

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

Avaliação da expressão da Glicoproteína-P e sua influência na concentração de antiepiléticos no córtex temporal de pacientes com epilepsia refratária

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Toxicologia

Orientada: Flavia Isaura de Santi Ferreira  
Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Regina Helena Costa Queiroz  
Coorientador: Prof. Dr. Veriano Alexandre Junior

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia em 07/05/2015. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto  
2015

## RESUMO

FERREIRA, F. I. S. **Avaliação da expressão da Glicoproteína-P e sua influência na concentração de antiepilépticos no córtex temporal de pacientes com epilepsia refratária.** 2015. 64f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

A epilepsia, doença descrita pela primeira vez em 2000 a.C., tem a crise convulsiva ou epiléptica como fenômeno paroxístico, e a International League Against Epilepsy define a crise epiléptica como “manifestação excessiva e/ou hipersincrônica, normalmente autolimitada, da atividade dos neurônios no cérebro”. Há 40 anos surgiram os medicamentos antiepilépticos, mas a resistência múltipla a fármacos antiepilépticos (FAEs) é um problema significativo que afeta pelo menos 30% dos pacientes portadores dessa doença devastadora. O mecanismo exato da fármaco-resistência desenvolvida em pacientes epilépticos ainda é desconhecido, porém uma possível causa seria a inadequada acumulação intraparenquimal do fármaco antiepiléptico relacionada a expressão aumentada da glicoproteína-P (PgP). Neste contexto, nosso objetivo foi investigar a correlação da expressão da PgP, codificada pelo gene ABCB1, no córtex temporal de 12 pacientes fármaco-resistentes frente aos FAEs fenobarbital, carbamazepina, fenitoína e lamotrigina; comparamos também a expressão da PgP nesse mesmo grupo de pacientes, selecionados no Centro de Cirurgia de Epilepsia (CIREP) frente a um grupo controle composto por indivíduos não epilépticos que evoluíram para óbito examinados no Serviço de Verificação de Óbito do interior (SVOi). Utilizamos a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência para determinar as concentrações dos FAEs no plasma e no cérebro, sendo que a metodologia utilizada no tecido cerebral foi desenvolvida e validada especialmente para esse fim. Essas concentrações foram então determinadas e a razão entre as duas medidas foi comparada com a expressão de PgP no tecido cerebral. Analisando os resultados concluímos que não há correlação linear entre a razão dos fármacos estudados e a expressão de PgP no córtex temporal de pacientes com epilepsia refratária.

Palavras-chave: Epilepsia, Fármaco-resistência, Glicoproteína-P

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Epilepsia

Epilepsia é um conjunto de condições clínicas caracterizadas pela recorrência de crises epiléticas. As crises epiléticas são manifestações resultantes da atividade elétrica anormal e excessiva causada por alterações estruturais e/ou funcionais dos neurônios no córtex cerebral (MOSHE et al., 1993). As manifestações clínicas consistem de fenômenos paroxísticos que podem incluir alterações da consciência, sinais ou sintomas motores, sensitivos, autonômicos e psíquicos, percebidos pela própria pessoa ou por um observador (ILAE, 1993).

Os últimos dados sobre a incidência de epilepsia são de 2008, quando HAUSER e BEGHI relataram um número aproximado de 0,05% (HAUSER e BEGHI, 2008); enquanto que a prevalência foi estimada em cerca de 1% da população mundial (HAUSER et al., 1996). No Brasil, estima-se que a prevalência seja 1,8% da população geral (BORGES et al., 2004).

As crise e síndromes epiléticas foram oficialmente classificadas pela Liga Internacional contra a Epilepsia em 1981 e 1989, respectivamente (ILAE, 1981; 1989) e apesar de frequentes tentativas de revisão dessa classificação na tentativa de modificá-la com base em novas técnicas de neuroimagem e diagnóstico, nenhuma nova classificação foi proposta definitivamente. A última mudança efetiva ocorreu em 2010 e atuou apenas nas terminologias das crises e síndromes, sem mudar a classificação etiológica das mesmas.

A classificação atual é baseada na semiologia, idade de início, evolução clínica, achados eletrencefalográficos, sinais e sintomas presentes entre as crises, mecanismos fisiopatológicos e etiológicos (SEINO, 2006):

A classificação das crises, incluindo as subclasses, é feita da seguinte maneira:

✓ Crises focais, antes denominadas crises parciais

São as crises que se originam dentro de redes limitadas a um hemisfério cerebral, ou seja, as primeiras alterações clínicas e eletroencefalográficas indicam a ativação de um grupo de neurônios localizados em um dos hemisférios cerebrais. As crises focais podem evoluir para crises convulsivas bilaterais, que é quando os dois hemisférios cerebrais foram afetados pela crise convulsiva.

Nesse tipo de crise a consciência pode ser preservada ou estar ausente, o que antes era diferenciado como crise parcial simples e crise parcial complexa, respectivamente. A nova terminologia preconiza que os termos “simples” e “complexa” sejam excluídos, mas nada impede que na descrição da crise sejam mencionados detalhes sobre como a crise evoluiu (BERG et al., 2010).

✓ Crises Generalizadas

São as crises que se iniciam em uma rede neural delimitada, mas rapidamente se espalham pelo restante do cérebro tornando-se uma crise com envolvimento bilateral.

Esse tipo de crise é dividido em seis categorias:

- Tônico-clônicas, em qualquer combinação
- Ausência
  - Típica
  - Atípica
  - Ausência com características especiais
    - Ausência mioclônica
    - Mioclonias palpebrais
- Mioclônica
  - Mioclônica
  - Mioclônica atônica
  - Mioclônica tônica
- Clônica
- Tônica
- Atônica

✓ Desconhecida, antes chamada de crises epiléticas inclassificáveis

É como se classificam as crises quando não há evidência suficiente para caracterizar como focal, generalizada ou ambas.

A etiologia da epilepsia também sofreu modificações em sua terminologia. Abaixo, estão as classificações:

✓ Genética, antes chamada de Idiopática:

São aquelas que apresentam relação com algum defeito genético que pode contribuir diretamente para a epilepsia e crises como sintoma principal do distúrbio.

Ex.: canalopatias, deficiência de GLUT1.

✓ Estrutural / metabólica, antes chamadas de Sintomáticas:

São aquelas causadas por algum distúrbio estrutural/metabólico cerebral que alteram a integridade estrutural e funcional do cérebro. Ex: esclerose tuberosa.

✓ Desconhecida, antes conhecidas como Criptogênicas:

Quando a causa é desconhecida e pode ser genética, estrutural ou metabólica.

## **1.2 Diagnóstico de epilepsia**

O diagnóstico de epilepsia é clínico, baseado principalmente na história médica, descrição das crises e exame físico. O eletroencefalograma também pode ser utilizado, mas não é pré-requisito para o diagnóstico, desde que ele pode ser normal ou com anormalidades inespecíficas (OGUNI, 2004). Exames de neuroimagem estrutural como tomografia computadorizada e ressonância nuclear magnética podem auxiliar no diagnóstico etiológico.

### 1.3 Tratamento de epilepsia

O objetivo principal do tratamento é o controle completo das crises e é primariamente centrado na administração apropriada de fármacos antiepilépticos após o diagnóstico correto (PELLOCK, 1994).

Nos últimos 30 anos muitos avanços no conhecimento do tratamento farmacológico das epilepsias têm sido realizados e vários fatores têm contribuído para isto (BRODIE, 2003). Apesar disto, ainda não entendemos completamente a epileptogênese e os mecanismos de ação de alguns fármacos antiepilépticos.

Além da escolha do antiepiléptico mais adequado, a resposta ao tratamento pode variar conforme a etiologia (SANDER, 2003). Pacientes com epilepsias idiopáticas apresentam um melhor controle de suas crises enquanto pacientes com epilepsias focais sintomáticas podem apresentar crises de difícil controle medicamentoso (FRENCH, 2007).

A história natural e o curso clínico das crises nos pacientes portadores de epilepsia dependem do tipo de síndrome epiléptica que apresentam. Em resumo o prognóstico das epilepsias pode ser assim sintetizado (SANDER, 1993):

- Excelente (20-30% dos pacientes): refere-se a síndromes epilépticas autolimitadas e benignas;
- Bom (30-40% dos pacientes): engloba síndromes epilépticas cujas crises são facilmente controladas com os FAEs. Em geral o controle das crises é permanente e, quando alcançado, permite a descontinuidade da medicação;
- Incerto (10-20% dos pacientes): inclui epilepsias cujos pacientes tendem a usar FAE por tempo indeterminado, podendo ter remissões transitórias.

- Ruim (menos de 20% dos pacientes): inclui pacientes em que o uso de FAE apenas reduz a gravidade das crises. Pacientes deste grupo podem recorrer à cirurgia de lobectomia parcial, potencialmente modificando o seu prognóstico.

Aproximadamente 70% dos pacientes portadores de epilepsia têm suas crises controladas farmacologicamente, sendo os demais 30% refratários ao tratamento clínico, apesar do uso adequado dos FAE. Estes pacientes, habitualmente classificados como fármaco-resistentes, podem ser submetidos a uma investigação detalhada que poderá definir ou excluir as possibilidades de um tratamento cirúrgico. Isto porque algumas síndromes epiléticas são consideradas cirurgicamente tratáveis, ou seja, com prognóstico melhor do que seria com o uso de novos FAEs. Dentre elas estão a epilepsia do lobo temporal secundária à esclerose hipocampal, as epilepsias focais secundárias a lesões estruturais, as epilepsias catastróficas ou epilepsias generalizadas sintomáticas em crianças secundárias a lesões confinadas a um hemisfério cerebral e as epilepsias generalizadas secundárias com crises de queda súbita (ENGEL, 1996). Em aproximadamente 30% dos pacientes submetidos a cirurgia de lobectomia a causa da epilepsia é uma lesão estrutural, tais como tumor, malformação vascular, encefalomalácia focal e malformação do desenvolvimento cortical (BROOKS et al., 1990).

#### **1.4 Fármacos antiepiléticos (FAEs)**

Os FAEs são uma das classes de medicamentos ativos no sistema nervoso central mais comumente prescritos e isso se deve ao fato de que eles podem ser usados para tratar outras condições além da epilepsia. Podemos citar topiramato e pregabalina, utilizados na prevenção de crises de enxaqueca e no controle de dor neuropática e fibromialgia, respectivamente (PERUCCA, 2005).



O bloqueio do canal de sódio voltagem dependente é o mecanismo de ação primário dos fármacos PHT, CBZ e lamotrigina (LTG), três dos quatro fármacos estudados no presente trabalho (MELDRUM, 1996). Esse mecanismo de bloqueio, dependente do uso e da voltagem do neurônio, previne seletivamente os disparos repetitivos e de alta frequência, inibindo assim a propagação do sinal epiléptico no cérebro sem comprometer funções cognitivas e psicológicas normais (PERUCCA, 2005). Apesar de não afetar as sinapses, esse bloqueio culmina na prevenção da despolarização do neurônio terminal e consequente liberação de neurotransmissores, em especial do glutamato, principal neurotransmissor excitatório. Tal propriedade torna os fármacos dessa classe indicados para o tratamento de crises parciais e tônico-clônicas com generalização secundária e possivelmente para tratar crises tônico-clônicas generalizadas (PERUCCA, 2001), mas contraindicado para tratar outros tipos de epilepsia, como por exemplo crises de ausência e crises mioclônicas, pois podem até agravar esses tipos de crise (PERUCCA, 1998).

É importante mencionar que a cinética de interação do fármaco inibidor com o canal de sódio influencia na resposta terapêutica, como podemos ver no caso da CBZ e da PHT. A afinidade da CBZ com os canais de sódio é três vezes menor que a observada com a PHT, enquanto sua velocidade de ligação ao receptor é cinco vezes maior. Tal diferença pode se traduzir em maior eficiência da CBZ no tratamento de crises nas quais a mudança de despolarização ictal é relativamente curta e melhor resposta da PHT em crises com descargas anormais caracterizadas por despolarização mais prolongada (CHUNG-CHIN et al., 1997).

Quanto à ação dos FAEs, podemos notar grande variabilidade quando consideramos qual fármaco é indicado para cada tipo de epilepsia e seu espectro de ação no tratamento da doença. Entre os fármacos estudados no presente trabalho o

PB e a LTG são os que apresentam maior espectro de ação, sendo eficazes em casos de crises parciais, com ou sem generalização secundária, e vários tipos de crises generalizadas (PERUCCA, 2001). A PHT é eficaz e indicada para casos de crises parciais, com e sem generalização secundária; crises tônico-clônicas primariamente generalizadas, ou seja, que envolvem os dois hemisférios cerebrais desde o início da crise; e estado de mal epilético, também chamado de estado epilético, que é quando uma ou várias crises ocorrem por tempo suficiente para causar danos cerebrais (ILAE, 1981). Considera-se que uma crise é potencialmente danosa quando esta ultrapassa os 30 minutos de duração ou não há recuperação neurológica ou eletro encefálica entre as crises (THEODORE, 1994). Já a indicação da CBZ é a mesma da PHT, com exceção de casos de estado epilético; e paralelamente ela pode ser indicada para casos de neuralgia do nervo trigêmeo e desordem bipolar (PERUCCA, 2005).

Ao mesmo tempo em que esses fármacos apresentam amplo espectro de ação, alguns podem até piorar certos tipos de crise, como ocorre com o PB, que é ineficaz em crises de ausência e pode agravar o quadro se usado nesse tipo de epilepsia; já a LTG pode piorar vários tipos de crises relacionados à epilepsia infantil mioclônica severa (GUERRINI et al., 1998; PERUCCA et al., 1998). Essa variedade de ações e efeitos adversos apenas reforça os múltiplos e complexos mecanismos de ação exercidos pelos FAEs.

### **1.5 Epilepsia refratária ou fármaco-resistente**

Antes de 2010 podíamos dizer que não existia uma definição uniforme para epilepsia refratária (REGESTA e TANGANELLI, 1999). Era possível conceituar a fármaco-resistência em epilepsia de maneira compreensiva como a persistência de crises recorrentes apesar do uso adequado e com a dose máxima tolerada de um ou

mais fármacos antiepilépticos, utilizadas sequencialmente ou em várias combinações, excluindo-se as situações de reações alérgicas ou idiossincrásicas (PERUCCA, 1998).

Tendo em vista a falta de uma definição para a fármaco-resistência, a ILAE criou uma força tarefa para tentar chegar a um consenso sobre quando considerar um paciente epilético como fármaco-resistente. Após suas pesquisas, a equipe publicou em 2010 um documento com seus resultados sugerindo que um paciente pode ser considerado portador de epilepsia refratária quando este não obteve sucesso farmacoterapêutico, ou seja, ficou livre das crises, após a utilização de dois medicamentos antiepilépticos apropriados, em monoterapia ou politerapia. É importante salientar, no entanto, que essa definição só pode ser aplicada quando o paciente utilizou os medicamentos adequados, e com isso entende-se que a utilização de medicamentos não adequados para o tipo de epilepsia do paciente não deve ser contabilizada para considerar o paciente como fármaco-resistente. O uso desses medicamentos pode atrapalhar, atrasando o diagnóstico de epilepsia fármaco-resistente ou atrasando o tratamento adequado, por isso é tão importante o diagnóstico correto e tratamento dessa síndrome (KWAN et al., 2010).

Uma base genética para a refratariedade também é aventada, a qual levaria a alterações em canais iônicos e a superexpressão de algumas proteínas implicadas na fisiopatogênese da epilepsia fármaco-resistente, como as proteínas de resistência múltipla aos fármacos (SISODIYA et al., 2002; SIDDIQUI et al., 2003).

## **1.6 Glicoproteína-P**

No endotélio dos vasos presentes na barreira hematoencefálica humana encontra-se uma glicoproteína de membrana chamada glicoproteína – P, também

conhecida como PgP (RIORDAN e LING, 1985; Ueda et al., 1986). A PgP é uma glicoproteína transmembrana do sistema de efluxo ativo, descoberta em 1976, e que faz parte de um grupo de proteínas de membrana codificadas por uma família de genes. Em seres humanos, as isoformas PgP envolvidas na resistência a múltiplos fármacos são codificadas pelo gene *multiple drug resistance protein 1* (MDR1) ou ABCB1 (LEVEILLE-WEBSTER e ARIAS, 1995). Ela foi inicialmente descoberta como um transportador de membrana envolvida na resistência à quimioterapia em vários tipos de tumores. No entanto, também é amplamente expressa em tecidos normais com funções excretórias como fígado, rins e intestino (FROMM, 2000). Além disso, exerce funções de barreira, como na barreira hemato-encefálica (SARKADI et al., 1996). Acredita-se assim, que a PgP possua uma função fisiológica nos tecidos normais relativas à excreção e/ou proteção desses tecidos contra toxinas que ocorrem naturalmente ou contra xenobióticos, incluindo fármacos (JETTÉ et al., 1995). Foi descoberto em modelos de fármaco-resistência *in vitro* que ela exporta moléculas planares e hidrofóbicas das células conferindo resistência a citotoxinas (RIORDAN e LING, 1985; UEDA et al., 1986; HORIO et al., 1988; MORROW e COWAN, 1988).

Altos níveis de expressão do gene MDR1 foram encontrados em alguns tipos de tumores irresponsáveis ao tratamento quimioterápico. Resultado semelhante foi encontrado por Matsumoto e colaboradores em 1991, quando o grupo encontrou alto nível de MDR1 em astrocitomas, enquanto em astrócitos normais esse aumento não estava presente (CORDON-CARDO et al., 1989; MATSUMOTO et al., 1991).

Em 1995, TISHLER et al. relataram aumento da expressão do gene ABCB1 e a proteína por ele decodificada em pacientes com epilepsia refratária. Surgiu então a teoria de que essa glicoproteína seria a responsável pela diminuição dos efeitos dos FAEs (KWAN e BRODIE, 2005). Níveis de RNA mensageiro (mRNA) do gene MDR1

foram determinados por *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR), ou seja, uma reação de transcriptase reversa, seguida de uma reação em cadeia da polimerase em amostras do cérebro removido de pacientes durante a cirurgia de ressecção de epilepsia de difícil controle e comparados com espécimes controle normal do cérebro obtidos de pacientes submetidos à remoção de malformações arteriovenosas. Neste contexto, foi proposto que a PgP pode desempenhar um papel clinicamente significativo, por limitar a entrada de FAEs no parênquima cerebral e, deste modo o aumento da expressão de MDR1 pode contribuir para a refratariedade das crises em pacientes com epilepsia fármaco-resistente.

Esta teoria vem sendo avaliada desde então, porém até o momento não existe um consenso sobre a real importância desta glicoproteína na fármaco-resistência desses pacientes. Estudos mais aprofundados e diferenciados ainda são necessários para avaliar o mecanismo exato dessa hipótese (LÖSCHER e DELANTY, 2009).

SYVÄNEN et al., um dos grupos a seguir essa linha de estudos, utilizaram dois grupos de ratos com epilepsia induzida, sendo um tratado com tariquidar, um inibidor da PgP, e o outro grupo controle tratado com salina. O experimento visava a distribuição de (R)-[<sup>11</sup>C]verapamil no cérebro e o resultado encontrado foi uma maior concentração do metabólito do verapamil no grupo tratado, mostrando que a PgP influencia na passagem de fármacos do plasma para o tecido cerebral (SYVÄNEN et al., 2011).

Supondo-se que a PgP esteja realmente envolvida da fármaco-resistência, é necessário elucidar qual o gatilho ou mecanismo por trás da superexpressão dessa glicoproteína. Então, na tentativa de correlacionar os polimorfismos C1236T, G2677T/A, e C3435T no gene ABCB1 com a ocorrência de epilepsia fármaco-resistente, um estudo foi realizado em crianças chinesas e uma mutação no gene

ABCB1 foi reportada. No entanto, os resultados deste estudo não mostraram a associação entre essa mutação e a fármaco-resistência (DONG et al., 2011). Por outro lado, BASIC et al. mostraram correlação entre o polimorfismo C3435T do ABCB1 e a penetração de PB através da barreira hematoencefálica, sugerindo que essa mutação poderia estar envolvida na fármaco-resistência (BASIC et al., 2008).

### **1.7 Visão geral sobre a epilepsia e a fármaco-resistência**

A epilepsia tem seus primeiros relatos em documentos médicos antigos de povos egípcios e babilônios (MASIA e DEVINSKY, 2000), o que nos permite estimar que sua primeira identificação tenha ocorrido aproximadamente no ano 2000 a.C.

A International League Against Epilepsy (ILAE) define a crise epiléptica como “manifestação excessiva e/ou hipsincrônica, normalmente autolimitada, da atividade dos neurônios no cérebro” (ILAE, 1981). Há 40 anos surgiram os medicamentos antiepilépticos carbamazepina (CBZ) e ácido valpróico, trazendo mais opções de tratamento farmacológico além do fenobarbital (PB) e da fenitoína (PHT); porém, apesar das mudanças de regime de dosagem e das modernas alternativas desenvolvidas desde então no campo dos medicamentos, entre 20 e 40% dos pacientes acometidos com essa doença devastadora apresentam resistência múltipla a fármacos antiepilépticos (FAEs), condição conhecida como epilepsia refratária ou simplesmente epilepsia fármaco-resistente (SCHMIDT e LÖSCHER, 2005).

Nas últimas décadas houve um grande avanço no tratamento dessa doença além de novas terapias, como estimulação vagal e o tratamento cirúrgico. Muitos FAEs, incluindo PHT, PB e CBZ tem estruturas químicas parecidas com os substratos da proteína de membrana glicoproteína-P (PgP), que funciona como bomba de efluxo para xenobióticos (JETTÉ et al., 1995), o que poderia acarretar em baixa eficiência do

tratamento medicamentoso. Apesar das teorias desenvolvidas, o mecanismo exato da fármaco-resistência desenvolvida em pacientes epiléticos ainda é desconhecido, porém uma possível causa seria a inadequada acumulação intraparenquimal do fármaco antiepilético causada pela expressão aumentada da PgP (KWAN e BRODIE, 2005; SCHMIDT e LÖSCHER, 2005).

### **1.8 Justificativa**

O presente trabalho foi planejado com o propósito de investigar o comportamento dos FAEs em pacientes fármaco-resistentes relacionando a expressão do gene ABCB1, precursor da PgP, com a relação plasma:cérebro dos FAEs. Ao mesmo tempo, comparou-se a expressão do gene ABCB1 em dois grupos de indivíduos, sendo o primeiro composto por pacientes portadores de epilepsia refratária e o segundo por indivíduos que evoluíram para óbito e não portadores de epilepsia.

## **5. CONCLUSÃO**

Considerando os resultados obtidos, sugere-se que não existe correlação entre a quantidade de fármaco transportado a partir do plasma para o córtex temporal e a expressão da glicoproteína-P na amostra utilizada sob as condições do presente estudo. Também não foi encontrada diferença estatística entre a expressão de PgP no córtex temporal de indivíduos epiléticos e no córtex de indivíduos não-epiléticos na amostra estudada.



## 6. REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para validação de métodos analíticos. ANVISA, Brasília, Resolução N.27, 17 de maio de 2012.

Basic, S.; Hajnsek, S.; Bozina, N.; Filipcic, I.; Sporis, D.; Mislov, D.; Posavec A. The influence of C3435T polymorphism of ABCB1 gene on penetration of phenobarbital across the blood—brain barrier in patients with generalized epilepsy. *Seizure*, v. 17, p. 524-530, 2008.

Betting, L.E.; Kobayashi, E.; Montenegro, M.A.; Min, L.L.; Cendes, F.; Guerreiro, M.M.; Guerreiro, C.A.M. Tratamento de epilepsia: consenso dos especialistas brasileiros. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, v. 61, n. 4, p. 1045-1070, 2003.

Beyenburg, S.; Bauer, J.; Reuber, M. New drugs for the treatment of epilepsy: a practical approach. *Postgraduate Medical Journal*, v. 80, p. 581-587, 2004.

Berg, A.T.; Berkovic, S.F.; Brodie, M.J.; Buchhalter, J.; Cross, J.H.; Van Emde Boas, W.; Engel, J.; French, J.; Glauser, T.A.; Mathern, G.W.; Moshé, S.L.; Nordli, D.; Plouin, P.; Scheffer, I.E. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia*, v. 51, n. 4, p. 676-685, 2010.

Blume-Chair, W.T.; Lüders, H.O.; Tassinari, C.; van Emde Boas, W.; Engel, J. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia*, v. 42, n. 9, p. 1212-1218, 2001.

Borges, M.A.; Min, L.L.; Guerreiro, C.A.; Yacubian, E.M.; Cordeiro, J.A.; Tognola, W.A.; Borges, A.P.; Zanetta, D.M. Urban prevalence of epilepsy: Populational study in São José do Rio Preto, A medium-sized city in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 62, p. 199-204, 2004.

Brodie, M.J. Building new understandings in epilepsy: maximizing patient outcomes without sacrificing seizure control. *Epilepsia*, v. 44, n. 4, p. 1-2, 2003.

Brooks, B.S.; King, D.W.; El Gammal, T.; Meador, K.; Yaghamai, F.; Gay, J.N.; Smith, J.R.; Flanigin, H.F. MR imaging in patients with intractable complex partial epileptic seizures. *AJR Am J Roentgenol*, v. 154, n. 3, p. 577-583, 1990.

Chemicalize.org [Base de dados]. ChemAxon. [Acessado em 31 de julho de 2012] [3 telas]. Disponível em: [www.chemicalize.org](http://www.chemicalize.org)

Chung-Chin, K.; Ren-Shiang, C.; Lu, L.; Rong-Chi, C. Carbamazepine inhibition of neuronal  $na_1$  currents: quantitative distinction from phenytoin and possible therapeutic implications. *Molecular pharmacology*, v. 51, p. 1077–1083, 1997.

Cordon-Cardo, C.; O'Brien, J.P.; Casals, D.; Rittman-Grauer, L.; Biedler, J.L.; Melamed, M.R.; Bertino, J.R. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 86, n. 2, p. 695-698, 1989.

Dickens, D.; Yusof, S.R.; Abbott, N.J.; Weksler, B.; Romero, I.A.; Couraud, P.O.; Alfirevic, A.; Pirmohamed, M.; Owen, A. A Multi-System Approach Assessing the Interaction of Anticonvulsants with P-gp. *PLoS ONE*, v. 8, n. 5, p. e64854, 2013.

Dong, L.; Luo, R.; Tong, Y.; Cai, X.; Mao, M.; Yu, D. Lack of association between ABCB1 gene polymorphisms and pharmaco-resistant epilepsy: An analysis in a western Chinese pediatric population. *Brain Res*, v. 1391, p. 114-124, 2011.

Engel Jr, J. Surgery for seizures. *N Engl J Med*, v. 334, P. 647-653, 1996.

Fisher, R.S.; van Emde Boas, W.; Blume, W.; Elger, C.; Genton, P.; Lee, P.; Gause, W.C.; Adamovicz, J. The use of the PCR to quantitate gene expression. *Genome Res*, v. 3, p. S123-S135, 1994.

French, J.A. Refractory Epilepsy: clinical overview. *Epilepsia*, v. 48, n. 1, p. 3-7, 2007.

Fromm, M.F. P-glycoprotein: a defense mechanism limiting oral bioavailability and CNS accumulation of drugs. *Int J Clin Pharmacol Ther*, v. 38, n. 2, p. 69-74, 2000.

Guerrini, R.; Dravet, C.; Genton, P.; Belmonte, A.; Kaminska, A.; Dulac, O. Lamotrigine and seizure aggravation in severe myoclonic epilepsy. *Epilepsia*, v. 39, p. 508–12, 1998.

Glauser, T.; Ben-Menachem, E.; Bourgeois, B.; Cnaan, A.; Hadwick, D.; Guerreiro, C.; Kalviainen, R.; Mattson, R.; Perucca, E.; Tomson, T. ILAE treatment guidelines: Evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia*, v. 47, n. 7, p. 1094–1120, 2006.

Hauser, W.A.; Annegers, J.F.; Rocca, W.A. Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from rochester, minnesota. *Mayo Clin Proc*, v. 71, p. 576-586, 1996.

Hauser, W.A.; Beghi, E. First seizure definitions and worldwide incidence and mortality. *Epilepsia*, v. 49, n. 1, p. 8-12, 2008.

Hitiris, N.; Mohanraj, R.; Norrie, J.; Sills, G.J.; Brodie, M.J. Predictors of pharmaco-resistant epilepsy. *Epilepsy Res*, v. 75, p. 192–196, 2007.

Horio, M.; Gottesman, M.M.; Pastan, I. Atp-dependent transport of vinblastine in vesicles from human multidrug-resistant cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 85, p. 3580-3584, 1988.

ILAE. Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. Commission on epidemiology and prognosis, international league against epilepsy. *Epilepsia*, v. 34, p. 592-596, 1993.

ILAE. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the commission on classification and terminology of the international league against epilepsy. *Epilepsia*, v. 22, p. 489-501, 1981.

ILAE. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on classification and terminology of the international league against epilepsy. *Epilepsia*, v. 30, p. 389-399, 1989.

Jetté, L.; Murphy, G.F.; Leclerc, J.M.; Beliveau, R. Interaction of drugs with P-glycoprotein in brain capillaries. *Biochem Pharmacol*, v. 50, n. 10, p. 1701-1709, 1995.

Kwan, P.; Brodie, M.J. Potential Role of Drug Transporters in the Pathogenesis of Medically Intractable Epilepsy. *Epilepsia*, v. 46, n. 2, p. 224–235, 2005.

Kwan, P.; Arzimanoglou, A.; Berg, A.T.; Brodie, M.J.; Allen Hauser, W.; Mathern, G.; Moshé, S.L.; Perucca, E.; Wiebe, S.; French, J. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, v. 51, n. 6, p. 1069-77, 2010.

Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v. 227, p. 680-685, 1970.

Leveille-Webster, C.R.; Arias, I.M. The biology of the P-glycoproteins. *J Membr Biol*, v. 143, n. 2, p.:89-102, 1995.

Li, H.; McDonald, W.; Parada, I.; Faria, L.; Graber, K.; Takahashi, D.K.; Ma, Y.; Prince, D. Targets for preventing epilepsy following cortical injury. *Neurosci Lett*, v. 497, p. 172–176, 2011.

Löscher, W.; Delanty, N. MDR1/ABCB1 polymorphisms and multidrug resistance in epilepsy: in and out of fashion. *Pharmacogenomics*, v. 10, n. 5, p. 711-713, 2009.

Löscher, W. Current status and future directions in the pharmacotherapy of epilepsy. *Pharmacological Sciences*, v. 23, n. 3, p. 113-118, 2002.

Löscher, W.; Schmidt, D. New horizons in the development of antiepileptic drugs. *Epilepsy Research*, v. 50, p. 3-16, 2002.

Mackay, I.M. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*, v. 10, p. 190–212, 2004.

Masia, S.L.; Devinsky, O. Epilepsy and Behavior: A Brief History. *Epilepsy & Behavior*, v. 1, p. 27–36, 2000.

Matsumoto, T.; Tani, E.; Kaba, K.; Shindo, H.; Miyaji, K. Expression of P-glycoprotein in human glioma cell lines and surgical glioma specimens. *J Neurosurg*, v. 74, n. 3, p. 460-466, 1991.

Meldrum, B.S. Update on the mechanism of action of antiepileptic drugs. *Epilepsia*, v. 37, n. 6, p. S4–11, 1996.

Morrow, C.S.; Cowan, K.H. Mechanisms and clinical significance of multidrug resistance. *Oncology*, v. 2, p. 55-63, 1988.

Moshe, S.L.; Sperber, E.F.; Velisek, L. Critical issues of developmental seizure disorders. *Physiol Res*, v. 42, p. 145-154, 1993.

Nolan, T.; Hands, R.E.; Bustin, S;A. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR. *Nature Protocols*, v. 1, n. 3, p. 1559-1582, 2006.

Oguni, H. Diagnosis and treatment of epilepsy. *Epilepsia*, v. 45, n.8, p. 13-16, 2004.

Oliveira, J.; Gouveia, O. Transtornos psiquiátricos associados à epilepsia. *Revista de Psiquiatria Clínica*, v. 33, n. 5, p. 160-164, 2003.

Parra, J.; Augustijn, P.B.; Geerts, Y.; van Emde Boas W. Classification of epileptic seizures: A comparison of two systems. *Epilepsia*, v. 41, n. 4, p. 476-482, 2001.

Pellock, J.M. Standard approach to antiepileptic drug treatment in the United States. *Epilepsia*, v. 35, n. 4, p. S11-S18, 1994.

Perucca, E. Pharmacoresistance in epilepsy: how should it be defined? *Cns Drugs*, v. 10, p. 171-179, 1998.

Perucca, E, Gram L, Avanzini G, Dulac O. Antiepileptic drugs as a cause of worsening seizures. *Epilepsia*, v. 39, p. 5–17, 1998.

Perucca, E. The clinical pharmacology and therapeutic use of the new antiepileptic drugs. *Fund Clin Pharmacol*, v. 15, p. 405–7, 2001.

Perucca, E. An Introduction to Antiepileptic Drugs. *Epilepsia*, v. 46, n. 4, p. 31-37, 2005.

Pfaffl, M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*, v. 29, n.9, p. e45, 2001.

Pfaffl, M.W.; Horgan, G.W.; Dempfle, L. Relative expression software tool (REST\_) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in realtime PCR. *Nucleic Acids Res*, v. 30, p. e36, 2002.

Regesta, G.; Tanganelli, P. Clinical aspects and biological bases of drug-resistant epilepsies. *Epilepsy res*, v.34, p. 109-122, 1999.

Renart, J.; Reiser, J.; Stark, G.R. Transfer of proteins from gels to diazobenzoyloxymethyl-paper and detection with antisera: a method for studying antibody specificity and antigen structure. *PNAS*, v. 76, n. 7, p. 3116-3120, 1979.

Riordan, J.R.; Ling, V. Genetic and biochemical characterization of multidrug resistance. *Pharmacol Ther*, v. 28, p. 51-75, 1985.

Rogawski, M.A.; Johnson, M.R. Intrinsic severity as a determinant of antiepileptic drug refractoriness. *Epilepsy Curr*, v. 8, n. 5, p. 127-130, 2008.

Rowland, M.; Lewis, P.; *Merrit Tratado de Neurologia*, 9º edição. Rio de Janeiro, Ed Guanabara Koogan, 1997.

Sander, J.W. Some aspects of prognosis in the epilepsies: a review. *Epilepsia*, v. 34, n. 6, p. 1007-16, 1993.

Sander, J.W. The natural history of epilepsy in the era of new antiepileptic drugs and surgical treatment. *Epilepsia*, v. 44, n. 2, p. 17-20, 2003.

Santos, A.A.; Malaguti, C.; Dal Corso, S.; Silva, C.A. Expressão das metaloproteínas da matriz 2 e 9 na saliva de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. *Fisioterapia e Pesquisa*, v. 16, n. 4, p. 299-305, 2009.

Sarkadi, B.; Müller, M.; Holló, Z. The multidrug transporters--proteins of an ancient immune system. *Immunol Lett*, v. 54, n.2-3, p. 215-219, 1996.

Sarmiento, M.R.S.; Minayo-Gomez, C. A epilepsia, o epilético e o trabalho: relações conflitantes. *Caderno de Saúde Pública*, v. 16, n. 1, p. 183-193, 2000.

Schmidt, B. Clinical development of antiepileptic drugs in adults, *Neurotherapeutics*, v. 4, p. 62-69, 2007.

Schmidt, D.; Löscher, W. Drug Resistance in Epilepsy: Putative Neurobiologic and Clinical Mechanisms. *Epilepsia*, v. 46, n. 6, p. 858-877, 2005.

Seino, M. Classification criteria of epileptic seizures and syndromes. *Epilepsy Res*, v. 70, n. 1, p. S27-S33, 2006.

Siddiqui, A.; Kerb, R.; Weale, M.E.; Brinkmann, U.; Smith, A.; Goldstein, D.B.; Wood, N.W.; Sisodiya, S.M. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med*, v. 348, p. 1442-1448, 2003.

Silva, A.N.S.; Andrade, V.M.; Oliveira, H.L. Avaliação neuropsicológica em portadores de epilepsia do lobo temporal. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 65, n. 2b, p. 492-497, 2007.

Sisodiya, S.M.; Lin, W.R.; Harding, B.N.; Squier, M.V.; Thom, M. Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. *Brain*, v. 125, p. 22-31, 2002.

Syvänen, S.; Luurtsema, G.; Molthoff, C.F.M.; Windhorst, A.D.; Huisman, M.C.; Lammertsma, A.A.; Voskuy, R.A.; de Lange, E.C. (R)-[<sup>11</sup>C]Verapamil PET studies to assess changes in P-glycoprotein expression and functionality in rat blood-brain barrier after exposure to kainate-induced status epilepticus. *BMC Medical Imaging*, v. 11, p. 1-16, 2011.

Theodore, W.H.; Porte, R.J.; Albert, P.; Kelley, K.; Bromfield, E.; Devinsky, O.; Sato, S. The secondarily generalized tonic-clonic seizure: a videotape analysis. *Neurology*, v. 44, p. 1403-7, 1994.

Tishler, D.M.; Weinberg, K.T.; Hinton, D.R.; Barbaro, N.; Annett, G.M.; Raffel, C. *MDRI* Gene Expression in Brain of Patients with Medically Intractable Epilepsy. *Epilepsia*, v. 36, p. 1-6, 1995.

Tomson, T. Drug selection for the newly diagnosed patient: When is a new generation antiepileptic drug indicated? *Journal of Neurology*, v. 251, p. 1043-1049, 2004.

Towbin, H.; Staehelin, T.; Gordon, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *PNAS*, v. 76, n. 9, p. 4350-4354, 1979.

Ueda, K.; Cornwell, M.M.; Gottesman, M.M.; Pastan, I.; Roninson, I.B.; Ling, V.; Riordan, J.R. The *mdr1* gene, responsible for multidrug resistance, codes for p-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun*, v. 141, P. 956-62, 1986.

Vandesompele, J.; De Preter, K.; Pattyn, F.; Poppe, B.; Van Roy, N.; De Paepe, A.; Speleman, F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol*, v. 3, n. 7, p. 1-12, 2002.



Weaver, D.F.; Pohlmann-Eden, B. Pharmacoresistant epilepsy: Unmet needs in solving the puzzle(s). *Epilepsia*, v. 54, Suppl. S2, p. 80–85, 2013.