

**JOSELI DO ROCIO MAITO DE LIMA**

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE  
DIAZEPAM EM COELHOS: VIABILIDADE DA VIA INTRANASAL  
OU BUCAL NO TRATAMENTO DE CRISES EPILEPTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado em Pediatria, Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Pediatria.

**Orientador:**  
Prof. Dr. Bonald Cavalcante de Figueiredo

**Co-orientador:**  
Prof. Dr. Brás Heleno de Oliveira

**CURITIBA**

**2002**

*Aos meus queridos pais,  
Janete e Lídio.*

*Pela amizade, apoio e incentivo  
durante toda a jornada.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Bonald Cavalcante de Figueiredo, pela orientação objetiva e o incentivo constante na realização deste trabalho. Meu agradecimento pela amizade.

Ao Prof. Sérgio Antônio Antoniuk, pela orientação neste trabalho, pela amizade e pelo companheirismo e incentivo à minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Brás Heleno de Oliveira, pela orientação no desenvolvimento do método para dosagem das amostras pelo HPLC e pela interpretação dos resultados.

Ao Prof. Dr. Mitsuru Miyaki, chefe do Departamento de Pediatria do Setor de Ciências da Saúde da UFPR.

Ao Prof. Dr. Oldemir Carlos Mangili, Diretor do Setor de Ciências Biológicas da UFPR.

Ao Prof. Dr. Nelson Augusto Rosário Filho, Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Pediatria.

Ao Prof. Dr. Izrail Cat, pelos ensinamentos em Pediatria.

À Prof.<sup>a</sup> Leide Parolin Marinoni e ao Prof. Dr. Dinarte José Girdali pelos ensinamentos em Didática.

Ao Prof. Luiz Gonzaga Caleffe, pelos ensinamentos em Estatística e pela orientação na realização do estudo estatístico deste trabalho.

À Prof.<sup>a</sup> Sandra Regina Sella, pela doação das gaiolas de coelhos.

Aos Srs. Cândido José Thomaz Pereira e Antônio Luiz Andrade, pela disponibilidade e auxílio na colheita das amostras e manipulação dos animais.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Consuelo Andrade Marques, pela prontidão e auxílio na realização deste trabalho.

Ao Prof. Luiz Claudio Fernandes, pela permissão do uso do aparelho de centrifugação, o que facilitou a manipulação das amostras.

Às Sras. Angela Zanlorenzi e Tania Valéria Pirolo Assad, pela amizade e gentileza em doar os padrões internos para o método HPLC.

Ao Prof. Isack Bruck e à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lúcia Helena Coutinho dos Santos, pelo incentivo durante a realização deste trabalho.

À Juliana Ferreira de Moura e Elis Rosane Sade pela amizade.

À Prof.<sup>a</sup> Antônia Schwinden, pela meticulosa revisão gramatical do texto.

À Clara Lara de Freitas, pelo auxílio na editoração e formatação do texto.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Química, pelo incentivo e pela solidariedade durante a realização deste trabalho.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Pediatria, pela amizade e pelo companheirismo.

E, finalmente, ao meu irmão Lidio José, e aos meus padrinhos Amauri e Sueli, por sempre me incentivarem a seguir o caminho em busca da realização profissional.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	viii
<b>RESUMO</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	2
2.1 ESTADO DE MAL EPILÉTICO.....	2
2.1.1 Incidência.....	2
2.1.2 Idade.....	2
2.1.3 Etiologia .....	3
2.1.4 Fisiopatologia.....	3
2.1.5 Classificação Clínica.....	5
2.1.6 Tratamento .....	6
2.1.7 Morbidade E Mortalidade.....	8
2.2 VIAS ALTERNATIVAS NA ADMINISTRAÇÃO DO DIAZEPAM.....	10
2.2.1 Via Retal .....	11
2.2.2 Via Bucal.....	12
2.2.3 Via Intranasal.....	13
2.3 MODELO ANIMAL.....	14
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	16
3.1 OBJETIVO GERAL.....	16
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>4 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	17
4.1 ANIMAIS.....	17
4.2 MATERIAIS .....	17
4.2.1 FORMULAÇÕES .....	17
4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	18
4.3.1 Estudo Piloto.....	18

4.3.2	Etapa 2 com a Via Seleccionada.....	18
4.4	MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE DIAZEPAM .....	19
4.5	PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS.....	20
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>21</b>
5.1	ESTUDO PILOTO .....	21
5.2	SEGUNDA ETAPA COM A VIA SELECIONADA (INTRANASAL).....	22
5.3	EFEITOS COLATERAIS .....	24
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>32</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>33</b>
	<b>APÊNDICE - DADOS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM POR VIA ENDOVENOSA E INTRANASAL (n=8).....</b>	<b>37</b>

## LISTA DE TABELAS

1	CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM APÓS ADMINISTRAÇÃO PELAS VIAS INTRANASAL E BUCAL (n=1/grupo).....	21
2	ANÁLISE DAS MEDIDAS DE CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS (ng/mL) PARA O GRUPO INTRANASAL .....	22
3	ANÁLISE DAS MEDIDAS DE CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS (ng/mL) PARA O GRUPO ENDOVENOSO .....	22
4	ANÁLISE DA VARIÂNCIA COM MEDIDAS REPETIDAS PARA OS RESULTADOS DA CONCENTRAÇÕES DE DIAZEPAM ENTRE AS VIAS ENDOVENOSA E INTRANASAL ....	23
5	RESUMO DA ANÁLISE DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DECORRENTES DA INTERAÇÃO SIGNIFICATIVA ENTRE A VIA E O TEMPO, PELO TESTE DE TUKEY.....	23

## LISTA DE FIGURAS

1	CROMATOGRAMA DOS PADRÕES INTERNOS (HPLC).....	20
2	ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM APÓS APLICAÇÕES INTRANASAL E BUCAL (n=1/grupo).....	21
3	PERFIL DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM PELAS VIAS INTRANASAL E ENDOVENOSA (n=4/grupo) .....	23

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	- Acetonitrila
ANOVA	- Análise da variância com medidas repetidas
DP	- Desvio-padrão
EME	- Estado de mal epiléptico
ECG	- Eletrocardiograma
EEG	- Eletroencefalograma
GABA	- Ácido gama-aminobutírico
HPLC	- Cromatografia Líquida de alta eficiência
n	- número de casos
PEG 200	- polietilenoglicol 200
PSB	- tampão de fosfato c/ sódio
rpm	- Rotações por minuto
SE	- <i>Status epilepticus</i>
SNC	- Sistema nervoso central
UFPR	- Universidade Federal do Paraná



## RESUMO

O estado de mal epiléptico (EME) é considerado uma emergência neurológica devido a sua morbidade e mortalidade. O tratamento imediato das crises repetidas ou prolongadas em ambiente domiciliar passa a ser de vital importância para tentar evitar sua ocorrência. O diazepam é o benzodiazepínico amplamente utilizado pela via endovenosa no controle do crises, sobretudo pela rapidez. Mais recentemente tem sido divulgado o uso de midazolam por via bucal e intranasal, assim como diazepam por via retal para interromper crises e sua progressão para o EME. O presente estudo em coelhos jovens foi planejado para determinar se a administração de diazepam por via intranasal ou bucal poderia alcançar concentração plasmática terapêutica em tempo hábil para interromper as crises epiléticas. Em segundo lugar, foram analisados os efeitos colaterais associados ao diazepam e/ou veículo, e o que poderia ser mudado para evitá-los. Foi realizado um estudo piloto, com a administração de diazepam (Valium Injetável), 1mg/kg/dose, pelas vias bucal e intranasal, para saber se uma delas poderia ser indicada para a interrupção de crises, comparando-a em seguida com a via endovenosa. A quantificação plasmática do diazepam foi realizada, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência, nos tempos 0,1,5,10,15 e 20 minutos no estudo piloto e 30 segundos, 1, 2,5 e 5 minutos no estudo subsequente. A via intranasal foi mais eficiente do que a bucal, atingindo concentrações mais elevadas e mais rápidas. Este resultado indicou que a via intranasal é melhor que a bucal e foi selecionada para comparar com o perfil da via endovenosa. O pico de concentração plasmática de diazepam pela via intranasal foi aos 2,5 minutos, cerca de 2 minutos depois da maior concentração registrada pela via endovenosa. Não houve diferença estatisticamente significativa entre estes picos ( $p>0,05$ ). Foi observado 100% de óbito até 16 dias após a aplicação intranasal, decorrente da redução de ingesta hídrica e alimentar. Estes efeitos colaterais foram reavaliados com metade da dose e do volume do veículo (0,5mg/kg/dose por via intranasal), e todos apresentaram os mesmos efeitos e 100% de óbito. Pode-se concluir a partir destes estudos preliminares que a via intranasal se mostra válida para suprimir crises epiléticas no ambiente domiciliar. Entretanto, deve ser utilizado um veículo com outra formulação, provavelmente com maior concentração de diazepam e/ou menor concentração de propilenoglicol, que é considerado o componente mais prejudicial presente no veículo de muitas formulações.

## ABSTRACT

Status epilepticus (SE) is a neurological emergency associated with significant morbidity and mortality. Immediate treatment of prolonged or repetitive seizures in nonhospital settings is vital to abort progress to SE. Intravenous administration of diazepam is widely used for the control of seizures. More recently, intranasal and buccal applications of midazolam, as well as rectal diazepam has been reported to interrupt seizures and its progression to SE. The present study, using young rabbits, was designed to determine if intranasal or buccal administration of diazepam might be appropriate to reach therapeutical plasma levels in time to interrupt epileptic seizures. In addition, the side effects caused by either diazepam or its vehicle were investigated and what could be suggested to prevent them. In a pilot study, intranasal and buccal diazepam (Valium for parenteral use), 1 mg/kg/dosis, was administrated in order to know whether one of these routes could be selected for comparison with the intravenous application of diazepam. Diazepam was measured using HPLC (high-performance liquid chromatography) assay in plasma samples obtained 0, 1, 5, 10, 15 and 20 minutes after intranasal or buccal application in the pilot study, and 0, 30 seconds, 1, 2.5 and 5 minutes in the second group. Intranasal administration reached faster and higher plasma levels of diazepam and was considered the route of choice for further comparison with the intravenous application. Peak plasma concentration of diazepam through the intranasal route was detected at 2.5 minutes, while the highest measured concentration after intravenous administration was found 2 minutes earlier. The difference between these peaks was not statistically significant ( $p>0.05$ ). All animals that received intranasal diazepam died within 16 days due to reduced food and water intake. These side effects were re-investigated using only 50% of the diazepam dosis and volume of vehicle (0.5 mg/kg/dosis) but all animals sill presented the same side-effects and died. It can be concluded from these preliminary studies that intranasal diazepam could be used to suppress seizures outside hospital settings. However, it is necessary to use another formulation, most probably with higher diazepam concentration and/or lower concentration of propylene glycol, which is considered the most hazardous substance present in the vehicle of many formulations.

## 1 INTRODUÇÃO

Os benzodiazepínicos têm um papel fundamental no tratamento de emergência do estado de mal epilético (EME). Eles são também eficazes no tratamento agudo de crises prolongadas ou crises repetidas (*cluster*). Dentre eles, o diazepam é considerado a medicação de primeira linha.

Por ser altamente lipofílico, o diazepam é rapidamente distribuído, atravessa a barreira hematoencefálica e entra em altas concentrações no sistema nervoso central (SNC), logo após sua administração por via endovenosa. Ele age no SNC potencializando a inibição GABAérgica mediante de sua ligação específica a um complexo receptor benzodiazepínico-gama-aminobutírico(GABA)-fenobarbital

O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do SNC e aumenta a condução do íon cloro para dentro da célula pós-sináptica. Isto causa a hiperpolarização da célula e reduz a chance da transmissão da atividade epileptiforme. O diazepam tem função modulatória da ligação do GABA com seu receptor pós-sináptico, o que permite que a mesma atue por tempo mais prolongado. Sua ação ocorre por aumentar a frequência da abertura do canal de cloro (HENRIKSEN, 1998).

O tempo para o diazepam que está na circulação entrar no SNC é menor do que 10 segundos e seu pico de concentração no SNC ocorre em seis minutos (TASSINARI et al., 1998).

Dentro de 15-20 minutos após ter penetrado no SNC é redistribuído a outras partes do corpo, principalmente músculos e gordura. Sua meia-vida de eliminação é de 24 horas, sendo metabolizado pelo sistema microsomal hepático em nordiazepam e oxazepam. Posteriormente, é eliminado principalmente pela urina (70%), sob a forma livre ou predominantemente conjugada (GARSON, 1999).

Considerando-se que a precocidade no tratamento medicamentoso do EME ou das crises repetidas é um dos fatores que influenciam diretamente na morbidade e mortalidade dos pacientes, outras vias de administração para o diazepam, além da via endovenosa, poderiam ser utilizadas com o objetivo de conseguir o controle clínico destes episódios o mais rapidamente possível.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 ESTADO DE MAL EPILÉTICO

O EME é definido como qualquer crise epilética com duração igual ou maior que 30 minutos, ou repetidas crises sem recuperação da consciência entre elas, durante um período maior ou igual a 30 minutos (ILAE, 1981). Ainda assim, a definição é imprecisa e não engloba todas as necessidades e situações encontradas na prática clínica.

Esperar por um período de tempo específico para verificar se a crise persiste não é justificável. A intervenção terapêutica deve ser iniciada se uma crise ou uma série de crises persiste por mais de 10 minutos (RAMSAY, 1993) devido aos riscos de lesões neurológicas permanentes e à refratariedade ao tratamento (TREIMAN et al., 1992).

#### 2.1.1 Incidência

A incidência do EME depende sempre do grupo populacional estudado, envolvendo grupos de pacientes epiléticos ou não epiléticos, o que explica a sua ampla variação, podendo ser encontradas na literatura incidências tão baixas quanto 0,02% (ROWAN, SCOTT, 1970) ou tão elevadas como 16% (AICARDI, CHEVRIE, 1970).

#### 2.1.2 Idade

Em estudos populacionais o EME apresentou um pico de incidência no primeiro ano de vida e outro em idosos com mais de 60 anos (DELORENZO et al., 1996). Em outro estudo, 21% dos casos ocorreram no primeiro ano de vida e 64% nos primeiros cinco anos (MAYTAL et al., 1989).

### 2.1.3 Etiologia

Em crianças, as causas mais comuns incluem infecção do SNC, interrupção abrupta no uso de anticonvulsivantes, anoxia e hemorragia (AICARDI, CHEVRIE, 1970; DUNN, 1988; MAYTAL et al., 1989). Mas, considerando a distribuição das etiologias de acordo com a faixa etária (crianças e adolescentes), o estado de mal epilético febril ocorre quase exclusivamente abaixo dos cinco anos de idade (DUNN, 1988; MAYTAL et al., 1989; MAYTAL, SHINNAR, 1990), enquanto o EME em associação com trauma ocorre principalmente em adolescentes. Outro estudo populacional demonstrou que a principal etiologia na população pediátrica era infecção sistêmica associada à febre, com 52% dos casos. Outras causas freqüentes foram os baixos níveis plasmáticos dos anticonvulsivantes (21%) e causas remotas (38%). Dentre os adultos, houve uma diversidade maior de etiologias, sendo as principais os baixos níveis de anticonvulsivantes (34%), as causas remotas (23%) e a doença cerebrovascular (22%). Etiologias menos freqüentes, porém ainda relativamente comuns, foram hipóxia, distúrbios metabólicos e etilismo. Nesse estudo, 42% dos pacientes apresentavam história prévia de epilepsia, sendo 38% na população pediátrica e 54% entre os adultos. Em idosos, o EME ocorreu em 70% de pacientes que não eram epiléticos (DELORENZO et al., 1996).

### 2.1.4 Fisiopatologia

Os efeitos sistêmicos do EME convulsivo podem ser divididos em duas etapas: etapa I, ou etapa inicial ou fase compensada (0-30 minutos), e etapa II, ou etapa tardia ou fase descompensada (30-60 minutos).

- Etapa I (0-30 minutos)

Esta é a fase inicial do EME, e a auto-regulação cerebral e a homeostase estão preservadas. A área do cérebro na qual a crise se origina requer um maior aporte de glicose e oxigênio e um adequado fluxo sanguíneo para remoção de água e dióxido de carbono. A consequência inicial de uma convulsão prolongada é a liberação maciça

de catecolaminas (BENOWITZ, SIMON, COPERLAND, 1986), que provoca aumentos da taxa de glicose sangüínea, da freqüência cardíaca e pressão arterial: fatores esses que inicialmente mantêm adequada a perfusão cerebral e provê os músculos para a exaustiva contração. A hipertensão arterial pode atingir níveis suficientes para produzir encefalopatia hipertensiva (BROWN, HUSSAIN, 1991). Isso é acompanhado pelo aumento da pressão intracraniana, e, em crianças sedadas ou curarizadas, hipertensão arterial, dilatação pupilar e taquicardia podem constituir indicadores importantes da ocorrência de crises epilépticas (WASTERLAIN et al., 1993). Metade dos pacientes com EME apresenta padrões anormais no ECG, sendo as anormalidades mais freqüentes os padrões de isquemia do miocárdio, a alteração do eixo cardíaco, as anormalidades de condução e as arritmias cardíacas (BOGGS, PAINTER, DELORENZO, 1993). Os mecanismos propostos para essas anormalidades incluem o excesso de liberação de catecolaminas pelos terminais cardíacos do nervo simpático e medular da adrenal, o desbalanço autonômico decorrente de lesões neurológicas específicas no hipotálamo, no córtex límbico, na formação reticular e no gânglio estrelado e, ainda, a acidose metabólica.

A acidose metabólica como resultado da produção de ácido láctico e dos níveis de dióxido de carbono é comum. O pH pode estar abaixo de 7, 0 (AMINOFF, SIMON, 1980). O aumento da atividade muscular produz grande quantidade de calor, e hipertermias acima de 40 graus podem provocar lesão cerebral e piorar o prognóstico.

- Etapa II (30-90 minutos)

Nesta fase, o mecanismo de auto-regulação do fluxo sangüíneo cerebral está afetado e este se torna dependente da pressão arterial. A acidose láctica leva à não responsividade dos vasos periféricos, às catecolaminas circulantes e, posteriormente, à queda dos níveis de catecolaminas e à progressiva hipotensão arterial. Se a hipotensão se instala, o fluxo sangüíneo cerebral que está dependente da pressão arterial também cai, diminuindo ainda mais o suprimento de glicose e oxigênio. Ocorre também hipoglicemia pela exaustão dos estoques de glicogênio e pelo aumento da secreção

neurogênica de insulina (BENOWITZ, SIMON, COPERLAND, 1986; WASTERLAIN et al., 1993). A partir de estudos experimentais, infere-se que durante o EME ocorra a seguinte seqüência: 1) o hipocampo é ativado durante o EME; 2) a perda da transmissão sináptica inibitória mediada pelo GABA no hipocampo é fundamental para a emergência do EME e 3) a transmissão sináptica glutamatérgica mantém o EME e causa a morte celular (KAPUR, MAcDONALD, 1996).

O processo epiléptico pode, por si só, provocar uma superexcitação das células nervosas, e o glutamato e o aspartato podem mediar a excitotoxicidade. O influxo de cálcio para dentro da célula, decorrente de anormalidades de membrana e da falência da bomba de cálcio provocadas pela atividade epiléptica, acidose e ação de aminoácidos excitatórios, excedendo a sua concentração no citosol, pode igualmente levar à morte celular. Em realidade, a atuação de um conjunto de fatores levaria à via final comum, ou seja, à morte celular (BROWN, HUSSAIN, 1991).

### 2.1.5 Classificação Clínica

A classificação clínica do EME abrange:

1. EME generalizado
  - a) Convulsivo
    - Tônico-clônico
    - Tônico
    - Clônico
    - Mioclônico
  - b) Não-convulsivo ou EME de ausência
2. EME focal
  - a) Parcial simples
    - Motor
    - Somatossensitivo
    - Sintomas visuais

Autônômico

Com afasia ou disfasia

b) Parcial complexo ou não-convulsivo

### 3. EME unilateral

Essa classificação é insatisfatória e inclui o EME primariamente generalizado no mesmo grupo do EME secundariamente generalizado, quando este tem fatores etiológicos, faixas etárias e outras particularidades diversas do grupo de EME convulsivo da epilepsia generalizada primária. Na prática, classifica-se o grupo dos EMEs secundariamente generalizados como um grupo à parte.

DeLorenzo e colaboradores (1996) encontraram amplo predomínio de EME focal (focal e focal com generalização secundária); 70% em adultos e 50% em crianças eram EME focal.

#### 2.1.6 Tratamento

O tratamento do EME deve ser sempre considerado uma emergência, principalmente para o EME convulsivo, generalizado ou secundariamente generalizado.

##### A) Medidas Gerais

As medidas gerais devem merecer a mesma atenção que as medidas farmacológicas. O paciente deve permanecer em leito com grades ou proteção lateral para que se evitem quedas e traumatismo craniano. Durante a fase clônica, deve-se inserir uma cânula de Guedel entre os dentes, prevenindo mordeduras e lacerações na língua. O paciente deve ser posicionado em decúbito lateral, evitando-se, assim, aspiração de vômito e de secreções. Os sinais vitais e a temperatura devem ser monitorizados freqüentemente e as vias aéreas mantidas desobstruídas, de modo a garantir uma ventilação adequada. Sempre que necessário, deve-se proceder à entubação orotraqueal e à oxigenação para prevenir a ocorrência de hipóxia.



Paralelamente ao tratamento medicamentoso, deve-se investigar a etiologia do EME o mais precocemente possível. Sugere-se puncionar uma veia calibrosa por onde serão feitas a administração de líquidos, a aplicação das drogas antiepiléticas e a coleta de sangue para os seguintes exames laboratoriais: hemograma, glicemia, dosagem de sódio e potássio, cálcio, magnésio, dosagem sérica de anticonvulsivantes, função hepática e renal, gasometria arterial (em todos os casos de EME tônico-clônico), *screening* toxicológico no sangue e na urina.

Exame clínico minucioso à procura de infecções sistêmicas, exame neurológico e avaliação do fundo de olho tornam-se imperativos. Depois de instituído o tratamento, a tomografia computadorizada de crânio ou a ressonância magnética poderão ser necessárias para o diagnóstico de tumores, acidentes vasculares, abscessos, hematomas etc. Havendo febre, evidência de otite, mastoidite, infecção em quaisquer outras estruturas da face ou rigidez de nuca, está indicada a realização do exame liquorico. Recomenda-se, ainda, solicitar eletrocardiograma ou o uso de monitor cardíaco e EEG tão logo seja possível. Embora habitualmente o EEG não esteja facilmente disponível nos serviços de urgência e na maior parte das vezes não seja mesmo essencial para o diagnóstico de EME, ele é necessário durante a sua evolução, principalmente quando ainda persiste o distúrbio de consciência e quando for necessário determinar em que momento parar com as medidas agressivas. A alteração da consciência pode obviamente decorrer das drogas usadas, porém deve ser considerada também a possibilidade de o distúrbio da consciência estar relacionado à persistência do EME. O EEG poderá mostrar a manutenção de padrão ictal naqueles pacientes com distúrbio de consciência isolado ou associado a manifestações motoras quase imperceptíveis (GARSON, SAKAMOTO, GUERREIRO, 2000).

#### B) Tratamento Farmacológico

Simultaneamente à infusão de glicose, com o intuito de prevenir lesões decorrentes da hipoglicemia, devem ser injetados 100mg de tiamina em pacientes com história de etilismo e piridoxina em crianças de 18 meses de idade.

Em seguida é injetado, por via endovenosa, o diazepam, na dose de 10mg ou 0,3mg/kg/dose, que terá tempo de ação entre 15-20 minutos. A fenitoína deve ser administrada imediatamente após o diazepam, mesmo que as crises tenham cessado. O objetivo é evitar a recorrência de crises. A dose utilizada para crianças e adultos é de 20mg/kg por via endovenosa, diluída em solução salina, não ultrapassando a velocidade de infusão de 0,75mg /kg/min ou 50mg/min em adultos e 25mg/min em crianças. O controle do EME é esperado após 10-30 minutos da administração da fenitoína.

Não havendo resolução do EME, o fenobarbital deve ser usado na dose de 10mg/kg em adultos e 15-20mg/kg em crianças e recém-nascidos, por via endovenosa. Se o controle clínico e eletroencefalográfico não for obtido, caracteriza-se EME refratário e utiliza-se, então, o midazolam com dose inicial de 0, 15-0, 2mg/kg e de manutenção de 0, 05- 0, 4mg/kg ou o tratamento clássico com o coma barbitúrico.

### 2.1.7 Morbidade E Mortalidade

A mortalidade associada ao EME é diretamente relacionada à idade do paciente, à etiologia e à duração do episódio, bem como com a habilidade em suprimir rapidamente o episódio epiléptico. Poucos óbitos ocorrem durante o episódio agudo do EME, a maioria dos óbitos acontece entre 15-30 dias após seu início como resultado da lesão ocasionada no SNC ou devido à lesão sistêmica causada pelo episódio de EME (PELLOCK, 1998).

DeLorenzo e colaboradores (1996) relataram mortalidade geral de 22%. Dividindo por faixas etárias, eles encontraram uma mortalidade de 3% em crianças, 13% em adultos e 38% em idosos com mais de 60 anos.

A morbidade após um primeiro episódio de EME foi comparada em crianças sem e com história prévia de crises epiléticas. Do total, 48% das crianças não apresentavam história prévia de crises e o EME foi seu primeiro evento convulsivo. Cerca de 35% dos pacientes sem história prévia de crises apresentaram deterioração neurológica comparadas aos 9% dos pacientes com história prévia. Os pacientes

sem história prévia eram significativamente mais jovens, tiveram crises e coma pós-ictal mais prolongados. As etiologias mais frequentes foram infecção, otite média aguda e alterações metabólicas secundárias, geralmente associadas à diarreia e a vômitos. Apesar de a mortalidade ter sido baixa (3,5%), a morbidade foi significativa no grupo de crianças sem história prévia de crises epiléticas (FORTNER et al., 1993).

Outro estudo avaliou a evolução neurológica em 57 crianças após o primeiro episódio de EME febril. Os pacientes apresentavam idade entre 6 a 57 meses e não apresentavam história prévia de crises ou anormalidades neurológicas. Cerca de 24% das crianças tiveram seqüela neurológica subsequente, desde déficit de linguagem (n=9) até seqüelas neurológicas severas e epilepsia (n=3). O déficit de linguagem foi detectado após um período médio de seis meses. Os maiores fatores preditivos para seqüelas foram o número de diferentes drogas necessárias para o término da crise e a duração da crise. Os autores recomendam que as crianças com EME febril devem ser acompanhadas pelo menos por um ano para a detecção precoce e o tratamento de eventuais distúrbios de linguagem (VAN ESCH et al., 1996).

Ao avaliar-se crianças e adolescentes com idade entre 1 a 16 anos foi observado, em outro estudo, que a duração do EME estava correlacionada com as seqüelas encontradas. O EME com duração superior a 120 minutos levou à ocorrência de seqüelas (principalmente seqüelas neurológicas maiores) duas vezes mais frequentes quando comparado ao EME com duração inferior a 120 minutos. Não ocorreram óbitos relacionados ao EME e não foram detectadas seqüelas na maioria dos pacientes (59%). A seqüela mais comumente encontrada foi o início de um novo quadro de epilepsia em 15 crianças (23%) sem história prévia de crises.

Seqüelas neurológicas maiores foram detectadas em seis pacientes (9%), previamente saudáveis. Uma criança apresentou hemiparesia, com a duração de seu EME superior a 60 minutos decorrente a hemiconvulsão febril, as outras cinco crianças (quatro com infecção do SNC e uma com sepsis e choque séptico) tiveram EME prolongado com duração de 2 a 30 horas. Déficits cognitivos foram encontrados em duas crianças. A primeira criança, que era previamente saudável aos 10 meses de

idade e que teve seu EME devido à meningite viral, apresentou atraso no desenvolvimento psicomotor após o EME e retardo mental moderado aos 14 anos de idade. A segunda criança que teve aos 6 anos e 9 meses de idade o quadro de EME por cerca de duas horas, devido à meningoencefalite de causa desconhecida, teve problemas cognitivos após o quadro de EME, e ao ingressar na escola apresentava retardo mental entre leve e moderado. Déficits motores e cognitivos severos foram encontrados em 3 crianças. A primeira criança com três meses de idade, que apresentou EME devido a choque séptico e encefalopatia, evoluiu com retardo mental e déficit motor severos (tetraplegia). As outras duas crianças que apresentaram encefalite por herpes simples nas idades de 2 anos e 2 anos e 3 meses, e cujo quadro de EME foi superior a 24 horas, evoluíram com retardo mental e atraso no desenvolvimento psicomotor severos.

Seqüelas neurológicas menores foram constatadas em quatro crianças (6%). Uma criança apresentou déficit motor leve, duas desenvolveram problemas de comportamento e uma criança problema de linguagem, que regrediu aos dois anos de idade (ERIKSSON, KOIVIKKO, 1997).

Os relatos acima citados e de outros estudos dão provas de que as crianças não estão sendo tratadas no tempo necessário para sejam evitados seqüelas e óbitos decorrentes de EME, indicando a necessidade urgente de disponibilizar um tratamento com diazepam ou midazolam no ambiente domiciliar.

## 2.2 VIAS ALTERNATIVAS NA ADMINISTRAÇÃO DO DIAZEPAM

Considerando-se o espectro em relação ao tempo, nas crises epiléticas, pode-se observar desde um episódio isolado, com duração breve, até o quadro do EME. Entre estes extremos poderão ser encontrados quadros de crises recorrentes simples de curta duração, crises epiléticas repetidas em cluster que terão duração de horas, sendo que estas últimas poderão progredir para crises prolongadas e ao EME. A intervenção rápida e precoce nesses quadros, com a intenção de bloquear a

evolução ao quadro de EME, é vital. O uso do diazepam, que é considerado a medicação de primeira linha, devido sua rápida ação quando administrado por via endovenosa, quando administrado por outras vias pode se mostrar, também, altamente eficaz, como já é demonstrado na literatura.

### 2.2.1 Via Retal

A solução parenteral de diazepam por via retal é amplamente utilizada em crianças. Seu pico da concentração sérica em humanos é obtido dentro de seis minutos, após a administração retal de diazepam na dose de 0,5mg/kg (DULAC et al., 1978).

A absorção retal de drogas lipossolúveis, como o diazepam, ocorre por difusão passiva através da mucosa lipoidal. Outro fato importante, a porção mais inferior do reto é suprido pelas veias retais média e inferior, que realizam um *bypass* da circulação portal, evitando que a droga seja metabolizada logo após sua absorção pelo fígado (DOOLEY, 1998).

O diazepam é eficaz tanto em abortar crises como em prevenir crises febris. Knudsen (1977) relatou em seu estudo que o uso do diazepam pelo reto suprimiu crises em 96% dos pacientes, quando administrado dentro dos 15 minutos após o início das crises. Administrado tardiamente, no transcorrer da crise, foi efetivo em somente 57% dos pacientes.

O uso do diazepam, na forma gel (Diastat), por via retal, também mostrou ser eficaz, principalmente em diminuir a frequência de crises em crianças e adultos, e nesse estudo não foi observada a reação adversa de depressão respiratória. O efeito colateral mais freqüente foi sonolência, em 33 % dos casos (DREIFUSS et al., 1998).

Outro estudo, multicêntrico, que envolveu 29 centros, com a participação de 114 pacientes (Diastat, n=56 e placebo, n= 58) que receberam uma única dose de diazepam gel via retal, também constatou que houve diminuição na frequência e na

recorrência das crises. Também, nesse estudo, não foi observada depressão respiratória e a reação adversa mais comum foi sonolência (13%) (CEREGHINO et al., 1998).

A administração do diazepam, na forma de supositório, mostrou não ser eficaz no tratamento de crises epiléticas. Em um estudo, com 20 crianças com idades entre 1-2 anos, que haviam apresentado 1 episódio de convulsão febril, foi administrada uma dose de diazepam retal, em solução ou em supositório. As concentrações plasmáticas eficazes obtidas do diazepam em solução foram atingidas entre 3-5 minutos. Mas, as concentrações plasmáticas similares só foram atingidas no grupo que foi tratado com supositório, após 20-30 minutos (KNUDSEN, 1977).

Ficou constatado, mediante os estudos realizados, que o uso do diazepam por via retal pode ser empregado fora do ambiente hospitalar no tratamento de crises epiléticas, evitando a evolução em muitos casos para o quadro de EME. Foi observada diminuição do número das visitas aos serviços de emergência e internações hospitalares.

Porém, o mais importante foi o relato dos pais e familiares. Eles passaram a sentir maior controle sobre os episódios convulsivos e a qualidade de vida do paciente e de seus familiares melhorou com a disponibilidade deste tratamento.

### 2.2.2 Via Bucal

A via bucal já é empregada para o tratamento de crises epiléticas, mas com a utilização de outro benzodiazepínico, o midazolam. Este é um benzodiazepínico solúvel em água no pH fisiológico. Antes de sua injeção, o anel benzodiazepínico de sua estrutura é aberto. Mas, após sua injeção em pH fisiológico, o anel se fecha e o midazolam torna-se lipossolúvel. Sua meia-vida de distribuição é de 15 minutos e sua meia-vida de eliminação é de 1,5 a 3,5 horas.

No estudo realizado com o uso do midazolam por via bucal comparado ao uso por via retal do diazepam, em pacientes com idades entre 5-22 anos, foi observado o controle das crises em 75% do grupo com midazolam e 59% do grupo com diazepam.

O tempo para o controle das crises nos dois grupos não teve diferença significativa, sendo de seis minutos para o midazolam e de oito minutos para o diazepam (SCOTT, BESAG, NEVILLE, 1999). Estes achados reforçam a opção no uso da via bucal por ser de mais fácil acesso e de melhor aceitação social. A medicação é colocada entre a bochecha e os dentes com o emprego de uma seringa. O volume utilizado é pequeno, com isto a aspiração não é um risco. A aspiração de saliva durante o EME, se ocorre, parece não levar a comprometimento respiratório (DE BOER, DE LEED, BREIMER, 1984).

A mucosa bucal e a mucosa retal possuem áreas de superfície ( $200 \text{ cm}^2$ ) e pH similares, são ricamente supridas de vasos sanguíneos e linfáticos, e a absorção de drogas é realizada diretamente na circulação sistêmica, evitando sua passagem pelo fígado e seu metabolismo imediato.

### 2.2.3 Via Intranasal

A via intranasal já foi empregada na administração do diazepam em adultos voluntários, comparando sua administração à administração pela via endovenosa. Mas, a formulação empregada pela via intranasal utilizou um veículo (polietilenoglicol 300) diferente do veículo da via endovenosa (propilenoglicol) com o objetivo de proporcionar melhor solubilidade e conseqüentemente melhor absorção da droga e menor incidência de efeitos colaterais locais. Obteve-se resposta adequada no controle das crises epiléticas com o uso desta formulação, ao analisar os achados do eletroencefalograma (LINDHARDT et al., 2001). Isto confirma a vantagem desta via na rápida absorção de drogas diretamente na circulação sistêmica, por uma rica rede de vasos sanguíneos que desviam da circulação portal, evitando o metabolismo hepático imediato, além do transporte direto para o SNC através da região olfatória da cavidade nasal (ILLUM, 2000).

## 2.3 MODELO ANIMAL

Os modelos animais para o uso intranasal de drogas têm recebido grande atenção atualmente. A via intranasal tem demonstrado ser efetiva para a administração de um grande número de moléculas, incluindo algumas com alta polaridade e com peso molecular moderadamente alto. A extensa rede de capilares sanguíneos abaixo da mucosa nasal parece facilitar a efetiva absorção sistêmica das drogas.

A escolha do modelo animal mais apropriado para a comparação com a administração endovenosa é de grande importância quando os resultados serão extrapolados para o homem. O animal mais comumente empregado é o rato.

Mas, para o emprego da via intranasal é relevante o conhecimento dos fatores que possam interferir na absorção das drogas. Alguns aspectos importantes em relação a anatomia da cavidade nasal são: volume e comprimento da cavidade nasal, área de superfície do epitélio nasal e estrutura celular. Os cornetos ou conchas possuem uma extensa superfície para a absorção de drogas. Mas a absorção também pode ocorrer através da região olfatória. Em alguns animais, *in vivo* (coelhos e cachorros), esta região não fica exposta para a absorção. O epitélio nasal consiste principalmente de quatro tipos de células, dentre elas as células ciliares, cuja principal função é transportar o muco através da nasofaringe e as células globosas ou calciformes, cuja função é a produção de muco.

Outros fatores podem afetar o sucesso da absorção das drogas em experimentos animais, tais como:

- a) características fisiológicas - velocidade do fluxo de muco, condições atmosféricas e presença de infecção;
- b) características relacionadas à droga - concentração, viscosidade/densidade da formulação empregada, pH, veículo e as propriedades físicoquímicas da droga;
- c) emprego da técnica de administração - volume, características do *spray*, perda anterior pelo nariz e perda pelo esôfago (GIZURARSON, 1990).



O emprego do diazepam por via endovenosa e retal em pequenos animais (gatos e cachorros), para o tratamento de crises epilépticas, é rotineira. E se empregam doses semelhantes às utilizadas em humanos (LÓPEZ, 1999).

Em um estudo experimental, tentou-se estimar a biodisponibilidade do diazepam administrado por via intranasal, em ovelhas. E sua comparação com os resultados obtidos previamente em coelhos e humanos. O diazepam foi administrado via nasal (7mg) e via endovenosa (3mg) em seis ovelhas respectivamente, sendo solubilizado em polyethylene glycol 300 na formulação nasal. O estudo de biodisponibilidade na ovelha mostrou ser mais baixa em relação ao do coelho em 54% e em 34% no homem (LINDHARDT et al., 2002).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Buscar evidências da eficácia da via intranasal ou via bucal para a aplicação do diazepam no tratamento de crises epiléticas.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I - Realizar estudo piloto para selecionar uma via com maior e mais rápida absorção de diazepam (via intranasal ou via bucal).
- II - Determinar o tempo para atingir os picos de concentrações plasmáticas do diazepam pela via selecionada (intranasal ou bucal) em relação à via endovenosa e verificar se a concentração alcançada seria indicada para suprimir crises epiléticas.
- III - Observar possíveis efeitos colaterais com o uso de diazepam injetável para aplicação por via não endovenosa e verificar o que poderia ser modificado para evitá-los.

## 4 MATERIAL E MÉTODO

### 4.1 ANIMAIS

Coelhos brancos neozelandeses com idade entre 80 e 100 dias, pesando entre 2,3 e 3,6kg adquiridos de criador autorizado foram utilizados. Foram utilizados animais de ambos os sexos e que foram acondicionados em gaiolas com livre acesso à água e ao alimento (um macho/gaiola e 2 fêmeas/gaiola). A temperatura da sala variou entre 20° e 23°. Os animais foram utilizados uma única vez no experimento.

### 4.2 MATERIAIS

O diazepam empregado (Valium Injetável, Roche) foi obtido de farmácias comerciais. O diazepam, clonazepam e clobazam em pó, usados como padrões internos nos ensaios, foram cedidos gentilmente pela Farmadoctor, uma farmácia de manipulação, Curitiba, PR. A acetonitrila (Merck KgaA, Darmstadt, Germany) foi utilizada na preparação das amostras. Outros materiais fazem parte do processo analítico. O sistema de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) empregado foi da marca Varian constituído de uma bomba quaternária, modelo 9012Q, com detector de fotodiodo modelo 9065, injetor automático marca Rainin, modelo AI-200, controlado pelo programa Star versão 4.5. A coluna utilizada foi uma C18 (250 X 4mm, µm da marca Rainin. O anestésico utilizado foi zolazepam (Zoletil 50, da Virbac, São Paulo).

#### 4.2.1 Formulações

Foram adquiridos dois lotes de diazepam (Valium injetável, Roche, lote “n 10932”, numa concentração de 5,3mg/mL e “n 110767” numa concentração de 5mg/mL e utilizados como recebidos pelas vias endovenosa, bucal e intranasal. Conforme informado pelo fabricante, a concentração do excipiente propilenoglicol é de aproximadamente 70%, entretanto, não foi permitido saber a concentração dos demais constituintes do veículo do Valium injetável.

### 4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Imediatamente antes de cada experimento os coelhos foram pesados e anestesiados com zolazepam (Zoletil 50) na dosagem de 15-30mg/kg/dose intramuscular e aguardado 15 minutos para o início do estudo. O diazepam foi injetado na dosagem de 1mg/kg/dose em todos os animais, pelas vias intranasal, bucal e endovenosa. A injeção endovenosa foi feita na veia marginal da orelha contralateral à coleta. Com o animal em decúbito dorsal, a administração pela via bucal foi realizada na parte inferior do lábio superior. Para administração pela via intranasal, o volume de cada dose (0,48 – 0,7mL) foi subdividido em duas partes iguais (0,24 – 0,35mL) e cada uma aplicada no interior de cada narina, por meio de gotejamento com uma seringa de insulina sem agulha.

Os experimentos foram planejados em duas etapas

#### 4.3.1 Estudo Piloto

O estudo piloto foi planejado para saber se é possível selecionar uma das duas vias, intranasal ou bucal, para estudo mais detalhado na etapa seguinte, comparando com a via endovenosa. Para este estudo, 1mL de sangue foi coletado da veia marginal aos 0, 1, 5, 10, 15 e 20 minutos após a aplicação intranasal ou bucal de diazepam. Neste estudo foi utilizado um coelho para cada via. Em seguida, o experimento foi repetido com outro coelho para confirmar os valores obtidos, escolhendo apenas um dos tempos de coleta. Estabeleceu-se que a via com absorção maior e mais rápida seria selecionada.

#### 4.3.2 Etapa 2 com a Via Selecionada

Neste estudo utilizaram-se quatro coelhos para cada uma das duas vias (a via selecionada no estudo piloto e a endovenosa). Considerando-se a maior rapidez de absorção da via endovenosa, as amostras sanguíneas foram obtidas nos tempos

30 segundos, 1 minuto, 2,5 minutos e 5 minutos após a injeção de diazepam na veia marginal contralateral. Desta forma esperava-se encontrar concentrações plasmáticas de diazepam crescentes e decrescentes de cada via.

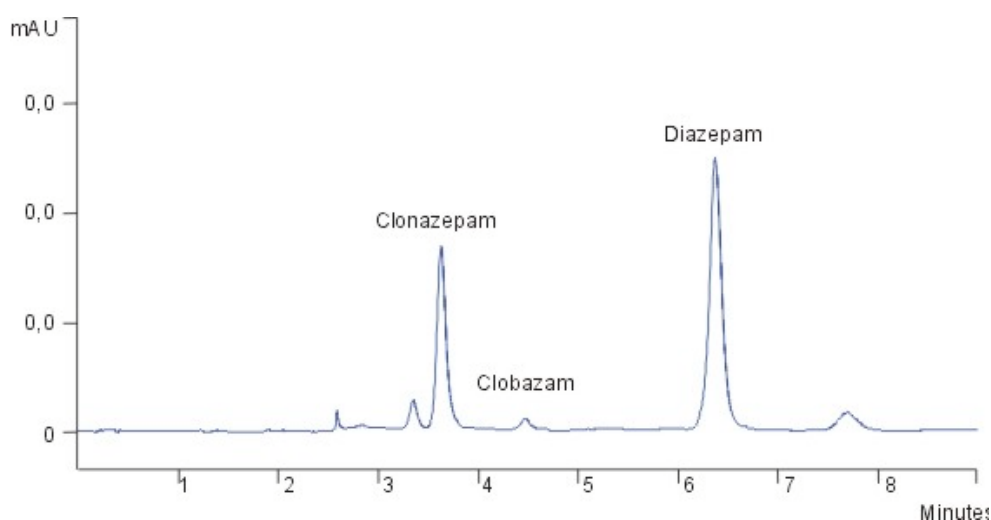
Todas as amostras sanguíneas (1ml) foram coletadas por meio de um cateter arterial heparinizado fixado na orelha dos animais e colocadas em tubos para centrifugação (2.500rpm por 5 minutos). As amostras de plasma foram guardadas e estocadas em tubos de 1,5mL (Eppendorf) a  $-20^{\circ}\text{C}$ , até a análise.

Posteriormente, com base nos resultados da via selecionada (intranasal) e endovenosa, que apresentaram efeitos colaterais, um terceiro grupo de animais (n=3 para cada via), foi reavaliado para ver se ainda apresentaria os mesmos efeitos colaterais usando apenas 50% da dose e do volume de Valium injetável (0,5mg/kg/dose de diazepam).

#### 4.4 MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE DIAZEPAM

As concentrações plasmáticas de diazepam foram obtidas pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com o método de extração com solventes padronizado no laboratório de Química do Professor Brás Heleno de Oliveira, do Departamento de Química da UFPR. Como padrão interno, foram adicionados 25 $\mu\text{L}$  de clobazam, numa concentração de 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  (0,25 $\mu\text{g}$ ) no estudo piloto ou 50 $\mu\text{L}$  de clonazepam, numa concentração de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$  (0,25 $\mu\text{g}$ ) (no segundo grupo, comparando a via selecionada e endovenosa) em 250 $\mu\text{L}$  de plasma. Optou-se por mudar o padrão interno de clobazam para clonazepam devido ao fato de este último apresentar seu pico de concentração mais bem definido no HPLC (figura 1). Depois de acrescentar o padrão interno ao plasma, foi adicionado 1,5mL de tampão borax (pH 9,0) e 5mL de acetato de etila: hexano (30:70).

FIGURA 1 - CROMATOGRAMA DOS PADRÕES INTERNOS (HPLC)



O material foi agitado vigorosamente em vortex por 30 segundos e congelado por 12 horas. Durante a padronização deste método foram feitos testes para avaliar se haveria diferença nos resultados com relação ao material ser apenas congelado, ou centrifugado sem congelamento, e não se encontrou diferença nas concentrações finais de diazepam. A fase orgânica foi transferida para tubos de 10cm<sup>3</sup> que foi mergulhado em banho-maria com evaporação do solvente, com o auxílio de jato de nitrogênio. O resíduo foi redissolvido em fase móvel (125µL) de água e acetonitrila (40:60) e transferida para microtubos, sendo 20µL injetado no sistema de HPLC para análise. As condições analíticas do HPLC incluíram coluna C-18,5µm (250 X 4,6mm), fluxo: 1mL/minuto, fase móvel: ACN/água (4:1), água ultrapura e pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico. Detecção a um comprimento de onda de 229nm.

#### 4.5 PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS

Todos os valores foram corrigidos de acordo com a dose utilizada e o peso dos animais. A análise estatística dos dados foi realizada pelo método da análise da variância com medidas repetidas (ANOVA) e análise de comparações múltiplas com o teste de Tukey.

## 5 RESULTADOS

Foi previamente descartada a possibilidade de interferência do anestésico zolazepam na medida do diazepam pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

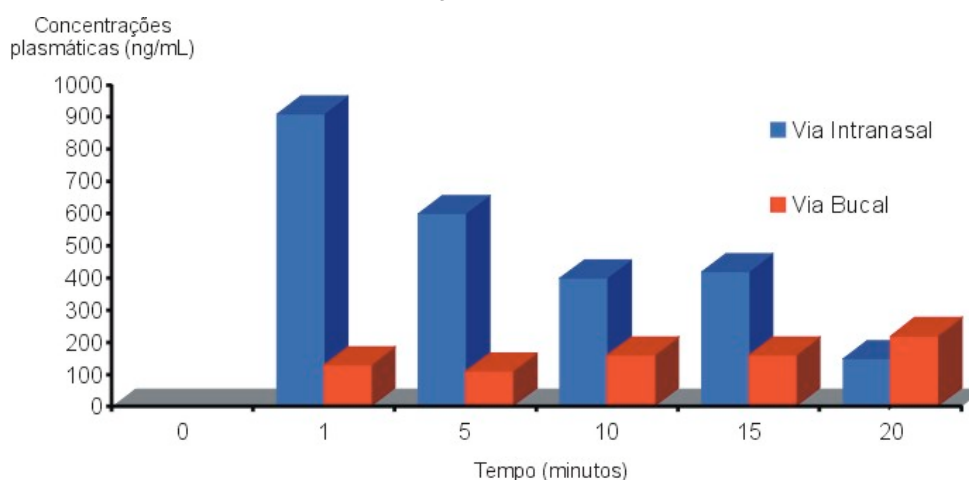
### 5.1 ESTUDO PILOTO

Na primeira fase do experimento, estudo piloto, a via intranasal apresentou maiores concentrações plasmáticas em relação à via bucal desde o início até na amostra de 15 minutos, o que definiu sua seleção para a segunda etapa (tabela 1 e figura 2).

TABELA 1 - CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM APÓS ADMINISTRAÇÃO PELAS VIAS INTRANASAL E BUCAL (n=1/grupo)

TEMPO (min)	DIAZEPAM PLASMÁTICO (ng/mL)	
	Via Intranasal	Via Bucal
1	910	130
5	600	110
10	400	160
15	420	160
20	150	220

FIGURA 2 - ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM APÓS APLICAÇÕES INTRANASAL E BUCAL (n=1/GRUPO)



## 5.2 SEGUNDA ETAPA COM A VIA SELECIONADA (INTRANASAL)

Houve diferença significativa entre alguns tempos. A via endovenosa atingiu seu pico de concentração aos 30 segundos e a via intranasal aos 2,5 minutos ( $p < 0,05$ ). A via intranasal teve concentrações mais baixas nos tempos 30 segundos e 1 minuto em relação à via endovenosa com concentração mais elevada no tempo de 30 segundos, o que indica uma absorção mais lenta do diazepam pela via intranasal. Entretanto, a maior concentração pela via endovenosa ( $462,55 \pm 60,29$ , média  $\pm$  DP) aos 30 segundos em relação ao pico de concentração pela via intranasal ( $332,15 \pm 119,61$ , média  $\pm$  DP) aos 2,5 minutos não revelou diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) (tabelas 2, 3, 4, e 5, e figura 2).

TABELA 2 - ANÁLISE DAS MEDIDAS DE CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS (ng/mL) PARA O GRUPO INTRANASAL

TEMPO	n	MÉDIA	CONCENTRAÇÃO		AMPLITUDE	DESVIO-PADRÃO
			Mínima	Máxima		
30 segundos	4	209,80	177,20	242,70	65,50	37,53
1 minuto	4	306,00	237,70	407,20	169,50	78,76
2,5 minutos	4	332,15	219,20	491,00	271,80	119,61
5 minutos	4	218,08	165,80	259,90	94,10	48,40

TABELA 3 - ANÁLISE DAS MEDIDAS DE CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS (ng/mL) PARA O GRUPO ENDOVENOSO

TEMPO	n	MÉDIA	CONCENTRAÇÃO		AMPLITUDE	DESVIO-PADRÃO
			Mínima	Máxima		
30 segundos	4	462,55	402,00	522,20	120,20	60,29
1 minuto	3	276,37	193,00	367,20	174,20	87,34
2,5 minutos	4	200,45	135,90	275,60	139,70	61,55
5 minutos	4	167,10	126,30	210,70	84,40	35,75



FIGURA 3 - PERFIL DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM PELAS VIAS INTRANASAL E ENDOVENOSA (n=4/GRUPO)

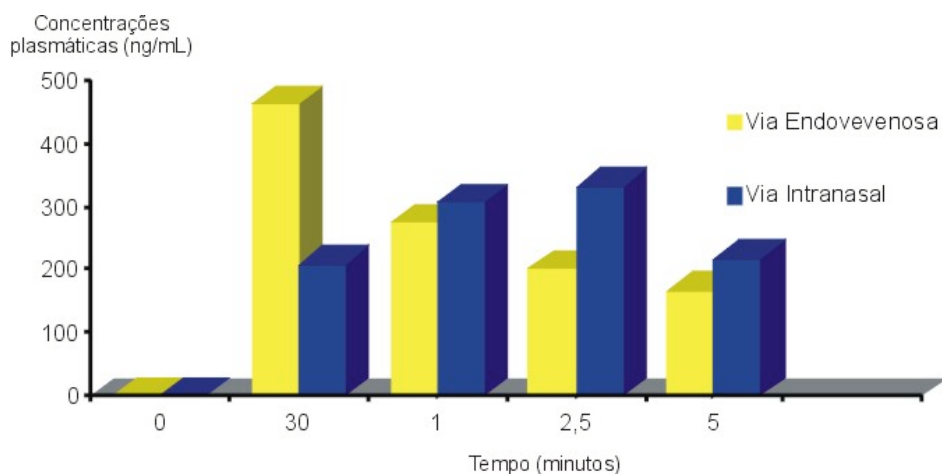


TABELA 4 - ANÁLISE DA VARIÂNCIA COM MEDIDAS REPETIDAS PARA OS RESULTADOS DA CONCENTRAÇÕES DE DIAZEPAM ENTRE AS VIAS ENDOVENOSA E INTRANASAL

VARIÁVEL	ESTATÍSTICA F	p
Via	0,045	0,849958
Tempo	11,062	0,000436
Via x Tempo	21,366	0,000011

NOTA: Detalhamento na tabela 5.

TABELA 5 - RESUMO DA ANÁLISE DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DECORRENTES DA INTERAÇÃO SIGNIFICATIVA ENTRE A VIA E O TEMPO, PELO TESTE DE TUKEY

	INTRANASAL			ENDOVENOSA			
	t = 1 minuto	t = 2,5 minutos	t = 5 minutos	t = 30 segundos	t = 1 minuto	t = 2,5 minutos	t = 5 minutos
<b>Intranasal</b>							
t = 30 segundos	0,108	<sup>(1)</sup> 0,024	0,999	<sup>(1)</sup> 0,001	0,610	1,000	0,957
t = 1 minuto		0,988	0,168	<sup>(1)</sup> 0,023	0,989	0,227	<sup>(1)</sup> 0,034
t = 2,5 minutos			<sup>(1)</sup> 0,039	0,086	0,778	0,068	<sup>(1)</sup> 0,009
t = 5 minutos				<sup>(1)</sup> 0,001	0,741	0,999	0,891
<b>Endovenosa</b>							
t = 30 segundos					<sup>(1)</sup> 0,005	<sup>(1)</sup> 0,001	<sup>(1)</sup> 0,001
t = 1 minuto						0,635	0,144
t = 2,5 minutos							0,947

(1) Valores inferiores a 5%.

### 5.3 EFEITOS COLATERAIS

Foi constatado que todos os animais que haviam recebido o diazepam (1mg/kg/dose) por via intranasal, já no primeiro dia após a administração começaram a diminuir sua ingesta alimentar e de água, evoluindo para desnutrição severa e posteriormente óbito (n=4). Também foi observado que dois animais que receberam o diazepam pela via endovenosa através da veia marginal apresentaram tromboflebite no local. Realizou-se, então, uma segunda avaliação quanto às possíveis reações adversas causadas pelo diazepam ou veículo por via intranasal e via endovenosa (cada via com três animais) utilizando apenas metade da dose e do volume (0,5mg/kg/dose). Com esta dosagem, foram a óbito dois coelhos: aos 11 e 13 dias após a administração intranasal do diazepam, e o terceiro foi a óbito no 16.º dia após a administração. Estes tempos de óbito foram semelhantes ao resultado com 1mg/kg/dose. Todos os animais da via intranasal apresentavam peso corporal 40 a 50% mais baixo do que no dia da aplicação do Valium. Esta perda foi semelhante nos grupos tratados com as duas dosagens (0,5 e 1mg/kg/dose). Além da tromboflebite, não foram observadas outras reações adversas no grupo endovenoso.

## 6 DISCUSSÃO

O estado de mal epiléptico (EME) é considerado uma emergência neurológica devido a sua morbidade e mortalidade (TREIMAN, 1993; GROSS-TSUR, SHINNAR, 1993). As crises prolongadas ou repetidas, sendo epilépticas ou não, também apresentam um grande potencial para morbidade. Como a persistência de uma crise por mais de 10 minutos pode indicar o estágio inicial do quadro de EME, o tratamento imediato passa a ser de vital importância (PELLOCK, 1998; MITCHELL, 1996).

A administração endovenosa de benzodiazepínicos é reconhecida como a via mais rápida na supressão de crises (APPLETON et al., 1995; TASSINARI et al., 1998; PATSALOS et al., 1991; SHORVON, 1998). No entanto, muitos episódios iniciam no ambiente domiciliar, o que impossibilita sua utilização pelos pais e familiares por exigir treinamento especializado e infra-estrutura hospitalar devido aos riscos de complicações, como hipotensão, arritmias cardíacas ou depressão respiratória e do sistema nervoso central.

Torna-se evidente a necessidade de vias terapêuticas alternativas que possam suprimir as crises e ao mesmo tempo oferecer suficiente segurança e praticidade.

A aplicação de diazepam por via retal é eficaz e amplamente utilizada em crianças (LOMBROSO, 1989; KNUDSEN, 2000). Porém, seu emprego em situações de emergência pode se tornar extremamente difícil. Em crianças, principalmente maiores ou adolescentes, apresentando uma situação de crise generalizada tônico clônica se faz necessária a presença de mais de uma pessoa para prestar o atendimento, devido às dificuldades técnicas. A administração retal em local público também é problemática.

No estudo ora apresentado optou-se por utilizar o coelho, como modelo animal, por apresentar um volume sanguíneo que permite a obtenção de várias amostras (1ml) em breves intervalos de tempo, por ser um animal de fácil manipulação e de baixo custo. Foram utilizados coelhos brancos neozelandeses jovens com a intenção de futuramente serem realizados estudos com o diazepam por via intranasal ou bucal

em crianças. A dosagem escolhida de diazepam foi de 1mg/kg/dose conforme a literatura (BECHGAARD, GIZURARSON, HJORTKJ, 1997; LI et al., 2000; LI, NANDI, KIM, 2002).

Neste trabalho, o estudo piloto indicou a via intranasal como a mais adequada para o experimento, por apresentar maiores concentrações plasmáticas. De fato, as razões deste resultado deve-se ao fato de a cavidade nasal do coelho, em analogia a do ser humano, ter uma ampla área de absorção, devido à grande quantidade de vasos sanguíneos. A concha nasal (corneto nasai) ventral do coelho apresenta muitas células globosas (produtoras de muco) mas poucas células ciliares, o que determina que pouco muco seja transportado dos dois terços anteriores da cavidade nasal para a faringe (GIZURARSON, 1990).

A maior rapidez de absorção pela via intranasal, em relação à via bucal, foi reportada por outros estudos. O uso do midazolam por via bucal determina mudanças no EEG entre 5-10 minutos após sua administração (SCOTT et al., 1998), e o controle de crises em cerca de 6 minutos (SCOTT, BESAG, NEVILLE, 1999). Seu uso por via intranasal mostra mudanças no EEG entre 2 e 5 minutos (O'REGAN, BROWN, CLARKE, 1996) e controle clínico das crises em 3 minutos (LAHAT et al., 2000).

Atualmente, tem-se preconizado o uso do midazolam por via bucal e intranasal, como vias alternativas, por serem de mais fácil administração e de melhor aceitação social, sendo vias de rápida absorção, altamente vascularizadas, e, como não ocorre a passagem da droga através da circulação portal, altas concentrações rapidamente chegam na circulação sistêmica. Neste estudo, optou-se pelo uso do diazepam por apresentar ação extremamente rápida (a supressão das crises epilépticas pode ocorrer dentro de 20 segundos) por via endovenosa, enquanto o uso do midazolam por esta via tem resposta aos 60 segundos e por via intramuscular aos 2-3 minutos (APPLETON et al., 1995; GALVIN, JELINEK, 1987; EGLI, ALBANI, 1981). O diazepam por via retal, disponível apenas no exterior para uso em ambiente domiciliar, demonstra ser tão efetivo quanto o midazolam por via bucal. Alguns pediatras do Brasil, não dispondo de uma formulação para via retal, utilizam o valium injetável para aplicação retal, e vários trabalhos defendem a inexistência de efeitos colaterais

que contra-indicam o uso desta formulação (AGURELL et al., 1975; LOMBROSO, 1989; MITCHELL, 1996).

A escolha pelo uso do diazepam partiu do princípio de que é ainda a droga de maior preferência e de ação mais rápida do que o midazolam quando injetados ambos por via endovenosa. Como desvantagens, a depressão respiratória, a hipotensão e a sedação são relatadas para ambos, diazepam e midazolam; entretanto, ocorre mais tromboflebite com a formulação disponível para o diazepam (Valium injetável). De fato, 2 coelhos tiveram tromboflebite com 1mg/kg/dose mas não com 0,5mg/kg/dose. Independente de qualquer efeito colateral causado pelo veículo, é relevante a informação da absorção do diazepam por via intranasal (concentração e rapidez).

Inicialmente, procurou-se avaliar como se comportava a absorção do diazepam desta preparação pela via intranasal, em relação às concentrações plasmáticas obtidas pela via endovenosa. Os resultados indicaram que, após a injeção endovenosa e coleta de sangue entre 30 segundos e 5 minutos, o diazepam atinge elevadas concentrações próximas a 30 segundos, rapidamente cai e se mantém em queda lenta. Como a concentração mais elevada foi medida na primeira coleta (30 segundos,  $462,55 \pm 60,29$ ng/mL, média  $\pm$  DP), entende-se que o pico aconteceu entre 0 e 30 segundos. Entretanto, mesmo sendo tecnicamente viável medir antes dos 30 segundos, era difícil precisar o momento exato da coleta, porque o tempo necessário para injetar e/ou coletar leva em torno de 15 segundos, um tempo relativamente longo dentro de um período de apenas 30 segundos. Em verdade, pode-se comparar este perfil inicial (primeiros 30 segundos) com a resposta do tratamento por via endovenosa em humanos com a rápida interrupção da crise epiléptica entre 20 e 50 segundos (APPLETON, SWEENEY, CHOONARA, 1995). Atualmente é aceito que a concentração plasmática de diazepam de 500-700ng/mL é necessária para retirar da crise aguda e que o nível entre 150 e 300ng/ml é suficiente para manter o controle das crises em crianças (FERNGREN, 1974; AGURELL, BERLIN, FERNGREN et al., 1975; KNUDSEN, 1977). Por ser mais lenta, a via intranasal teve um pico de concentração plasmática de diazepam de  $332,15 \pm 119,61$ ng/mL (média  $\pm$  DP) aos 2,5 minutos. A diferença entre as

médias das concentrações máximas obtidas nos tempos do estudo (30 segundos por via endovenosa e 2,5 minutos pela via intranasal) é estatisticamente não significativa ( $p > 0,05$ ). Evidentemente, a inclusão de um número maior de amostras mostraria algum grau de diferença estatisticamente diferente. O que se discute com a via intranasal é se haveria retirada da crise o mais rápido possível, próximo do tempo alcançado com a via endovenosa, mediante o ajuste da dose ideal sem risco para via intranasal, o que permitiria uso domiciliar da medicação.

Por ser altamente lipofílico, o diazepam distribui-se rapidamente, atravessa a barreira hematoencefálica e chega ao sistema nervoso central (SNC) em altas concentrações dentro de 1 minuto após administração por via endovenosa (RAMSAY, HAMMOND, PERCHALSKI, 1979). O controle clínico das crises ocorre dentro de 20 a 50 segundos (APPLETON et al., 1995) e o pico da concentração no SNC ocorre em 6 minutos. Sua meia-vida de distribuição é relativamente curta. Dentro de 15 a 20 minutos após ter penetrado no SNC, ocorre a redistribuição para outras partes do corpo, incluindo os estoques de gordura, havendo, portanto, perda de efeito clínico associada a um decréscimo dos níveis cerebrais e queda da concentração plasmática (TREIMAN, 1989).

Não foi observada depressão respiratória nem outros efeitos colaterais logo após a administração do diazepam. O propósito principal da anestesia era evitar rejeição do animal quanto ao incômodo da presença do líquido na cavidade nasal, mas, com certeza, o fato de os coelhos estarem anestesiados prejudicou a avaliação dos efeitos colaterais nos primeiros minutos.

A depressão respiratória e/ou hipotensão ocorrem mais freqüentemente em humanos quando o diazepam é usado em combinação com outros agentes hipnóticos, como fenobarbital, ou quando o EME é secundário a uma grave lesão cerebral. Na prática observa-se que a velocidade de infusão é um fator crítico no desenvolvimento da depressão respiratória. A velocidade de injeção não deve exceder de 2 a 5mg/minuto (SHORVON, 1998). Assim, a via intranasal permite absorção mais lenta e muito provavelmente causaria menos depressão respiratória. Mesmo assim, poderá ainda

haver depressão respiratória pela via intranasal porque o uso do diazepam por via retal também está correlacionado com quadros de depressão respiratória (NORRIS et al., 1999).

Foi observado neste estudo, já no primeiro dia após a administração intranasal do diazepam, que os animais diminuíram progressivamente sua ingesta alimentar e de água evoluindo para desnutrição severa e óbito. Na literatura consultada, os efeitos colaterais associados com, o veículo do diazepam quando empregado por via intranasal foram discretos em humanos (GREENBAUM et al., 1988) e nos animais (SUBER et al., 1989) foram relatadas redução da ingesta e perda de peso. Em contraste, neste estudo foram observados efeitos colaterais graves. Cem por cento dos coelhos (4/4) que receberam 1mg/kg/dose, e 100% dos animais que receberam metade da dose e do volume no terceiro grupo (3/3) (grupo planejado apenas para observar os efeitos colaterais) foram a óbito. Além da diferença do local de produção do Valium injetável da Roche (exterior e Brasil), não há informação precisa sobre diferenças na composição do veículo nessas formulações. A solução parenteral do diazepam utilizado neste estudo (Valium Injetável) é pouco solúvel em água e o diazepam está dissolvido em um veículo com aproximadamente 70% de propilenoglicol, e outros componentes cujas concentrações são desconhecidas (benzoato de sódio, ácido benzóico, álcool benzílico e álcool absoluto). Infelizmente, o fabricante nacional, Roche, não permite a divulgação da percentagem destes constituintes.

O propilenoglicol é largamente utilizado como solvente no preparo de medicações endovenosas, orais e tópicas. Após sua absorção, é parcialmente excretado pela via renal e parcialmente metabolizado em ácido láctico e piruvato, sendo posteriormente eliminado como dióxido de carbono e água. É geralmente considerado um solvente de baixa toxicidade, porém, foi relatado que sua ingesta crônica, em humanos, pode estar associada a efeitos tóxicos sobre o sistema nervoso central, como crises epiléticas (ARULANANTHAM, GENEL, 1978) e depressão do sistema nervoso central associada à severa acidose metabólica com a administração contínua por via endovenosa (GLOVER, REED, 1996). Neste estudo não se investigou a possibilidade de acidose

metabólica, mas, pela ausência de efeitos colaterais graves no grupo endovenoso, infere-se que este efeito não existiu ou não foi tão intenso.

Quando administrado por via intranasal, em humanos, o propilenoglicol pode causar reações adversas locais. Em um estudo foram comparadas duas formulações da medicação flunisolide (Rhinalar) na forma spray nasal em pacientes com rinite alérgica sazonal, contendo propilenoglicol na concentração de 20% e 5%, e os autores observaram reações adversas de queimação nasal e irritação da orofaringe que foram estatisticamente significativas (GREENBAUM et al., 1988).

Em ratos expostos a altas concentrações de propilenoglicol demonstrou-se a diminuição no consumo de alimentos e conseqüentemente de seus pesos, sendo este fato atribuído à irritação física sobre o epitélio nasal demonstrado pelas mudanças histopatológicas (SUBER et al., 1989).

Torna-se evidente a necessidade de utilizar outros diluentes do diazepam que permitam boa solubilidade sem serem tóxicos para mucosa nasal e/ou outros sistemas. Estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos em coelhos têm utilizado outros veículos na administração intranasal de diazepam. Constatou-se boa resposta com o uso de glicóis com baixo peso molecular como: glicofurol 75, tetra-etilenoglicol, polietilenoglicol 200 (PEG200), e na mistura de 30% de glicofurol 75 com tetra-etilenoglicol, com picos de concentração plasmática (ng/mL) de 241, 231, 227, 246 respectivamente nos tempos de 1, 5, 10 e 5 minutos e com rápido efeito farmacológico, após 1,5 a 3,5 minutos (BECHGAARD, GIZURARSON, HJORTKJ, 1997). Outro estudo fez aplicações repetidas por 14 dias da formulação de PEG 200 com diazepam e observou discretas mudanças no estudo microscópico da mucosa nasal (HJORTKJAER et al., 1999).

Quando se associou ao diazepam um veículo com 60% de propilenoglicol, 30% de etanol e 10% de água na presença de glicocolato de sódio a 1%, foi observado que o diazepam obteve sua concentração máxima de  $273,6 \pm 26,4$  ng/mL, (média  $\pm$  DP) em 2 minutos, e sua readministração após 5 minutos demonstrou pico de concentração plasmática de  $625,7 \pm 14,7$  ng/mL (média  $\pm$  DP), por via intranasal.



O glicocolato de sódio a 1% é um surfactante que potencializa a absorção intranasal de drogas, pela alteração da sua solubilidade, e promove um menor potencial para toxicidade. Quando se alterou a concentração de propilenoglicol e etanol para 30% e 60%, respectivamente, obteve-se o pico de concentração de  $313,1 \pm 17,3$ ng/mL (média  $\pm$  DP) em 2 minutos (LI et al., 2000). Outro estudo aplicou pela via intranasal uma microemulsão na forma spray que consistia de 15% de etil-laurato, 23,3% de Tween 80, 23,3% de propilenoglicol, 23,3% de etanol e 15% de água, obtendo-se rápida absorção. Com 2mg/kg/dose de diazepam (mas usando uma formulação mais concentrada em diazepam, 40mg/mL, oito vezes mais concentrada do que o Valium injetável com 5mg/mL) atingiu-se o pico de concentração de  $352,3 \pm 40,8$ ng/mL (média  $\pm$  DP) em 2-3 minutos e não se observaram efeitos colaterais (LI, NANDI, KIM, 2002). Isso sugere que o uso de menor quantidade de veículo do Valium injetável poderia ser uma solução para evitar os efeitos colaterais. Evidentemente, há diferenças entre as duas formulações e pode ser necessário acrescentar ou retirar outros componentes.

## 7 CONCLUSÕES

1. A absorção intranasal do diazepam (Valium injetável) foi melhor do que a absorção pela via bucal. Neste estudo, a via intranasal é a via mais indicada depois da endovenosa.
2. Pela via intranasal do coelho é possível atingir concentrações plasmáticas de diazepam próximas da via endovenosa, num tempo um pouco mais longo. Esta via, uma vez que atingiu concentrações consideradas terapêuticas pode ser utilizada para tratamento de crises epilêpticas em ambiente domiciliar, evitando a evolução para o EME.
3. O veículo utilizado (presente no Valium injetável) não deve ser usado pela via intranasal. Uma formulação parecida, porém com maior concentração de diazepam e menor concentração de propilenoglicol, que é considerado o componente mais prejudicial presente no veículo, talvez possibilite o uso de diazepam intranasal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGURELL, S.; BERLIN, A.; FERNGREN, H. G. et al. Plasma levels of diazepam after parenteral and rectal administration in children. **Epilepsia**, v.16, p.277-283, 1975.
- AICARDI, J.; CHEVRIE, J. J. Convulsive status epilepticus in infants and children: a study of 239 cases. **Epilepsia**, v.11, p.187-197, 1970.
- AMINOFF, M. J.; SIMON, R. P. Status epilepticus: causes, clinical, features and consequences in 98 patients. **Am J Med**, v. 69, p. 657-666, 1980.
- APPLETON, R.; SWEENEY, A.; CHOONARA, I. et al. Lorazepam versus diazepam in the acute treatment of epileptic seizures and status epilepticus. **Dev Med Child Neurol**, v.37, p.682-688, 1995.
- ARULANANTHAM, K.; GENEL, M. Central nervous system toxicity associated with ingestion of propylene glycol. **J Pediatr**, v.93, n.3, p.515-516, 1978.
- BECHGAARD, E.; GIZURARSON, S.; HJORTKJAER, R. K. Pharmacokinetic and pharmacodynamic response after intranasal administration of diazepam to rabbits. **J Pharm Pharmacol**, v.49, p.747-750, 1997.
- BENOWITZ, N. L.; SIMON, R. P.; COPERLAND, J. R. Status epilepticus: divergence of sympathetic activity and cardiovascular response. **Ann Neurol**, v.19, p.197-199, 1986.
- BOGGS, J. G.; PAINTER, J. A, DELORENZO, R. J. Analysis of electrocardiographic changes in status epilepticus. **Epilepsy Res**, v.14, p.87-94, 1993.
- BROWN, J. K.; HUSSAIN, I. H. M. I. Status epilepticus I: pathogenesis. **Dev Med Child Neurol**, v.33, p.3-17, 1991.
- CEREGHINO, J. J.; MITCHELL, W. G.; MURPHY, J. et al. Treating repetitive seizures with a rectal diazepam formulation: a randomized study. **Neurology**, v.51, p.1274-1282, 1998.
- DE BOER, A. G.; DE LEED, L. G.; BREIMER, D. D. Drug absorption by sublingual and rectal routes. **Br J Anaesth**, v.56, p.69-82, 1984.
- DELORENZO, R. J.; HAUSER, W. A.; TOWNE, A. R. et al. A prospective population-based epidemiologic study of status epilepticus in Richmond, Virginia. **Neurology**, v.46, p.1029-1035, 1996.
- DOOLEY, J. M. Rectal use of benzodiazepines. **Epilepsia**, v.39, suppl. 1, p.524-527, 1998.
- DREIFUSS, F. E.; ROSMAN, N. P.; CLOYD, J. C. et al., A comparison of rectal diazepam gel and placebo for acute repetitive seizures. **New England J Med**, v.338, n.26, p.1869-1875, 1998.
- DULAC, O.; AICARDI, J.; REY, E.; OLIVE, G. Blood levels of diazepam after single rectal administration in infants and children. **J Pediatr**, v.93, p.1039-1041, 1978.

DUNN, D. W. Status epilepticus in children: etiology, clinical features and outcome. **J Child Neurol**, v.3, p.167-173, 1988.

EGLI, M.; ALBANI, C. Relief of status epilepticus after IM administration of the new short-acting benzodiazepine midazolam (Dormicum). **Excerpta Medica**, v.4, p.548, 1981.

ERIKSSON, K. J.; KOIVIKKO, M. J. Status epilepticus in children: aetiology, treatment and outcome. **Dev Med Child Neurol**, v.39, p.652-658, 1997.

FERNGREN, H. G. Diazepam treatment for acute convulsion in children. **Epilepsia**, v.15, p.27-37, 1974.

FORTNER, C. A.; DRISCOLL, S. M.; TOWNE, A. R. et al. Morbidity in children after a first episode of status epilepticus (Abstract). **Epilepsia**, v.34, suppl. 6, p.55, 1993.

GALVIN, G. M.; JELINEK, G. A. Midazolam: a n effective intravenous agent for seizures control. **Arch Emerg Med**, v.4, p.169-172, 1987.

GARSON, E. Benzodiazepínicos: De ansiolíticos a antiepilépticos. In: YACUBIAN, E. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Lemos, 1999. p.91-106.

GARSON, E.; SAKAMOTO, A. C.; GUERREIRO, C. A. M. Estado de mal epiléptico. In: GUERREIRO, C. A. M.; GUERREIRO, M. M.; CENDES, F.; LOPES-CENDES, I. **Epilepsia**. São Paulo:Lemos, 2000. p.351-368.

GIZURARSON, S. Animal models for intranasal drug delivery studies: a review article. **Acta Pharm Nord**, v.2, n.2, p.105-122, 1990.

GLOVER, M. L.; REED, M. D. Propylene glycol: the safe diluent that continues to cause harm. (Abstract) **Pharmacotherapy**, v.16, n.4, p.690-693, 1996.

GREENBAUM, J.; LEZNOFF, M. D.; SCHULZ, M. D. et al. Comparative tolerability of two formulations of rhinalar (flunisolide) nasal spray in patients with seasonal allergic rhinitis. **Ann Allergy**, v.61, n.4, p.305-310, 1988.

GROSS-TSUR, V.; SHINNAR, S. Convulsive status epilepticus in children. **Epilepsia**, v.34, suppl. 1, p.S12-S20, 1993.

HENRIKSEN, O. An overview of benzodiazepines in seizure management. **Epilepsia**, v.39, suppl. 1, p.S2-S6, 1998.

HJORTKJAER, R. K.; BECHGAARD, E.; GIZURARSON, S. et al. Single and repeated-dose local toxicity in the nasal cavity of rabbits after intranasal administration of different glycols for formulations containing benzodiazepines. **J Pharm Pharmacol**, v.51, n.4, p.377-383, 1999.

ILAE. Comission on Classificatin and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographics classification of epileptic seizures. **Epilepsia**, v.22, p.489-501, 1981.

ILLUM, L. Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system. **Eur J Pharm Sci**, v.11, p.1-18, 2000.

KAPUR, J.; MACDONALD, R. L. Status epilepticus: a proposed pathophysiology. In: SHORVON, S.; DREIFUSS, F., FISH, D.; Thomas, D. **The treatment of epilepsy**. Oxford (UK): Blackwell Science, 1996. p.258-268.

KNUDSEN, F.U. Plasma-diazepam in infants after rectal administration in solution and by suppository. **Acta Paediatr Scand**, v.66, p.563-567, 1977.

\_\_\_\_\_. Febrile seizures: treatment and prognosis. **Epilepsia**, v.41, n.1, p.2-9, 2000.

LAHAT, E.; GOLDMAN, M.; BARR, J. et al. Comparison of intranasal midazolam with intravenous diazepam for treating febrile seizures in children: prospective randomised study. **BMJ**, n.321, p.83-86, 2000.

LI, L.; GORUKANTI, S.; CHOI, Y. M. et al. Rapid-onset intranasal delivery of anticonvulsants: pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation in rabbits. **I J Pharmaceutics**, v.199, n.1, p.65-76, 2000.

LI, L.; NANDI, I.; KIM, K. H. Development of na ethyl laurate-based microemulsion for rapid-onset intranasal delivery of diazepam. **I J Pharmaceutics**, v.237, n.1-2, p.77-85, 2002.

LINDHARDT, K.; GIZURARSON, S.; STEFÁNSSON, S. B. et al. Electroencephalographic effects and serum concentration after intranasal and intravenous administration of diazepam to healthy volunteers. **Br J Pharmacol**, v.52, p.521-527, 2001.

LINDHARDT, K.; ÓLAFSSON, D. R.; GIZURARSON, S. et al. Intranasal bioavailability of diazepam in sheep correlated to rabbit and man. **Int J Pharm**, v.231, n.1, p.67-72, 2002.

LOMBROSO, C. T. Intermittent home treatment of status and clusters of seizures. **Epilepsia**, v.30, suppl. 2, p.S11-S14, 1989.

LÓPEZ, J. R. Formación continuada: Manejo de las crisis convulsivas em pequeños animales. **Consulta de Difusión Veterinaria**, v.66, p.105-114, 1999. Disponível em: <[www3.unileon.es/dp/dmv/formco10.htm](http://www3.unileon.es/dp/dmv/formco10.htm)>. Acesso em: 18 fev. 2002.

MAYTAL, L.; SHINNAR, S. Febrile status epilepticus. **Pediatrics**, v.86, p.611-616, 1990.

MAYTAL, L.; SHINNAR, S.; MOSHE, S. L.; ALVAREZ, L. A. Low morbidity and mortality of status epilepticus in children. **Pediatrics**, v.83, p.323-331, 1989.

MITCHELL, W. G. Status epilepticus and acute repetitive seizures in children, adolescents, and young adults: etiology, outcome, and treatment. **Epilepsia**, v.37, suppl. 1, p.S74-S80, 1996.

NORRIS, G.; MARZOUK, O.; NUNN, A. et al. Respiratory depression in children receiving diazepam for acute seizures: a prospective study. **Dev Med Child Neurol**, v.41, p.340-343, 1999.

O'REGAN, M. E.; BROWN, J. K.; CLARKE, M. Nasal rather than rectal benzodiazepines in the management of acute childhood seizures? **Dev Med Child Neurol**, v.38, p. 037-1045, 1996.

PATSALOS, P. N.; BELL, D. M.; RICHARDS, G. et al. Pharmacokinetic evaluation of intravenous and intramuscular midazolam in patients with epilepsy. **Epilepsia**, v.32, suppl. 1, p.29, 1991.

PELLOCK, J. M. Management of agude seizure episodes. **Epilepsia**, v.39, suppl. 1, p.S28-S35, 1998.

RAMSAY, E. Treatment of status epilepticus. **Epilepsia**, v.34, suppl. 1, p.S71-S81, 1993.

RAMSAY, R. E.; HAMMOND, E. J.; PERCHALSKI, R. J. et al. Brain uptake of phenytoin, phenobarbital, and diazepam. **Arch Neurol**, v.36, p.535-539, 1979.

ROWAN, A. J.; SCOTT, D. J. Major status epilepticus: a series of 42 patients. **Acta Neurol Scandinav**, v.46, p.573-584, 1970.

SCOTT, R. C.; BESAG, F. M. C.; BOYD, S. G. et al. Buccal absorption of midazolam: pharmacokinetics and EEG pharmacodynamics. **Epilepsia**, v.39, n.3, p.290-294, 1998.

SCOTT, R. C.; BESAG, F. M. C.; NEVILLE, G. R. Buccal midazolam and rectal diazepam for treatment of prolonged seizures in childhood and adolescence: a randomized trial. **Lancet**, v.353, p.623-626, 1999.

SHORVON, S. D. The use of clobazam, midazolam, and nitrazepam in epilepsy. **Epilepsia**, v.39, suppl. 1, p.S15-S23, 1998.

SUBER, R. L.; DESKIN, R.; NIKIFOROV, I. et al. Subchronic nose-only inhalation study of propylene glycol in sprague-dawley rats. **Fd Chem Toxic**, v.27, n.9, p.573-583, 1989.

TASSINARI, C. A.; MICHELUCCI, R. et al. The use of diazepam and clonazepam in epilepsy. **Epilepsia**, v.39, suppl1, p.S7-S14, 1998.

TREIMAN, D. M. Pharmacokinetics and clinical use of benzodiazepines in the management of status epilepticus. **Epilepsia**, v.30, suppl. 2, p.S4-S10, 1989.

\_\_\_\_\_. Generalized convulsive status epilepticus in the adult. **Epilepsia**, v.34, suppl. 1, p.S2-S11, 1993.

TREIMAN, D. M.; MEYERS, P. D.; WALTON, N. Y. et al. Duration of generalized convulsive status epilepticus relationship to clinical symptomatology and response to treatment (Abstract). **Epilepsia**, v.33, suppl. 3, p.S66, 1992.

VAN ESCH, A.; RAMLAL, I. R.; VAN STEENSEL-MOLL, H. A. et al. Outcome after febrile status epilepticus. **Dev Med Child Neurol**, v.38, p.19-24, 1996.

WASTERLAIN, C. G.; FUJIKAWA, D. G.; PENIX, L. et al. Pathophysiological mechanisms of brain damage from satatus epilepticus. **Epilepsia**, New York, v.34, suppl 1, p.S37-S53, 1993.

**APÊNDICE**  
**DADOS DAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE DIAZEPAM**  
**POR VIA ENDOVENOSA E INTRANASAL (n=8)**

VIA	TEMPO			
	30 segundos	1 minuto	2,5 minutos	5 minutos
Endovenosa	420,1	193	135,9	126,3
Endovenosa	402	268,9	222,5	177,2
Endovenosa	522,2	367,2	275,6	210,7
Endovenosa	505,9		167,8	154,2
Intranasal	177,4	237,7	219,2	188
Intranasal	242,7	249,8	265,2	165,8
Intranasal	241,9	407,2	491	259,9
Intranasal	177,2	329,3	353,2	258,6