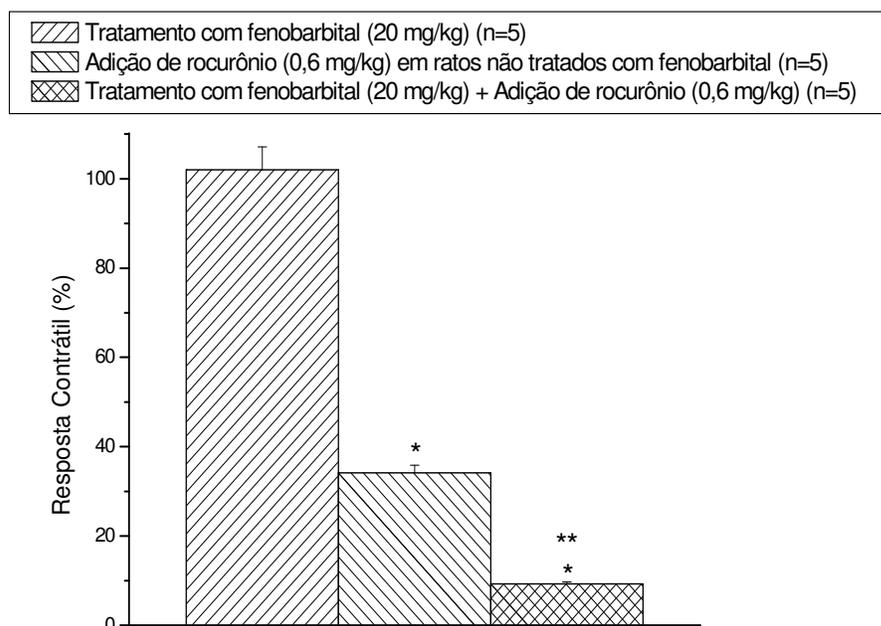


Figura 21- Representação gráfica da amplitude da resposta contrátil do músculo tibial anterior à estimulação indireta em ratos tratados ou não com fenobarbital aos 60 minutos. * $p < 0,05$ em relação ao controle (tratamento com fenobarbital) e ** $p < 0,05$ em relação ao rocurônio isoladamente (sem tratamento com fenobarbital).

4.3- Concentrações de citocromos P450 e b5 redutase em microsossomos hepáticos

As concentrações de citocromos P450 e b5 redutase em microsossomos hepáticos nos três grupos (controle, tratados com FB e CBZ) foram: controle 0,43 e 0,45 nmol/mg proteína, respectivamente; FB 0,69 e 0,62 nmol/mg proteína, respectivamente, com diferença significativa em relação ao controle; CBZ 0,39 e 0,37 nmol/mg proteína, respectivamente, sem diferença significativa em relação ao controle (Figura 22).

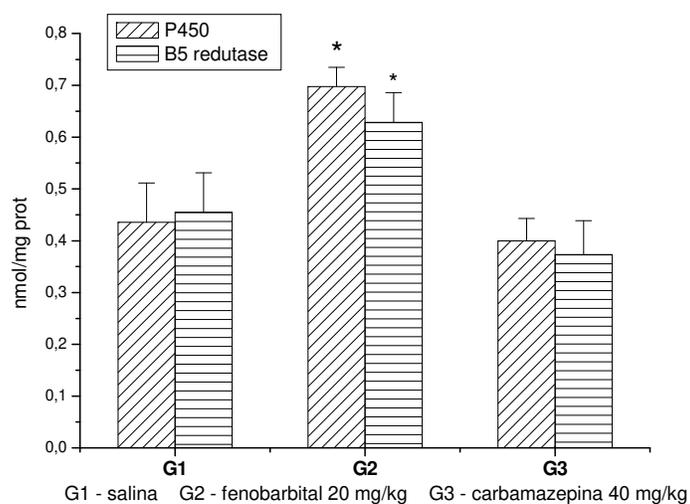


Figura 22- Concentração de citocromos P450 e b5 reductase em microsomos de ratos. Em G1 (controle) – tratamento com solução salina; G2 – tratamento com fenobarbital e G3 - tratamento com carbamazepina. * $p < 0,05$ em relação ao tratamento com salina.

5- DISCUSSÃO

Há evidências de que as propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos bloqueadores neuromusculares podem ser modificadas por inúmeros fatores tais como a idade, estado ácido-básico, temperatura, algumas patologias (queimaduras, doenças do neurônio motor superior e inferior) e drogas (Martins e Martins,1997; Spacek e Kress, 1998; Haywood et al., 1999; Loyola et al., 2006).

Entre os fármacos utilizados nos períodos pré ou peroperatório, alguns podem isoladamente atuar ou não na transmissão neuromuscular, assim como são capazes de potencializar ou atenuar o efeito dos bloqueadores neuromusculares. As mudanças nas respostas dessas drogas podem ser devidas a alterações na sua distribuição, metabolismo, eliminação, assim como ao nível de junção neuromuscular proximal ao sistema nervoso central ou na membrana muscular. Na junção neuromuscular, a interação pode dever à ação no terminal nervoso, na fenda sináptica ou na membrana pós-sináptica, com conseqüente alteração no potencial de ação do nervo, na síntese, liberação ou hidrólise enzimática da acetilcolina, no influxo de cálcio, ou mesmo por alteração no número e na sensibilidade dos receptores nicotínicos, além de causar bloqueio não competitivo de canais iônicos. Esses fatores influenciam na farmacologia dos bloqueadores neuromusculares, intensificando e prolongando ou reduzindo e encurtando o bloqueio neuromuscular (Ornstein et al., 1987; Ostergaard et al., 1989; Ornstein et al., 1991; Anderson, 1998; Perucca, 2005; Richard et al., 2005; Kim et al., 2005).

Entre esses fármacos, os anticonvulsivantes, amplamente utilizados no tratamento da epilepsia, transtorno bipolar e neuralgia trigeminal (Rang et al., 2001; Rang et al., 2003; Mei et al., 2006), podem por si só agir na junção neuromuscular (Nguyen e Ramzan,1997b), alterar ou mesmo não interferir nas propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas dos bloqueadores neuromusculares (Aldernice e Trommer, 1980; Ornstein et al., 1987; Roth e Ebrahim, 1987; Tempelhoff et al., 1990; Ornstein et al., 1991; Norman, 1993; Jellish, Modica, Tempelhoff, 1993; Platt e Thackray, 1993; Whalley e Ebrahim, 1994; Alloul et al., 1996; Jellish et al., 1996; Brodie e Dichter, 1996; Spacek et al., 1997; Spacek et al., 1999; Richard et al., 2005).

A carbamazepina, fármaco quimicamente derivado dos agentes antidepressivos tricíclicos, constitui atualmente um dos agentes antiepilépticos mais utilizados na prática clínica. Do ponto de vista farmacológico e clínico, suas ações assemelham-se às da fenitoína, porém com menos efeitos indesejáveis, e embora eficaz e útil no tratamento de crises parciais complexas, é também empregada no tratamento de vários tipos de dor neuropática. Entre os efeitos adversos, é frequente a fraqueza muscular, que pode resultar da diminuição espontânea ou evocada na liberação quantal de acetilcolina (Brodie e Dichter, 1996; Rang et al., 2003).

Tal fraqueza muscular relatada na clínica, pode ser extrapolada aos nossos resultados experimentais *in vivo*, em preparação NPETA, em que a administração de carbamazepina sozinha, causou um bloqueio neuromuscular de cerca de 30%, o que também foi observado *in vitro*, com uma redução média de 27%. Estes resultados estão de acordo com estudos prévios, que demonstraram efeitos depressores diretos da carbamazepina na junção neuromuscular (Pincus et al., 1980; Aldernice e Trommer, 1980).

Adicionalmente, a carbamazepina também atua na membrana do terminal nervoso, de modo similar ao curare (Hartman et al., 1986). Ressalta-se, contudo, que o principal mecanismo de ação da carbamazepina parece dever-se ao comprometimento da excitabilidade das membranas através de uma ação inibitória dos canais de sódio voltagem-dependentes que transportam a corrente para o interior da célula, necessária à geração de um potencial de ação (Kohling, 2002; Rang et al., 2003). É importante lembrar que a junção neuromuscular é rica em canais de sódio, tanto presentes no axônio do terminal nervoso, como amplamente distribuídos nas pregas pós-juncionais da fibra muscular. A carbamazepina é um potente indutor de enzimas microsossomais hepáticas, por conseguinte, ocorrem muitas interações medicamentosas por acelerar o metabolismo de muitos fármacos, tais como anticoncepcionais orais, corticosteróides, fenitoína, varfarina e bloqueadores neuromusculares, particularmente os aminoesteróides (Ornstein et al., 1987; Anderson, 1998; Haywood et al., 1999; Spacek et al., 1999; Mei et al., 2006).

No tratamento adotado neste estudo, de sete dias, e pelos resultados obtidos da dosagem da concentração de enzimas microsossomais, (no oitavo dia), não houve indução pela carbamazepina, o que explica a sua não interferência nos resultados obtidos *in vivo* em

preparações NPETA e *in vitro* em preparações NFD, frente aos bloqueadores neuromusculares, atracúrio e rocurônio. Uma outra explicação seria, a metabolização órgão independente pelo menos para o atracúrio, que ocorre via hidrólise éster e eliminação de Hofmann (Fisher et al., 1986; Ornstein et al., 1987; Spacek et al., 1997).

O fenobarbital foi introduzido por Hauptmann, em 1912, para o tratamento de epilepsia humana, sendo o medicamento mais utilizado na manutenção de cães epiléticos, devido à sua eficácia e baixo custo (Amaral e Larsson, 2006). Por ser um auto-indutor de enzimas microsossomais hepáticas do sistema P450, aumenta a sua própria metabolização e a biotransformação de outras drogas administradas concomitantemente, sendo hepatotoxicidade um dos efeitos colaterais mais severos em animais cronicamente medicados. Existe uma considerável variação na farmacocinética dos anticonvulsivantes entre indivíduos da mesma espécie e uma ampla variação na concentração sérica para a mesma dosagem oral, sendo que a concentração sérica se correlaciona muito melhor com os efeitos terapêutico e tóxico do que com a dose oral (Amaral e Larsson, 2006).

Existem poucos trabalhos na literatura que estudaram a interação do fenobarbital com bloqueadores neuromusculares na junção neuromuscular, principalmente com atracúrio e rocurônio. O fenobarbital testado sozinho e na concentração estudada não provocou alterações significativas *in vitro* e *in vivo*. Contudo, potencializou o efeito bloqueador de atracúrio e rocurônio *in vivo*.

Na clínica, comportamento semelhante a este (potencialização do efeito bloqueador) foi relatado na exposição aguda aos anticonvulsivantes, tais como difenilhidantoína e hidantoína (Norris et al., 1964; Gray et al., 1989).

A potencialização do bloqueio neuromuscular pré-existente, ocasionada pela administração aguda de anticonvulsivantes pode ser atribuída ao fato destes fármacos competirem com os bloqueadores neuromusculares deslocando-os dos sítios de ligação nas proteínas plasmáticas com conseqüente aumento da fração livre ativa (Gray et al., 1989). Outros mecanismos foram descritos na tentativa de esclarecer essa potencialização, tendo sido observado que algumas drogas antiepiléticas exercem efeitos bloqueadores pré e pós-juncional, estabilizam a membrana neuronal alterando o fluxo transmembrana de

íons sódio, potássio e cálcio, e reduzem a síntese e a liberação de acetilcolina (Gray et al. 1989; Nguyen e Ramzan, 1997a; Spacek e Kress, 1998).

Contrária à potencialização, o relatado na maioria dos trabalhos, que descreveram em pacientes em terapia crônica com anticonvulsivantes como carbamazepina e fenitoína, foi maior resistência ou menor sensibilidade aos bloqueadores neuromusculares aminoesteróides (Ornstein et al., 1987; Roth e Ebrahim, 1987; Tempelhoff et al., 1990; Ornstein et al., 1991; Platt e Thackray, 1993; Whaley e Ebrahim, 1994; Alloul et al., 1996; Loan et al., 1997; Spacek et al., 1999; Hernandez-Palazon, et al., 2001; Soriano et al., 2001; Cardoso et al., 2005; Richard et al., 2005; exceto o atracúrio (Ebrahim et al., 1988).

A menor sensibilidade ou resistência (dificuldade de instalação do bloqueio) aos bloqueadores neuromusculares não está claramente estabelecida. A etiologia desta interação parece ser multifatorial e alguns possíveis mecanismos podem estar envolvidos: indução enzimática com aumento do clearance e metabolismo hepático; aumento na concentração de α_1 -glicoproteína ácida resultando em maior ligação protéica, menor fração livre de drogas catiônicas e alteração na distribuição; menor sensibilidade do receptor à acetilcolina; proliferação de receptores na membrana muscular (Martyn et al., 1984; Kremer et al., 1988; Wood, 1991; Kim et al., 1992; Hans et al., 1997; Haywood et al., 1999).

Existem evidências de que a resistência aos aminoesteróides observada nos pacientes cronicamente tratados com anticonvulsivantes, se deva a um maior metabolismo hepático, conseqüente à indução enzimática com aumentada inativação e eliminação destas drogas (Pirttiahio et al., 1982; Brodie e Dichter, 1996; Alloul et al., 1996; Spacek et al., 1997; Soriano et al., 2001).

Neste estudo *in vitro*, o pré tratamento com fenobarbital diminuiu a sensibilidade do atracúrio por causar paralisia, ao contrário do estudo *in vivo*. Diferenças entre os sistemas *in vivo* e *in vitro*, podem ser explicadas pela farmacocinética que tem papel importante no primeiro, pela distribuição do fármaco pelo organismo, em detrimento do acúmulo do fármaco e pequena distribuição, no segundo.

Aldernice e Trommer (1980) estudaram os efeitos de diferentes anticonvulsivantes na junção neuromuscular de sapo e observaram que, diferentemente do fenobarbital, a carbamazepina ocasionou diminuição na liberação do neurotransmissor com conseqüente diminuição na amplitude do potencial de placa terminal. Os mesmos resultados foram encontrados neste estudo, explicitados por nenhum efeito a um efeito bloqueador induzidos por fenobarbital e carbamazepina, respectivamente, quando ensaiados isoladamente e que podem revelar diferentes alvos para exercerem suas ações.

Em resumo, os principais resultados obtidos neste estudo foram:

- 1) a) A carbamazepina utilizada (Tegretol[®], suspensão a 2%) e na concentração empregada (40 mg/kg) via gavagem, diminuiu as respostas musculares à estimulação indireta tanto *in vitro* como *in vivo*.

b) Sob sua vigência (a carbamazepina) não alterou o bloqueio produzido pelo atracúrio e rocurônio tanto *in vivo*, como *in vitro*.
- 2) a) O fenobarbital utilizado (Gardenal[®], 40 mg/ml) e na concentração empregada (20 mg/kg) via gavagem, não provocou alterações significativas nos estudos *in vitro* e *in vivo*.

b) Sob sua vigência diminui a sensibilidade do atracúrio por causar bloqueio neuromuscular nas preparações *in vitro*.

c) Sob sua vigência, potencializou o bloqueio neuromuscular induzido pelo atracúrio e rocurônio nas preparações *in vivo*, do rocurônio nas preparações *in vitro*.
- 3) O tempo de tratamento com a carbamazepina, ao contrário do observado com o fenobarbital, não foi suficiente para causar indução enzimática.

6- CONCLUSÃO

Dos resultados apresentados neste trabalho sobre os efeitos da carbamazepina e do fenobarbital nas respostas musculares e a sua influência nos efeitos do atracúrio e o rocurônio, pode-se concluir que:

- 1) Os anticonvulsivantes carbamazepina e o fenobarbital agem diferentemente na junção neuromuscular, com ligeiro bloqueio neuromuscular observado no primeiro e nenhum efeito no segundo. O fenobarbital é principalmente GABAérgico (com receptores presentes no sistema nervoso central e não no periférico), enquanto a carbamazepina atua sobre canais de Na⁺ também presentes na junção neuromuscular.
- 2) A indução enzimática ocorrida com o fenobarbital influenciou o efeito de bloqueadores neuromusculares tanto *in vitro* como *in vivo*. Entre tais modificações a diminuição do bloqueio neuromuscular (ou resistência) talvez seja a de maior importância do ponto de vista clínico, pela diminuição da eficácia farmacológica.

7- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo mostrou, através de modelo experimental, o efeito da indução ou não de enzimas microssomais causadas por anticonvulsivantes, sobre os efeitos neuromusculares de dois bloqueadores de ação intermediária. Esses dados devem ser considerados na prática clínica, podendo ser necessária a monitorização do bloqueio neuromuscular em pacientes que usam cronicamente anticonvulsivantes tipo carbamazepina e fenobarbital.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldernice MT, Trommer BA - Differential effects of the anticonvulsants phenobarbital, ethosuximide and carbamazepine on neuromuscular transmission. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 215:92-96.

Alloul K, Whalley DG, Shutway F, Ebrahim Z, Varin F. Pharmacokinetic origin of carbamazepine-induced resistance to vecuronium neuromuscular blockade in anesthetized patients. *Anesthesiology* 1996; 84:330-339.

Anderson GD - A mechanistic approach to antiepileptic drug interactions. *Ann Pharmacother* 1998; 32:554-563.

Amaral HA, Larsson MHMA - Estudo da variação da concentração sérica de fenobarbital em cães cronicamente medicados. *Braz J Vet Res Anim Sci*, São Paulo 2006; 43:435-441.

Basta SJ, Ali HH, Savarese JJ, Sunder N, Gionfriddo M, Cloutier G et al. Clinical pharmacology of atracurium besylate (BW 33A): a new non-depolarizing muscle relaxant. *Anesth Analg* 1982; 61:723-729.

Bernardi RB, Barros HM. Carbamazepine enhances discriminative memory in a rat model of epilepsy. *Epilepsia*, 2004; 45:1443-1447.

Bourillet F, Ccheymol J. Pharmacologie des substances curarisantes, Curare – Symposium der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften, Schwabe Ca-veriag, Brasil/Stuttgart, 1966; 463-485.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72:248-254.

Brandt C, Volk HA, Loscher W. Striking differences in individual anticonvulsant response to phenobarbital in rats with spontaneous seizures after status epilepticus. *Epilepsia* 2004; 45:1488-1497.

Brodie MJ, Dichter MA - Antiepileptic drugs. *N Engl J Med*, 1996; 334:168-175.

Bülbring E. Observation on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol* 1946; 1:38-61.

Cardoso LSM, Martins CR, Tardelli MA - Efeitos da lidocaína por via venosa sobre a farmacodinâmica do rocurônio. *Rev Bras Anesthesiol* 2005; 55:371-380.

Dresser GK.; Spence JD; Bailey DG. Pharmacokinetic – pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet* 2000; 38:41–57.

Duarte DF. Curarizantes. Das suas origens aos dias de hoje. *Rev Bras Anesthesiol* 2000; 50:330-336.

Ebrahim ZY, Bulkey R, Roth S - Carbamazepine therapy and neuromuscular blockade with atracurium or vecuronium. *Anesthesiology* 1988; 67:S55.

Fisher DM, Canfell PC, Fahey MR, Rosen JI, Rupp SM, Sheiner LB, et al. Elimination of atracurium in humans: contribution of Hofmann elimination and ester hydrolysis versus organ-based elimination. *Anesthesiology* 1986; 65:6-12.

Furtado RD; Bedin A.; Simoni V.; Castro RAC. Rocurônio: farmacologia e uso clínico. *Rev Bras Anesthesiol* 1997; 47:168–176.

Gómez JAA, Miranda FG, Bozzo RB. Relajantes Musculares Em Anestesia Y Terapia Intensiva. Madrid: Aran, 2000, p. 165-186.

Goodman & Gilman. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 9ª ed. São Paulo MacGraw-Hill Interamérica, 1996.

Gray HS, Slater RM, Pollard BJ - The effect of acutely administered phenytoin on vecuronium-induced neuromuscular blockade. *Anaesthesia* 1989; 44:379-381.

Guerreiro CAM; Guerreiro MM. Epilepsia. 3ª Ed. Editora Lemos, São Paulo 2004; p. 19-53.

Hans P, Brichant JF, Pieron F, Pieyns P, Born JD, Lamy M. Elevated plasma alpha 1-acid glycoprotein levels: lack of connection to resistance to vecuronium blockade induced by anticonvulsant therapy. *Neurosurg Anesthesiol* 1997; 9:3-7.

Hartman GS, Fiamengo SA, Riker WF Jr.- Succinylcholine: mechanism of fasciculations and their prevention by d-tubocurarine or diphenylhydantoin. *Anesthesiology* 1986; 65:405-413.

Harvey RA.; Champe P. Farmacologia Ilustrada. 2ª Ed, Ed. Artmed, São Paulo 1998. p.143–150.

Haywood PT, Divekar N, Karalliedde LD - Concurrent medication and the neuromuscular junction. *Eur J Anaesthesiol* 1999;16:77-91.

Hernandez-Palazon J, Hernandez-Palazon JA, Martinez-Lage JF, Perez-Ayala M. Rocuronium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin therapy. *J Neurosurg Anesthesiol* 2001;13:79-82.

Hunter JM. New Neuromuscular Blocking Drugs. *N Engl J Med* 1995; 332:1691-1999.

Jellish WS, Modica PA, Tempelhoff R - Accelerated recovery from pipecuronium in patients treated with chronic anticonvulsant therapy. *J Clin Anesth* 1993; 5:105-108.

Jellish WS, Thalji Z, Brundidge PK, Tempelhoff R. Recovery from mivacurium-induced neuromuscular blockade is not affected by anticonvulsant therapy. *J Neurosurg Anesthesiol* 1996; 8:4-8.

Katzung BG. *Farmacologia Básica & Clínica*. 5ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan. 1994. p. 248-261.

Kim CS, Arnold FJ, Itani MS, Martyn JA. Decreased sensitivity to metocurine during long-term phenytoin therapy may be attributable to protein binding and acetylcholine receptor changes. *Anesthesiology* 1992; 77:500-506.

Kim JU, Lee YK, Lee YM, Yang HO, Han SM, Yang HS. The effect of phenytoin on rocuronium-induced neuromuscular block in the rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation. *J Neurosurg Anesthesiol* 2005;17:149-152.

Kohling R - Voltage-gated sodium channels in epilepsy. *Epilepsy* 2002; 43:1278-1295.

Kremer JM, Wilting J, Janssen LH - Drug binding to human alpha-1-acid glycoprotein in health and disease. *Pharmacol Rev* 1988; 40:1-47.

Leeuwijn RS; Wolters ECMJ. Effects of corticosteroids on the sciatic nerve-tibialis anterior muscle of rats treated with hemicholinium-3. *Neurology* 1977; 27:171-177.

LIGA BRASILEIRA DE EPILEPSIA, 2006. Disponível em: www.epilepsia.org.br. Acesso em 10.02.2007.

Loan PB, Connolly FM, Mirakur RK, Kumar N, Farling P. Neuromuscular effects of rocuronium in patients receiving beta-adrenoreceptor blocking, calcium entry blocking and anticonvulsant drugs. *Br J Anaesth* 1997; 78:90-91.

Loyola YCS, Braga AFA, Potério GMB, Souza SR, Fernandes SCA, Braga FSS. Influência da lidocaína no bloqueio neuromuscular produzido pelo rocurônio. Estudo em preparação nervo frênico – diafragma de rato. *Rev Bras Anesthesiol* 2006; 56:147-156.

Martins RS, Martins ALC. Bloqueadores neuromusculares. In: MANICA J. Anestesiologia. Princípios e Técnicas. Porto Alegre: Artes Médicas 1997 (Supl.), p 308-331.

Martyn JA, Abernethy DR, Greenblatt DJ - Plasma protein binding of drugs after severe burn injury. *Clin Pharmacol Ther* 1984; 35:535-539.

Mattson RH, Cramer Já, Collins JF. Comparison of carbamazepine, phenobarbital, phenitoin and primidone in partial and secondary generalized tonic-clonic seizures. *N Engl J* 1985; 313:145-151.

Mei PA, Montenegro MA, Guerreiro MM, Guerreiro CA. Pharmacovigilance in epileptic patients using antiepileptic drugs. *Arq Neuropsiquiatr* 2006; 64:198-201.

Miller RD, Rupp SM, Fisher DM, Cronnelly R, Fahey MR, Sohn YJ. Clinical pharmacology of vecuronium and atracurium. *Anesthesiology* 1984; 61:444-453.

Miller RD, Von Ehrenburg W. The contribution of muscle relaxants to the advancement of anaesthetic practice: what is required of new compounds? *Eur J Anesthesiol* 1994; 11:1-8.

Nguyen A, Ramzam I. Acute in vitro neuromuscular effects of carbamazepine and carbamazepine-10,11-epoxide. *Anesth Analg* 1997a; 84:886-890.

Nguyen A, Ramzam I – In vitro neuromuscular effects of valproic acid. *Br J Anaesth* 1997b; 78:197-200.

Norman J - Resistance to vecuronium. *Anaesthesia* 1993; 48:1068-1069.

Norris FH Jr, Colella J, Mcfarlin D - Effect of diphenylhydantoin on neuromuscular synapse. *Neurology* 1964;14:869-876.

Omura T, Sato R- The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II.Solubilization, purification, and properties. *J Biol Chem* 1964; 239:2379-2385.

Ornstein E, Matteo RS, Schwartz AE, Silverberg PA, Young WL, Diaz J. The effect of phenytoin on the magnitude and duration of neuromuscular block following atracurium or vecuronium. *Anesthesiology* 1987; 67:191-196.

Ornstein E, Matteo RS, Weinstein JA, Halevy JD, Young WL, Abou-Donia MM. Accelerated recovery from doxacurium-induced neuromuscular blockade in patients receiving chronic anticonvulsant therapy. *J Clin Anesth* 1991; 3:108-111.

Ostergaard D, Engbaek J, Viby-Mogensen J - Adverse reactions and interactions of the neuromuscular blocking drugs. *Med Toxicol Adverse Drug Exp* 1989; 4:351-368.

Perucca E - An introduction to antiepileptic drugs. *Epilepsy* 2005;46 (Suppl 4):31-37.

Pincus JH, Yaari Y, Argov Z - Phenytoin: electrophysiological effects at the neuromuscular junction. *Adv Neurol* 1980; 27:363-376.

Pirttiaho HI, Sotaniemi EA, Pelkonen RO, Pitkänen U. Hepatic blood flow and drug metabolism in patients on enzyme-inducing anticonvulsants. *Eur J Clin Pharmacol* 1982; 22:441-445.

Platt PR, Thackray NM - Phenytoin-induced resistance to vecuronium. *Anaesth Intensive Care* 1993; 21:185-191.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM - *Farmacologia*. 4ª ed. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2001, p.105-107.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM - *Fármacos Antiepilépticos*, in: Rang HP, Dale MM, Ritter JM et al - *Farmacologia*. 5ª ed. Rio de Janeiro, Churchill Livingstone – Elsevier 2003; p. 627-639.

Richard A, Girard F, Girard DC, Boudrealt D, Chouinard P, Moudjian R, et al. Cisatracurium-induced neuromuscular blockade is affected by chronic phenytoin or carbamazepine treatment in neurosurgical patients. *Anesth Analg* 2005; 100:538-544.

Roth S, Ebrahim ZY - Resistance to pancuronium in patients receiving carbamazepine. *Anesthesiology* 1987; 66:691-693.

Savarese JJ, Wastila WB. The future of the benzylisoquinolinium relaxants. *Acta Anesthesiol Scand* 1995; 39:91-93.

Silva P. Farmacologia. 6º ed. São Paulo. Ed. Guanabara Koogan 2000, p. 492-504.

Silva HTH, Hartmann AA - A relação do uso crônico de fenobarbital com áreas potencialmente pré-neoplásicas em fígado de ratos. Arq Gastroenterol São Paulo 2006; vol.43 no.2 p. 227-229.

Soriano SG, Sullivan LJ, Venkatakrishnan K, Greenblatt DJ, Martyn JAJ. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of vecuronium in children receiving phenytoin or carbamazepine for chronic anticonvulsant therapy. Br J Anaesth 2001; 86:223-229.

Sousa SRS, Braga AFA, Potério GMB, Braga FSS, Loyola YCS, Fernandes SCA. Influência da nifedipina no bloqueio neuromuscular produzido pelo Atracúrio e pelo Cisatracúrio. Estudo em preparações nervo frênico – diafragma de Rato. Rev Bras Anesthesiol 2006; 56:157-167.

Spacek A.; Neiger FX.; Spiss CK.; Kress HG. Atracurium-induced neuromuscular block is not affected by chronic anticonvulsant therapy with carbamazepine. Acta Anaesthesiol. Scand 1997; 41:1308-1311.

Spacek A, Kress HG - Drug interactions with muscle relaxants. Acta Anaesthesiol Scand 1998; 42 (Suppl 112): 236-238.

Spacek A.; Neiger FX; Krenn CG.; Kress HG. Rocuronium-induced neuromuscular block is affected by chronic carbamazepine therapy. Anesthesiology 1999; 90:109-112.

Spacek A, Nickl S, Neiger FX, Nigrovic V, Ullrich OW, Weinmayr-Goettel M, et al.. Augmentation of the rocuronium-induced neuromuscular block by the acutely administered phenytoin. Anesthesiology 1999; 90:1551-1555.

Sparr HJ, Beaufort TM, Fuchs-Buder T. Newer neuromuscular blocking agents: how do they compare with established agents? Drugs 2001; 61:919-942.

Stoelting RK, Hillier SC. Neuromuscular blocking drugs. In: Stoelting RK, Hillier SC. Pharmacology & Physiology in Anesthetic Practice. Philadelphia: Lippincott Williams Wilk 2006. p. 208-250.

Taylor P. Agentes que atuam na junção neuromuscular e nos gânglios autônomos. In: Goodman & Gilman. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 9ª ed. MacGraw-Hill Interamérica 1996, p. 131 – 145.

Taylor P. Agents acting at the neuromuscular junction and autonomic ganglia. In: Hardman JG et al. The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: Mc Graw Hill 2001. p 193-213.

Tempelhoff R, Modica PA, Jellish WS, Spitznagel EL. Resistance to atracurium-induced neuromuscular blockade in patients with intractable seizure disorders treated with anticonvulsants. Anesth Analg 1990; 71:665-669.

Waud BE. Neuromuscular blocking agents in advances in anesthesia. In: Advances in Anesthesia. Chicago: Gallagher TJ, vol 1, Year Book Medical Publishers 1984. p 337-382.

Whalley DG, Ebrahim Z - Influence of carbamazepine on the dose-response relationship of vecuronium. Br J Anaesth 1994; 72:125-126.

Wood M – Plasma binding and limitation of drugs access to site of action. Anesthesiology 1991; 75:721-723.

9- ANEXOS



ANEXO 1



Rua Professor Alfredo Gomes, 36 - Botafogo - Rio de Janeiro/RJ - CEP 22251-080
Tel: (21) 2537-8100 Fax: (21) 2537-8188
Portal: <http://www.sba.com.br> E-Mail: sba2000@openlink.com.br
Departamento de Anestesiologia da Associação Médica Brasileira

C.SBA - 00966/2007 - RBA 063/07

Rio de Janeiro, 26 de fevereiro de 2007.

Ilma. Sra.

Dra. Caroline Coutinho de Barcelos

E-mail: ccbarcel@gmail.com

Ref.: “**Efeitos Neuromusculares in vitro e in vivo do Atracúrio e do Rocurônio em Ratos Pré Tratados com Carbamazepina.**”

Prezada Dra. Caroline,

Informo o recebimento do artigo em referência e a abertura do **Processo Editorial RBA- 017/ 07**, para efeito de publicação na Revista Brasileira de Anestesiologia.

Nesta data enviei cópias ao Conselho Editorial para avaliação e após o recebimento dos pareceres, informarei o andamento.

Sendo o que se apresenta para o momento, reformulo o meu apreço.

Atenciosamente,
Dra. Judymara Lauzi Gozzani
Editor-Chefe

ANEXO 2



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEA-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal CEEA-IB-UNICAMP

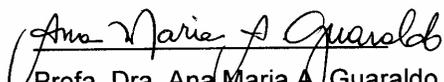
CERTIFICADO

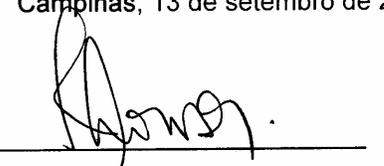
Certificamos que o Protocolo nº **862-2**, sobre "**EFEITO DE BLOQUEADORES NEUROMUSCULARES EM RATOS TRATADOS CRONICAMENTE COM CARBAMAZEPINA E FENOBARBITAL**" sob a responsabilidade de **Profa. Dra. Léa Rodrigues Simioni / Caroline Coutinho de Barcelos** está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA)-IB-UNICAMP em reunião de 13 de setembro de 2005.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº **862-2**, entitled "**EFFECT OF NEUROMUSCULAR BLOCKERS IN A RAT BY CHRONIC CARBAMAZEPINE AND PHENOBARBITAL THERAPY**", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on September 13, 2005.

Campinas, 13 de setembro de 2005.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente - CEEA/IB/UNICAMP


Fátima Alonso
Secretária - CEEA/IB/UNICAMP