

**Universidade de Brasília  
Instituto de Ciências Biológicas  
Programa de Pós-Graduação  
em Biologia Animal**

**Avaliação da atividade antiepiléptica  
e da expressão neuronal de c-fos  
de dois peptídeos sintetizados a partir da  
Occidentalina-1202 isolada da vespa social  
*Polybia occidentalis***

**Lilian dos Anjos Carneiro, 2013**

## Dedicatória

A Deus,

Aos meus pais, José e Leide.

Aos meus irmãos, Aline e Thiago.

Ao meu amor, André.

À minha orientadora, Márcia.

“Precisamos ser pacientes, mas não ao ponto de perder o desejo;  
devemos ser ansiosos, mas não ao ponto de não sabermos esperar”

*Max Lucado*

## **Agradecimentos**

Ao meu Deus que tem me capacitado e me sustentado todos os dias da minha vida.

Aos meus pais pelo amor incondicional e pelo apoio pleno.

Aos meus irmãos pelo carinho e incentivo.

Ao meu amor por estar ao meu lado em todos os momentos.

À minha orientadora Márcia por tudo: apoio, carinho, amizade, confiança, paciência, sabedoria, calma e ensinamentos.

Aos meus amigos do laboratório de farmacologia pelo apoio e companhia.

Aos amigos e colegas do LTx pela companhia e aprendizagem.

Aos professores do LTx, Elisabeth, Carlos, Osmino, pelos ensinamentos, apoio e companhia.

Ao DPP-UNB, CNPq, FAPDF e CAPES pelo apoio financeiro.

# Sumário

Resumo

*Abstract*

1. Introdução .....	1
1.1. Epilepsia.....	1
1.2. Farmacoterapia para o tratamento da epilepsia .....	5
1.2.1. Principais drogas antiepilépticas .....	5
1.3. Epilepsia do Lobo Temporal (ELT).....	8
1.4. Modelos animais de epilepsia .....	11
1.5. A peçonha de vespas sociais .....	15
1.5.1. Os Mastoparanos.....	17
1.5.2. Os peptídeos quimiotáticos .....	20
1.6. Peptídeos Neuroativos .....	22
1.6.1. As Cininas.....	22
1.6.2. Outros compostos com neuroatividade.....	25
Início da parte confidencial.....	27
Fim da parte confidencial.....	87
7. Anexo .....	88
8. Referências Bibliográficas .....	91

## Resumo

Dos Anjos, LC. Avaliação da atividade antiepiléptica e da expressão neuronal de c-fos de dois peptídeos sintetizados a partir da Occidentalina-1202 isolada da vespa social *Polybia occidentalis*. [dissertação]. Brasília: Programa de Pós- Graduação em Biologia Animal, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília; 2013. 108p.

A epilepsia é uma desordem cerebral, diversificada tanto etiológica quanto clinicamente, caracterizada por uma predisposição persistente a gerar crises epiléticas decorrentes de descargas cerebrais paroxísticas e espontâneas. Estas crises podem desencadear manifestações motoras, comportamentais ou subjetivas variadas, tendo como fator comum, as descargas excessivas e síncronas de uma determinada população de neurônios. A epilepsia já tem sido vista como um problema de saúde pública, afeta predominantemente as pessoas dos países considerados subdesenvolvidos e emergentes, e, além disso, pode proporcionar aos portadores uma série de prejuízos psicológicos e sociais. Para o tratamento da epilepsia, existe, atualmente, uma grande variedade de fármacos disponíveis, mas muitos destes fármacos podem provocar efeitos indesejados, como reações adversas e interações medicamentosas podendo provocar um impacto considerável na qualidade de vida do paciente. Sendo assim, a procura por novos fármacos para o tratamento deste distúrbio se mostra necessária, e a peçonha de vespas sociais pode ser um importante recurso nesta procura, devido às características observadas em moléculas presentes nesta peçonha. A peçonha desnaturada da vespa social *Polybia occidentalis* apresenta um potente efeito antiepiléptico contra crises induzidas quimicamente em ratos. A partir destes dados, foi feito o isolamento e a caracterização estrutural de um peptídeo antiepiléptico denominado Occidentalina-1202 (OcTx-1202).

Palavras-chave: *Polybia occidentalis*, Occidentalina-1202, atividade antiepiléptica, ácido caínico, registros eletroencefalográficos, barreira hematoencefálica.

## **Abstract**

Dos Anjos, LC. Evaluation of antiepileptic activity and neuronal expression of c-fos of two peptides synthesized from Occidentalina-1202 isolated from social wasp *Polybia occidentalis* [dissertation]. Brasília: Programa de Pós- Graduação em Biologia Animal, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília; 2013. 108p.

Epilepsy is a disorder of the brain, diversified etiologically and clinically, characterized by an enduring predisposition to generate epileptic seizures due to brain spontaneous and paroxysmal discharges. These seizures can trigger motor manifestations, subjective or behavioral varied and excessive synchronous discharges of a particular population of neurons. Epilepsy has already been seen as a public health problem, affects predominantly people from countries considered underdeveloped, and in addition, it may offer patients a range of psychological and social damage. For the treatment of epilepsy, there is today a wide variety of drugs available, but many of these drugs can cause unexpected effects, such as adverse reactions and drug interactions may cause a considerable impact on quality of life of the patient. Thus, the search for new drugs for the treatment of this disorder appears necessary, and the venom of social wasps can be an important resource in this search, due to the characteristics observed in molecules present in this venom. The denatured venom of the social wasp *Polybia occidentalis* exhibits potent antiepileptic effect against seizures induced by chemical convulsants in rats. From these data, it was made the isolation and structural characterization of a peptide known antiepileptic Occidentalina-1202 (OcTx-1202).

Keywords: *Polybia occidentalis*, Occidentalina-1202, antiepileptic activity, kainic acid, electroencephalographic recordings, blood brain barrier.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Epilepsia

Atualmente, as doenças crônicas constituem um dos principais problemas de saúde pública, principalmente pela sua alta mortalidade (60% das mortes) e morbidade (Guimarães, 1999). Estas doenças, apesar de não levar ao óbito imediato, prejudicam a qualidade de vida do indivíduo, uma vez que os pacientes e seus familiares são obrigados a conviver com uma condição debilitante do ponto de vista físico, social e psicológico, com implicações significativas na vida diária (Guimarães, 1999). Em especial, uma das condições crônicas mais impactantes é a epilepsia, uma condição neurológica grave, incapacitante, com alto risco de mortalidade e elevada prevalência no mundo (Sander, 2003; WHO, 2004).

A palavra *epilepsia* deriva do verbo grego *ēpilamvanein* (ataque, crise epiléptica) e foi descrita pela primeira vez em acadiano, na Mesopotâmia (Irã) há cerca de três mil anos. Nesta época, as crises epilépticas eram atribuídas ao deus da lua. No início de século XVII, William Gilbert descreveu o fenômeno elétrico responsável pela epilepsia, descartando assim, a teoria sobrenatural e mística (Goldensohn, 1997).

A epilepsia é um conjunto complexo de distúrbios neurológicos, diversificados tanto etiológica quanto clinicamente (Scorza; Cavalheiro, 2004), e é caracterizada pela atividade excessiva dos neurônios e dos circuitos cerebrais, capazes de gerar descargas elétricas sincronizadas, provocando crises epilépticas recorrentes ou com possibilidade de recorrência (Tunnicliff, 1996; Blum, 1988; Engel, 2001). Estas descargas neuronais sincrônicas e excessivas são provocadas, em sua maioria, pelo

desequilíbrio entre o estímulo excitatório, mediado principalmente pelo glutamato (principal neurotransmissor excitatório) e a inibição mediada pelo GABA (ácido gama-aminobutírico), o principal neurotransmissor inibitório (Löscher, 1998).

As descargas neuronais que caracterizam o fenômeno epiléptico podem ter origem em um conjunto de neurônios de parte do encéfalo (crises focais) ou em uma área mais extensa, envolvendo os dois hemisférios cerebrais (crises generalizadas) (Guerrine, 2006).

Entre as possíveis causas da epileptogênese, podemos citar lesão encefálica (como uma forte pancada na cabeça), infecção (meningite, neurocisticercose, por exemplo), crises febris na infância, distúrbios metabólicos ou intoxicação. Além disso, pode ocorrer associada a um distúrbio neurológico agudo como anoxia ou acidentes vasculares cerebrais (WHO, 2001; Moreira, 2004). Em crianças, cerca de um quarto das causas do surgimento da epilepsia está associada com lesões estruturais no cérebro, paralisia cerebral ou outras encefalopatias metabólicas genéticas. Em adultos, as causas mais comuns são tumores, acidente vascular cerebral e trauma (Berg *et al.*, 2009). Nas epilepsias idiopáticas, o processo de epileptogênese não é atribuído a nenhum insulto endógeno ou exógeno específico, sendo esta epilepsia própria do indivíduo, e em sua maioria causada por mutações genéticas (Steilen, 2004; McNamara *et al.*, 2006).

Os sintomas de uma crise epiléptica dependem das regiões encefálicas envolvidas. Sintomas transitórios podem ocorrer, como por exemplo, perda de consciência, distúrbio da visão, do paladar, dos movimentos e da função mental (WHO 2001). Adicionalmente, transtornos do desenvolvimento neural e doenças psiquiátricas apresentam maior prevalência em pacientes com epilepsia em relação à população em geral (Davies *et al.*, 2003; Seidenberg; Pulsipher, 2009). Mesmo em



pacientes epilépticos que não apresentam anormalidades cerebrais estruturais subjacentes, há evidências de aumento na ocorrência de transtornos psiquiátricos. (Austin *et al.*, 2001; Caplan *et al.*, 2004; Hermann *et al.*, 2006; Hermann *et al.*, 2007; Caplan *et al.*, 2008; Taylor *et al.*, 2010).

Como descrito anteriormente, a epilepsia é uma condição crônica, socialmente incapacitante aos seus portadores, uma vez que geralmente impõe aos pacientes limitações reais no desempenho de seus papéis sociais. Estes podem ser tolhidos em sua independência, autonomia, liberdade, autoimagem e autoconfiança (Baker *et al.*, 1997; Scorza; Cavalheiro, 2004). Além disso, pacientes com epilepsia podem apresentar dificuldades cognitivas, transtornos comportamentais, depressão, suicídio (o risco de suicídio entre pessoas com epilepsia é cinco vezes maior em relação à população), e também morte súbita (Lhatoo *et al.*, 1998; Wiegartz *et al.*, 1999; Rafnsson *et al.*, 2001; Boylan *et al.*, 2004; Ren, 2009). A morte súbita pode ser responsável por 10-20% da mortalidade observadas em alguns tipos de epilepsia, podendo ocorrer em qualquer idade (Walczak *et al.*, 2001, Nashef *et al.*, 2007).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a epilepsia afeta mais de 1% da população mundial, contabilizando 100 milhões de pessoas portadoras deste distúrbio no mundo (WHO, 2009). É mais prevalente que o autismo, paralisia cerebral, esclerose múltipla e doença de Parkinson juntas, o que a torna a segunda doença neurológica mais frequente, sendo superada apenas pelo acidente vascular cerebral (Porter, 1997; Blum, 1998). A incidência dessa patologia varia de acordo com idade, sexo, tipo de síndrome epiléptica e condições socioeconômicas, sendo mais frequente em crianças e idosos (Guerrini, 2006; Maranhão *et al.*, 2011).

Nos países em desenvolvimento, a maior ocorrência de traumatismo craniano e de infecções e infestações no SNC, tais como a malária, neurocisticercose, e

infecções bacterianas invasivas, contribuem com percentual significativo para o aumento dos casos (Newell *et al.*, 1997; Matuja *et al.*, 2001; Nicoletti *et al.*, 2002a; Nicoletti *et al.*, 2002b; Nsengiyumya *et al.*, 2003; Carter *et al.*, 2004; Preux *et al.*, 2005; Nicoletti *et al.*, 2007). Além disso, estudos familiares na África demonstraram que fatores genéticos podem desempenhar um importante papel na incidência da epilepsia nesses países (Jilek; Jilek-Aall, 1970; Jilek-Aall *et al.*, 1979; Goudsmit; van der Waals, 1983; Neuman *et al.*, 1995; Versteeg *et al.*, 2003). Nos países desenvolvidos, a curva de incidência da epilepsia por idade mostra predomínio em crianças e idosos e, nos países em desenvolvimento, revela maior incidência em adultos jovens. Nos países desenvolvidos predominam os distúrbios do desenvolvimento e as epilepsias idiopáticas na infância (ou seja, epilepsias decorrentes de susceptibilidade genética), além dos processos degenerativos e vasculares da terceira idade (Guerrini, 2006; Ren, 2009).

Existem poucos estudos sobre a prevalência e os trabalhos publicados sobre a incidência de epilepsia no Brasil são ainda mais escassos. O Ministério da Saúde ainda não tem uma estimativa real da prevalência e incidência da epilepsia nos estados do Brasil. No entanto, estima-se que aproximadamente três milhões de brasileiros sofram com este distúrbio, sendo que a cada novo dia, somam-se a estes quase trezentos novos casos (Noronha *et al.*, 2007). Dos três milhões de pessoas com epilepsia no Brasil, 50% destes têm as suas crises começando na infância ou adolescência e pelo menos 9 milhões de pessoas já apresentaram crise epiléptica alguma vez na vida (IBGE, 2003; Gallucci Neto; Marchetti, 2005).

Apesar do progresso da ciência nesta área, as elevadas taxas de epilepsia nos países em desenvolvimento aliadas às limitações do uso das drogas

antiepiléticas contribuem para que a epilepsia seja um grave problema de saúde pública.

## 1.2. Farmacoterapia para o tratamento da epilepsia

Uma única crise epiléptica durante toda a vida é observada em aproximadamente 10% da população. Nesses casos, o tratamento com antiepiléticos não é indicado. O diagnóstico de epilepsia é confirmado após uma segunda crise, iniciando assim o tratamento rotineiro com drogas antiepiléticas (DAE) (Ren, 2009; Maranhão *et al.*, 2011). O tratamento com uma DAE envolve principalmente a supressão das crises. Embora o mecanismo de ação de todas essas drogas não esteja completamente elucidado, elas visam o balanço entre o estímulo excitatório e inibitório (White, 1999; Kwan *et al.*, 2001).

Os três mecanismos de ação das DAE conhecidos até o momento são a modulação dos canais iônicos voltagem-dependentes, o aumento da neurotransmissão inibitória mediada por GABA e a diminuição da transmissão excitatória pelo glutamato (Meldrum, 1996; Kwan *et al.*, 2001).

### 1.2.1. Principais drogas antiepiléticas

Drogas antiepiléticas são substâncias que podem diminuir a incidência ou severidade das crises que acometem pacientes portadores de epilepsia (Porto *et al.*, 2007).

A farmacoterapia moderna em epilepsia teve início com a descoberta do fenobarbital, um barbitúrico de longa duração, em 1912. Esse medicamento

apresenta um baixo custo, porém, atualmente é considerado de segunda linha no tratamento da epilepsia, uma vez que efeitos colaterais e comportamentais limitam o seu uso (Stoelting, 2006). Entre os principais efeitos adversos estão sedação, depressão, hiperatividade (em crianças), confusão (em idosos), alterações cutâneas, anemia megalobástica, ataxia, deposição anormal de colágeno, dependência, tolerância e pequeno índice terapêutico (Valencia *et al.*, 2002; Ren, 2009; Pedroviejo *et al.*, 2009). Esse medicamento age na modulação pós-sináptica do GABA e também pelo bloqueio excitatório pós-sináptico, induzido pelo glutamato, principalmente aqueles mediados pelo AMPA (alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-isoxazol-propiónico). A ação GABAérgica leva ao aumento no tempo de abertura dos canais de cloro, levando a hiperpolarização neuronal, limitando a atividade e aumentando o limiar e dificultando a gênese da crise epiléptica (Macdonald *et al.*, 1989; Twyman *et al.*, 1989; Davies, 1995; Rho *et al.*, 1996; White, 1999).

Nos anos 70, drogas como; fenitoína, carbamazepina, etossuximida e o ácido valpróico, juntamente com uma variedade de benzodiazepínicos foram considerados como alternativas para tratamento das crises epilépticas (Kwan *et al.*, 2001). A partir da década de 90, centenas de compostos com características antiepilépticas foram desenvolvidas. No entanto, apenas uma pequena parte destes compostos tornou-se disponível para o uso clínico (Löscher, 1998). Entre estes, as DAE mais utilizadas na clínica são: fenitoína, carbamazepina, ácido valpróico e etosuximida (Sills; Brodie, 2001).

#### 1.2.2.1. Fenitoína

A fenitoína apresenta um alto índice terapêutico e é eficaz em crises parciais e generalizadas (para revisão ver Yacubian, 2002). Esse medicamento age no bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependente, regulando a excitabilidade

neuronal e a disseminação da atividade epiléptica a partir do foco epiléptico para outros neurônios (Tunnickliff, 1996). Entre os efeitos adversos estão: diplopia, tonturas, nistagmo, ataxia, náuseas e vômitos, depressão, sonolência, síndrome de Stevens-Johnson, hiperglicemia, hepatotoxicidade, hirsutismo, depressão, anemia megaloblástica, sonolência, agranulocitose, anemia aplástica, dermatite alérgica e pancreatite (Panayiotopoulos *et al.*, 1991; Genton, 2001; para revisão ver Yacubian, 2002).

#### 1.2.2.2. Carbamazepina

A carbamazepina pode ser usada para tratamento de crises generalizadas e focais (Yacubian, 2002). Esse medicamento altera a condutância iônica ao sódio, diminuindo a excitabilidade neuronal, suprimindo o foco epiléptico e impedindo a propagação rápida da atividade a partir do foco (Moreno *et al.*, 2004). Entre os efeitos colaterais estão: sedação, tonturas, icterícia, hipertensão, diarreia, intolerância digestiva e ataxia (para revisão ver Yacubian, 2002).

#### 1.2.2.3. Etossuximida

A etossuximida é a droga de escolha para o tratamento de crises de ausência (Brodie; Dichter, 1997). Age no bloqueio de canais de cálcio voltagem-dependentes (Coulter *et al.*, 1989). Os efeitos adversos incluem anorexia, vômito, náusea, agitação, sonolência, ataxia, fotofobia, tonturas e cefaléia (Genton, 2001).

#### 1.2.2.4. Ácido Valpróico

O ácido valpróico é um medicamento de amplo espectro, utilizada no controle de crises generalizadas, de ausência e com menor eficácia em crises focais (para revisão ver Yacubian, 2002). Atua na diminuição da velocidade de recuperação dos canais de Na<sup>+</sup> do estado inativado. Também aumenta a atividade da enzima que sintetiza o GABA enquanto inibe a atividade das enzimas que degradam o GABA (Moreno *et al.*, 2004). Os efeitos adversos da droga incluem intolerância digestiva, ganho de peso, tremor, náuseas e vômitos, anorexia, alopecia, edema periférico, encefalopatia, hepatotoxicidade, sedação, alterações plaquetárias que podem levar a sangramento e pancreatite (Genton, 2001; Moreno *et al.*, 2004).

#### 1.2.3.5. Outras drogas antiepiléticas

Apesar da sua disponibilidade, as DAE convencionais e de "nova geração" (Felbamato, Gabapentina, Lamotrogina, Oxicarbazepina, Topiramato, Tiagabina, Vigabatrina) são comumente associadas a efeitos colaterais, que podem variar em frequência e gravidade (Meldrum, 1997) podendo gerar uma deterioração cognitiva (Boon, *et al.*, 1994; Jokeit; Ebner, 2002; Scorza; Cavalheiro, 2004), um dano neural (Sutula *et al.*, 2003; Scorza; Cavalheiro, 2004) ou uma morte súbita (Tomson *et al.*, 2005). Além disso, as DAEs são ineficientes no controle de crises epiléticas em cerca de 30% dos pacientes (fármaco-resistentes), alcançando até 70% em pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal (crises mais frequentes em adultos) (Villetti *et al.*, 2001; Raza *et al.*, 2001).

### 1.3. Epilepsia do Lobo Temporal (ELT)

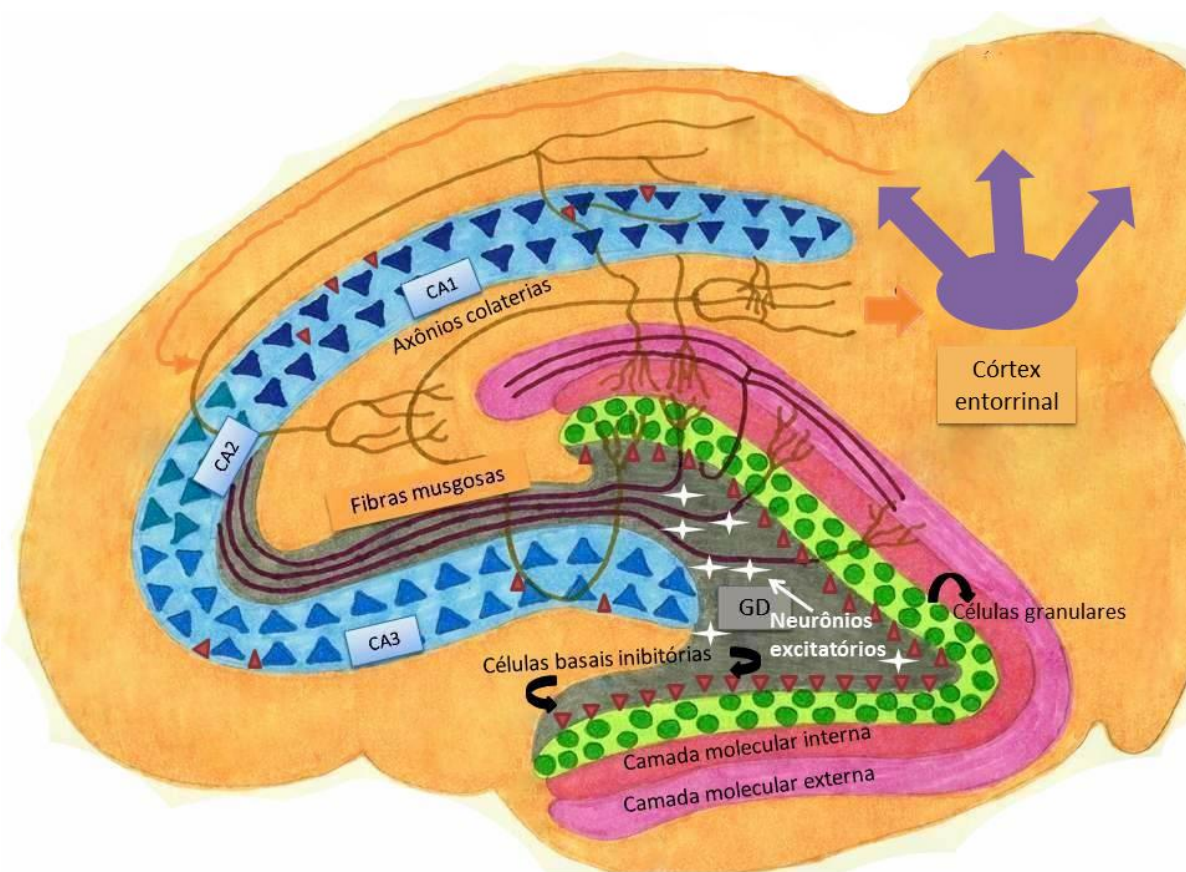
Entre os pacientes adultos com epilepsia intratável, a principal característica é apresentar o foco epiléptico no lobo temporal (Gastaut *et al.*, 1975; Ottman, 1989; Manford *et al.*, 1992; Engel Jr, 1996). O lobo temporal desempenha um papel vital na ELT, estando frequentemente envolvido em crises focais (Wiebe, 2000).

A ELT corresponde a cerca de 40% das epilepsias em adultos, sendo alvo de grande investigação uma vez que possui alta prevalência e por ser, em geral, resistente ou refratária ao tratamento medicamentoso (Engel, 1996; 1998; Stephen *et al.*, 2001). Com o avanço da técnica de neuroimagem, foi possível definir dois tipos de epilepsia do lobo temporal, a mesial (ELTM), responsável por 90% dos casos de ELT e a ELT lateral (ELTL) (Saygi *et al.*, 1994; Pacia *et al.*, 1996; Semah *et al.*, 1996). As principais causas para o surgimento de ELTM são hipóxia, trauma e infecção no início da vida, malformação e lesões isquêmicas ou inflamatórias (Wieser, 2004). A formação hipocampal é a estrutura mais danificada pela ELT, exibindo uma perda neuronal seletiva, o que resulta na esclerose hipocampal (Engel, 2001).

A esclerose hipocampal (EH) é um achado patológico comum em amostras cirúrgicas de pacientes com ELTM submetidos à remoção da zona epileptogênica (Tassi *et al.*, 2009). A incidência de EH é variável em diferentes estudos, variando de 48% a 73% (Lee *et al.*, 2001; Tassi *et al.*, 2009).

A EH resulta em uma grande perda de células neuronais e aparecimento de gliose na formação hipocampal, em especial nas regiões do CA1 e CA3 (Fisher, 1998; Wieser, 2004) (Figura 1). Na região do CA1, a perda de neurônios piramidais é severa, enquanto que na CA3 é menos proeminente (Wieser, 2004). Ocorre ainda a perda de neurônios da região do giro denteado (Fisher, 1998; Wieser, 2004). Em 50% dos casos de EH, a dispersão de células granulares no giro denteado é

observada (Wieser, 2004; Sufiani; Ang, 2012). A região do giro denteado e CA3 são ricas em receptores glutamatérgicos do tipo cainato, ao passo na região do CA1 predomina receptores NMDA e AMPA (Fisher, 1998). Receptores NMDA, quando ativados, permitem um influxo de cálcio que em altas concentrações pode levar a morte neuronal (Sloviter, 1991).



**Figura 1.** Ilustração da formação hipocampal. Regiões CA1, CA2 e CA3 em azul, giro denteado em cinza, verde e rosa.

O dano estrutural da formação hipocampal é progressivo (Briellmann *et al.*, 2002), podendo atingir estruturas límbicas subjacentes (Bernhardt *et al.*, 2009). Estas alterações estão relacionadas ao declínio progressivo na função cognitiva,



particularmente nas funções de memória (Berg, 2011). Em um estudo realizado por Hermann e colaboradores (2006), ao longo de quatro anos, com testes de memória e função motora fina, pacientes com ELTM apresentaram uma perda significativa (25-55%) destas funções.

O tratamento com medicamentos para o controle da ELTM é baseado na utilização das DAE, preferencialmente em monoterapia. As principais drogas utilizadas no tratamento da ELT são a fenitoína, carbamazepina e gabapentina (Schumacher *et al.*, 1998). No entanto, apenas 11% desses pacientes apresentam controle total de crises com o uso de uma DAE (Wieser, 2004).

#### 1.4. Modelos animais de epilepsia

O uso de modelos experimentais utilizando animais tem sido de grande importância para o avanço do conhecimento de diversas patologias, além da avaliação de novas abordagens terapêuticas, cirúrgicas e medicamentosas. Em relação a modelos experimentais de epilepsia, uma característica importante é a facilidade com que podem ser controladas variáveis como: idade e uniformidade genética, circuitos que podem gerar crises epiléticas, características dos insultos que geram a epilepsia, tempo entre crises epiléticas e alterações funcionais ou estruturais (Guedes *et al.*, 2006).

A partir de modelos experimentais, podem ser obtidas informações referentes à fisiopatologia das epilepsias, uma vez que reproduz alterações comportamentais, eletroencefalográficas e neuroquímicas que são semelhantes à epilepsia em humanos (Freitas, 2011). O uso desses modelos também proporciona a busca por novas drogas mais eficazes no bloqueio das crises epiléticas, com amplos

espectros e baixa toxicidade (Porto *et al.*, 2007). Além disso, estes modelos permitem a investigação dos mecanismos de ação das drogas antiepilépticas (DAE) e de possíveis efeitos adversos, antes de serem utilizadas na clínica.

Em geral, os modelos de epilepsia podem ser classificados em duas categorias: modelos de crises agudas ou modelos de epilepsia crônica (para revisão ver Raedt, 2007).

Em modelos de crises agudas, as crises epiléticas são evocadas por estímulos específicos (audiogênico, elétrico ou químico). Estes modelos são preferencialmente utilizados como teste de triagem inicial para potenciais novos tratamentos para epilepsia. A grande diversidade de modelos experimentais está relacionada com a multiplicidade de fatores envolvidos na epilepsia e com a variedade de possíveis abordagens para estudar o fenômeno, bem como a grande diversidade de tipos de epilepsia. Portanto, a escolha do modelo depende dos objetivos da pesquisa, tais como teste de novas drogas, descrições fenomenológicas (para identificação de variáveis potencialmente relevantes) ou mesmo para a determinação dos mecanismos subjacentes (Löscher; Schmidt, 1988).

Os modelos mais comuns de indução de Epilepsia induzidos quimicamente são o *Kindling* (crônico) e o *Status Epilepticus* (SE) (agudo ou crônico) (Morimoto *et al.*, 2004).

O modelo de SE é provavelmente o melhor modelo para o estudo de ELT. Neste modelo, observam-se alterações histopatológicas que se assemelham àquelas observadas em humanos (Tauck; Nadler, 1985; Sutula *et al.*, 1989). Modelos de SE podem ser induzidos por estimulação elétrica de estruturas límbicas (Sloviter *et al.*, 1991) ou por injeção sistêmica ou intracerebral de substâncias geradoras de crises como a pilocarpina e o ácido caínico (Cavalheiro *et al.*, 1991).

O ácido caínico (KA), isolado a partir da alga *Digenea simplex*, é 30 vezes mais potente que seu análogo estrutural, o neurotransmissor glutamato. Sua fórmula molecular é  $C_{10}H_{15}NO_4$  e a massa molar é 213 g/mol (Zheng, *et al.*, 2011).

O KA exerce sua neuroexcitotoxicidade e propriedades epileptogênicas, agindo em receptores do tipo cainato. Após a ligação ao Kars, o KA induz várias alterações em eventos celulares, incluindo o influxo de  $Ca^{2+}$ , causando uma despolarização dos neurônios que expressam este receptor por um longo período de tempo, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e disfunção mitocondrial, levando à necrose e apoptose neuronal (Wang *et al.*, 2005).

As formas de administração do KA para a indução das crises são variadas, podendo ser, intraperitoneal, endovenosa, subcutânea, via cirurgia estereotáxica nos ventrículos cerebrais, na formação hipocampal e no complexo amígdaloide (Leite *et al.*, 2002).

Em roedores, uma dose capaz de provocar crises epiléticas de KA induz uma variedade de manifestações comportamentais, mimetizando aquelas observadas em humanos com ELT, além de outros fenômenos como perda de postura, “*scratchings*”, e “*wet dog shakes*”, seguidos de respostas de orientação, onde o animal permanece de pé apenas sobre as patas traseiras (rearing), salivação profusa e queda (Racine, 1978; Mcintyre; Racine, 1986; Mcintyre; Morimoto; Fahnestock *et et al.* 2004). Sendo assim, o KA gera lesões similares às observadas em pacientes com esclerose mesial temporal. Estas lesões tipicamente incluem perda de interneurônios GABAérgicos no giro denteado e morte de células piramidais nas regiões CA1 e CA3 da formação hipocampal. Outro efeito observado no modelo do KA, é alteração nos circuitos neuronais induzidos pelas crises

epilépticas, demonstrado por sinapses aberrantes em modelos crônicos (Racine, 1978; McIntyre; Racine, 1986).

No modelo de indução aguda, a injeção sistêmica de uma dose única é frequentemente associada com uma elevada taxa de mortalidade e uma baixa porcentagem de ratos com crises espontâneas (Stafstrom *et al.*, 1992). A injeção intraperitoneal repetida de baixas doses (5 mg/kg) de KA, resulta em uma maior quantidade de ratos que desenvolvem crises espontâneas e uma menor mortalidade (Hellier *et al.*, 1998). Tanto no modelo de dose única como no kindling ou abrasamento, ocorrem efeitos tóxicos no encéfalo inteiro. Ao injetar KA diretamente em regiões específicas do cérebro, um SE pode ser evocado usando doses muito menores e assim limitar os efeitos tóxicos para pequenas áreas do cérebro, mais associadas à epilepsia (para revisão ver Raedt, 2007).

O modelo de indução de crises induzidas com este epiléptico é um dos mais utilizados no estudo da ELT (Ben-Ari, 1985; Löscher, 2012). Quando intracerebralmente injetado no animal, rapidamente produz crises comportamentais acompanhada de lesão encefálica muito semelhante à lesão da ELT em humanos (Quintans *et al.*, 2007). Estudos têm demonstrado que as características eletrofisiológicas de epileptogênese se assemelham às de pacientes com epilepsia refratária e resistente ao tratamento com medicamentos (Bragin *et al.*, 1999).

Mesmo com o avanço no estudo e uso de modelos animais para a descoberta de novos fármacos antiepilépticos, ainda não foi possível a oferta de novos compostos com alta eficácia para a ELT. Tendo em vista todas as considerações expostas, faz-se necessário o desenvolvimento de novos fármacos mais efetivos e menos tóxicos para o uso como antiepilépticos/neuroprotetores ou como ferramentas no estudo de doenças neurodegenerativas. Neste contexto, as

peçonhas de vespas sociais representam um recurso em potencial uma vez que estas peçonhas apresentam compostos que atuam com afinidade e especificidade em elementos das transmissões sinápticas de mamíferos (Mortari *et al.*, 2007; Monteiro *et al.*, 2009).

### 1.5. A peçonha de vespas sociais

Atualmente, os venenos de animais têm sido reconhecidos como um dos maiores recursos de moléculas biologicamente ativas, embora a maior parte deste arsenal permaneça desconhecida, especialmente os peptídeos (Pimenta; Lima, 2005).

O Brasil conta com aproximadamente 20% do total de espécies do planeta. Entre os animais, estima-se que 80% da fauna brasileira fazem parte do Filo Arthropoda (CDB, 2006). Estes dados revelam o imenso potencial do estudo de peçonhas de artrópodes da fauna brasileira para a descoberta de novos compostos bioativos.

A peçonha de artrópodes é composta por uma enorme variedade de compostos, como por exemplo: proteínas, sais inorgânicos, alcalóides, aminas biogênicas, peptídeos e acilpoliaminas (Pimenta; Lima, 2005), sendo os dois últimos bastante representativos em vespas (Beleboni *et al.*, 2004). Estes compostos produzem diversos efeitos farmacológicos, como citolíticos, alérgicos, necróticos, analgésicos, anti-inflamatórios, antitumorais e antimicrobianos (Beleboni *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2010;).

As vespas, eventualmente, são agressivas e podem atacar indivíduos da espécie humana. Nessas situações, a peçonha inoculada, por apresentar vários

tipos de compostos biologicamente ativos, provoca diversos efeitos que podem variar quanto à gravidade (Oliveira; Palma, 1998; Santos *et al.*, 2007).

A peçonha de vespas sociais é composta, principalmente, por proteínas de alta massa molecular, peptídeos, aminas biogênicas e sais inorgânicos. Entre os compostos de alta massa molecular, existem muitos tipos de compostos alergênicos. Destes, os antígenos 5 (Cascone *et al.*, 1995; Hoffman, 1993; Pirpignani *et al.*, 2002), as hialuronidasas (Kolarich *et al.*, 2005), as fosfolipases A1 e A2 (Soldatova *et al.*, 1993; Abe *et al.*, 2000; Costa; Palma, 2000), as serino-proteases e arginino-quinases (Oliveira e Palma, 1998; Santos *et al.*, 2007; 2010) são bastante estudados.

Além destas enzimas, a peçonha de vespas contém diversas classes de peptídeos em sua composição. Estima-se que aproximadamente 70% da peçonha bruta é composta por peptídeos (De Souza; Palma, 2009). Os peptídeos são utilizados como toxinas em peçonha de animais como parte do arsenal de armas químicas para defesa ou predação, podendo ainda ser usado para proteger a própria vespa contra infecções por patógenos (Palma, 2006). Diversos peptídeos bioativos têm sido identificados em vespas sociais como cininas, peptídeos quimiotáticos, peptídeos hidrofóbicos, mastoparanos, entre outros (Nakajima *et al.*, 1985). Tais compostos peptídicos destacam-se pela grande variedade de funções que exercem. Essas moléculas interagem com diversos tipos celulares e tecidos, causando diversas reações, tais como: dores prolongadas, contração da musculatura, aumento da pressão arterial, degranulação de mastócitos e outras células granulosas, lise celular, quimiotaxia para leucócitos polimorfonucleares, antibiose, arritmia cardíaca, neurotoxicidade, entre outras (De Souza; Palma, 2009).

Os peptídeos são geralmente agrupados a partir de sua atividade farmacológica ou estrutura química mais marcante. As famílias mais estudadas são os mastoparanos, os peptídeos quimiotáticos e os peptídeos neuroativos (Nakajima *et al.*, 1986; Piek, 1991; Konno *et al.*, 2002).

#### 1.5.1. Os Mastoparanos

Os componentes peptídicos mais abundantes e mais estudados na peçonha das vespas sociais são os mastoparanos (Piek 1986). Os mastoparanos são tetradecapeptídeos, constituídos por vários aminoácidos hidrofóbicos, como por exemplo, leucina, isoleucina, valina, lisina com um resíduo C-terminal amidado (Nakajima, 1984). São compostos anfifílicos com conformação em alfa hélice de 10 a 14 resíduos de aminoácidos sem nenhuma cisteína em sua sequência primária (Nakajima *et al.*, 1986; Mendes *et al.*, 2005). Também possuem resíduos de lisina em suas cadeias que tem, como possível função, a facilitação da liberação de histamina de mastócitos (Higashima *et al.*, 1990), ativação de fosfolipase A2 (Argiolas, 1983; Rivers *et al.*, 2002), fosfolipase C (Rivers *et al.*, 2002), proteína G (Higashijima *et al.*, 1988) e guanilato ciclase (Song *et al.*, 1993).

No ano de 1979, Hirai e colaboradores identificaram e caracterizaram o primeiro mastoparano, a partir da peçonha da vespa social *Vespula lewisii*. Este peptídeo foi o primeiro exemplo de peptídeo degranulador de mastócitos isolado da peçonha de vespas e é composto basicamente de lisina e aminoácidos hidrofóbicos.

Segundo Park e colaboradores (1995), os mastoparanos também apresentam várias atividades biológicas. Podem agir como um potente agente promotor de exocitose de diversas células de mamíferos, causar a secreção de histamina de

mastócitos e promover a liberação de serotonina a partir de plaquetas e de prolactina a partir da glândula hipófise (Hirai *et al.*, 1979a, Kuroda *et al.*, 1980). Esses peptídeos estão envolvidos ainda na lise de membranas celulares, liberação histamínica e consequente vasodilatação, indução de quimiotaxia de neutrófilos e células *T helper*, resultando no recrutamento de outros leucócitos para o local inflamado (Hancock; Diamond 2000). Alguns mastoparanos apresentam ainda uma potente atividade antimicrobiana (Chen *et al.*, 2008; Ho; Hwang, 1991; Li *et al.*, 2000; Mendes *et al.*, 2004; Souza *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2006). Além disso, podem apresentar atividade hemolítica, como é o caso do Mastoparano-X, isolado da peçonha da *Vespa xanthoptera* (Hirai *et al.*, 1979b), e do Mastoparano-B, isolado da peçonha da *Vespa basalis* (Ho; Hwang 1991). O Mastoparano-B também auxilia na formação de edema, além de provocar falência cardiovascular, devido a uma excessiva liberação de íons potássio eritrocitários (Ho *et al.*, 1994).

Na tabela 1 estão apresentados os principais peptídeos mastoparanos isolados da peçonha de vespas sociais e solitárias.

**Tabela 1:** Peptídeos mastoparanos isolados da peçonha de vespas.

<b>Espécie de Vespas</b>	<b>Peptídeos</b>
<b><i>Agelaia pallipes pallipes</i></b>	App-5
	App-7
	Agelaia MP-I
<b><i>Anoplius samariensis</i>*</b>	Anopline
<b><i>Anterchium flavomarginatum micado</i>*</b>	EMP-AF I
	EMP-AF 1



	EMP-AF2
	EMP-AF3
<b><i>Apoica pallens</i></b>	Apoica-MP
<b><i>Eumenes rubronotatus*</i></b>	EMP-ER
<b><i>Orancistroceros drewseni*</i></b>	Od-6
	Od-8
<b><i>Parapolybia indica</i></b>	Parapolybia-MP
<b><i>Polistes jadwigae</i></b>	Polistes MP
<b><i>Polistes dominulus</i></b>	Domilina A
	Dominila B
<b><i>Polybia paulista</i></b>	Polybia-MPI
	Polybia-MPII
	Polybia-MPIII
	Polybine I
	Polybine II
<b><i>Protonectarina sylveirae</i></b>	Protonectarina-MP
<b><i>Protopolybia exígua</i></b>	Protopolybia MPI
	Protopolybia MP II
	Protopolybia MP III
<b><i>Rodopalia sp</i></b>	Rodopalia MP
<b><i>Synoeca cyanea</i></b>	SC-4
<b><i>Vespa analis</i></b>	Mastoparano-A
<b><i>Vespa basalis</i></b>	Mastoparano-B
	HP-1
	HP-2

	HP-3
<b><i>Vespa cabro</i></b>	Mastoparano-C
<b><i>Vespula lewisii</i></b>	Mastoparano
<b><i>Vespa mandarina</i></b>	Mastoparano-M
<b><i>Vespa orientalis</i></b>	HR-I
	HR-II
	Mastoparano-II
<b><i>Vespa tropica</i></b>	Mastoparano-T
<b><i>Vespa xanthoptera</i></b>	Mastoparano-X

---

\* Vespas solitárias

**Referências:** Argiolas; Pisano 1984a, De Souza; Palma 2008, Dohtsu *et al.*, 1993, Hirai *et al.*, 1979a, 1979b, Ho; Hwang 1991, Ho *et al.*, 1998, Konno *et al.*, 1998, 2000, 2006, Mayo *et al.*, 2000, Mendes *et al.*, 2005, Murata *et al.*, 2009, Nakajima 1986, Nazimov *et al.*, 1980, Ribeiro *et al.*, 2004, Tuichibaev *et al.*, 1988, Turillazzi *et al.*, 2006, Yasuhara *et al.*, 1983.

### 1.5.2. Os peptídeos quimiotáticos

O segundo grupo de peptídeos biologicamente ativos mais importantes encontrados na peçonha de vespas são os peptídeos quimiotáticos (Yasuhara *et al.*, 1983). Foram primeiramente observados por eliminar microrganismos e induzir resposta celular quimiotática (Xu *et al.*, 2006; Yasuhara *et al.*, 1983), sendo então chamados de Ves-CPs ("peptídeos quimiotáticos de vespas"). Suas sequências primárias apresentam abundância de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos

semelhantes as dos mastoparanos. Com algumas exceções, possuem conformação em hélice anfipática, onde todos os resíduos básicos como lisina e arginina aparecem em uma mesma porção da molécula, ao passo que resíduos hidrofóbicos estão localizados na porção oposta (Nakajima, 1986).

Esses peptídeos induzem a quimiotaxia de macrófagos e leucócitos polimorfonucleares para a região em torno da picada (Yasuhara *et al.*, 1983) Foram, inicialmente, encontrados nas peçonhas das espécies *Vespa tropica*, *V. mandarinia*, *V. analis*, *V. cabro*, *V. xanthoptera*, *V. orientalis*, *Paravespula lewisii*, *Icaria sp* (Nagashima *et al.*, 1990). Posteriormente, diversos outros peptídeos com essas características foram isolados das peçonhas das vespas *Agelaia pallipes pallipes*, *Protonectina silveirae*, *Polybia paulista*, *Vespa magnífica* e *Polistes rothneyi iwata* (Baptista-Saimdemberg, 2011). A tabela 2 lista os principais peptídeos quimiotáticos das peçonhas de vespas.

**Tabela 2:** Peptídeos quimiotáticos isolados da peçonha de vespas.

<b>Espécie de Vespas</b>	<b>Peptídeos</b>
<b><i>Agelaia pallipes pallipes</i></b>	Protonectina
	Protonectina (1-6)
<b><i>Apoica pallens</i></b>	Apoica MP
<b><i>Icaria CP</i></b>	I-CP
	Bombolitina-I
	Bombolitina-II
	Bombolitina-III
<b><i>Megabombus pensylvanicus</i></b>	Bombolitina-IV

	Bombolitina-V
<b><i>Paravespula lewisii</i></b>	VesCP-L
	Polybia-Protonectina
<b><i>Polybia paulista</i></b>	Polybia-CP
	Protonectarina
<b><i>Protonectarina sylveirae</i></b>	Polibiacionina-I
	Polibiacionina-II
<b><i>Protopolybia exígua</i></b>	
<b><i>Vespa analis</i></b>	VesCP-A
<b><i>Vespa Cabro</i></b>	Cabrolina
<b><i>Vespa Mandarinina</i></b>	VesCP-M
<b><i>Vespa orientalis</i></b>	HR-II
<b><i>Vespa tropica</i></b>	VesCP-T

**Referências:** Argiolas; Pisano 1984, 1985, Baptista-Saidemberg *et al.*, 2010; De Souza *et al.*, , 2009, Dohtsu *et al.*, 1992, 1993, Kishimura *et al.*, 1976, Mendes *et al.*, 2004, Mendes; Palma 2006, Miroshnikov *et al.*, 1981, Murata *et al.*, 2006, Nakajima *et al.*, 1986, Rocha; Silva *et al.*, 1949, Ueno *et al.*, 1977, Udenfriend *et al.*, 1967, Yasuhata *et al.*, 1977, 1983, 1984a, 1984b, Watanabe *et al.*, 1976.

## 1.6. Peptídeos Neuroativos

### 1.6.1. As Cininas

O primeiro componente encontrado na peçonha de vespas sociais foi um peptídeo relacionado à bradicinina (BRP – bradikinin related peptides) que foi descrito como uma substância que produz dor (Pisano, 1968; Picolo *et al.*, 2010).

Desde então, muitos peptídeos desta classe têm sido encontrados na peçonha de vespas sociais e eles são conhecidos coletivamente como cininas de vespas (Nakajima, 1986). Na peçonha de vespas solitárias também foram encontrados BRPs, possivelmente atuando como neurotoxinas (Yasuhara *et al.*, 1987).

Algumas cininas de vespas possuem parte de suas sequências primárias altamente conservadas em relação à bradicinina (cuja sequência é RPPGFSPFR-OH) (Nakajima 1986). A presença de análogos de bradicinina em peçonhas está relacionado principalmente à defesa ou predação, uma vez que a picada de vespas provoca dor, edema e lesões locais mesmo em grandes vertebrados, como o homem (Nakajima, 1986; Mortari *et al.*, 2005). Na tabela 3, estão apresentadas cininas identificadas pela primeira vez na peçonha de vespas.

**Tabela 3:** Cininas isoladas da peçonha de vespas.

<b>Gênero da Vespa</b>	<b>Nomes dos Peptídeos</b>
<b><i>Polistes</i></b>	Polistescinina-3
<b><i>Polistes</i></b>	Polistescinina-R
<b><i>Polistes</i></b>	Polistescinina-J
<b><i>Polistes</i></b>	Polistescinina-C
<b><i>Polistes</i></b>	Polistes- protonectina
<b><i>Protopolybia</i></b>	Polybiacianina-I
<b><i>Protopolybia</i></b>	Polybiacianina-II

<i>Vespa</i>	Vespacinina-M
<i>Vespa</i>	Vespacinina-X
<i>Vespa</i>	Vespacinina-A
<i>Vespa</i>	Vespacinina-T
<i>Chiphononix</i>	Thr <sup>6</sup> -Bradicinina
<i>Chiphononix</i>	Fulvocinina
<i>Chiphononix</i>	Cyphoscinina
<i>Polybia</i>	Thr <sup>6</sup> -bradicinina

---

**Referências:** Kishimura *et al.*, 1976, Mendes; Palma 2006, Murata *et al.*, 2006, Nakajima *et al.*,1986, Picolo *et al.*, 2004, Rocha; Silva *et al.*, 1949, Ueno *et al.*, 1977, Udenfriend *et al.*, 1967, Yasuhara *et al.*, 1977, Yasuhara *et al.*,1983, Watanabe *et al.*, 1976, Mortari *et al.*,2007.

Essas moléculas têm sido associadas com hipotensão em cães, ratos, coelhos, gatos e galinhas, broncoconstrição em cobaias, contração do músculo liso (útero de rato, jejuno de coelho, íleo de cobaia, cólon de coelho e estômago de sapo), relaxamento do duodeno de ratos (Bockmann; Paegelow, 2000) e podem estar envolvidas na ativação de leucócitos seguido por uma liberação de citocinas, prostaglandinas, leucotrienos e bloqueio da transmissão colinérgica no SNC de insetos (Piek, 1991). Devido a esta última ação, estes peptídeos têm sido bastante estudados para o desenvolvimento de novos agentes inseticidas, uma vez que o bloqueio da transmissão sináptica de receptores nicotínicos de acetilcolina no

sistema nervoso central de insetos promove uma paralisia irreversível nos insetos (Piek *et al.*, 1990; Piek, 1991)

A Treonina<sup>6</sup>-bradicinina (Thr<sup>6</sup>- bradicinina) é uma das cininas mais encontradas na peçonha de vespas. A Thr<sup>6</sup>-bradicinina também foi isolada da peçonha da vespa social *Polyia occidentalis* apresentando um potente efeito antinociceptivo dependente de dose e tempo, quando injetada diretamente no SNC de ratos, sendo este feito 3 vezes mais potente que a morfina e 4 vezes mais potente que a bradicinina (Mortari *et al.*, 2007b). Os aspectos funcionais deste trabalho foram evidenciados por Nagy e colaboradores (2007), os quais afirmam que estudos que investigam o papel das cininas sobre o SNC, fornecem novas informações sobre o sistema supra-espinhal, cuja modulação pode representar uma nova estratégia no controle de patologias relacionadas à dor (Nagy *et al.*, 2007).

#### 1.6.2. Outros compostos com neuroatividade

As neurotoxinas também são bastante representativas na peçonha de vespas (Mortari *et al.*, 2007a), sendo predominantemente das classes das acilpoliaminas ou dos peptídeos, e geralmente atuam com afinidade e especificidade nas funções sinápticas excitatórias ou inibitórias das células do sistema nervoso de mamíferos e insetos. Estas toxinas podem interagir com canais iônicos para sódio, potássio e cálcio, e também podem atuar como agonistas ou antagonistas de receptores ionotrópicos ou metabotrópicos como, por exemplo, o do neurotransmissor excitatório glutamato (Mellor; Usherwood, 2004; Beleboni *et al.*, 2004a; Pimenta e Lima, 2005; Mortari *et al.*, 2007a).

Desde a década de 1990, a peçonha das vespas sociais vem sendo cada vez mais estudadas, porém, poucos trabalhos focalizam a peçonha de vespas sociais como fontes de moduladores das transmissões inibitórias e/ou excitatórias.

Em um estudo com a peçonha desnaturada de *Polybia ignobilis*, foi verificada a proteção contra crises epiléticas induzidas por três epiléticos químicos distintos, quando esta peçonha foi injetada via intracerebroventricularmente (i.c.v.) em ratos. Alterações na atividade espontânea também foram observadas, no teste de campo aberto. Além disso, foram constatadas interações desta peçonha desnaturada com receptores de GABA e de glutamato (Cunha *et al.*, 2005).

Ainda a respeito das vespas sociais, Pizzo e colaboradores (2000) testaram a ação da peçonha desnaturada da vespa social *Agelaia vicina* (família Vespidae) no sistema nervoso de roedores e relataram que a peçonha provoca uma diminuição na captação de GABA e de glu em sinaptossomas de córtices cerebrais de rato, em ambos os casos, de maneira não competitiva. Estudos adicionais identificaram dois peptídeos neuroativos. Um deles, o peptídeo AvTx8 (40  $\mu\text{mol}$ /rato) que atua sobre os circuitos neuronais de GABA da substância negra, modulando as respostas de medo evocadas pelo bloqueio GABAérgico do colículo superior (Oliveira *et al.*, 2005). O segundo peptídeo, AvTx7, diminui a captação de glu de maneira não-competitiva. Além disso, aumenta a liberação deste neurotransmissor, sendo este efeito inalterado na presença de bloqueadores de canais para sódio e potássio e potencializado por bloqueadores de canais para  $\text{K}^+$ , indicando que a toxina pode agir através de canais para  $\text{K}^+$  (Pizzo *et al.*, 2004).

Em um estudo, Mortari e colaboradores (2005) descreveram que a peçonha desnaturada de *Polybia occidentalis*, injetada i.c.v. em ratos, protegeu contra crises epiléticas induzidas pelos epiléticos bicuculina, picrotoxina, ácido caínico e



pentilenotetrazol. Esta peçonha também provocou algumas alterações na atividade espontânea dos ratos, avaliadas no teste de *open field* sem no entanto induzir comprometimento motor, verificado no teste de *rotarod* (Mortari *et al.*, 2005).

Baptista-Saidemberg e colaboradores (2010) demonstraram também a presença de um glicosídeo na peçonha de *Polybia paulista*. Este composto, chamado de Polybiosida, apresentou atividade epiléptica quando injetado tanto via i.c.v. quanto via intravenosa em ratos.

Devido aos resultados descritos anteriormente, neurotoxinas isoladas da peçonha de vespas sociais podem ser úteis em pesquisas na área de neurociências, tanto para melhorar a compreensão dos eventos relacionados às transmissões sinápticas, quanto para proporcionar a busca por novos fármacos para o tratamento de distúrbios neurológicos como, por exemplo, a epilepsia (Mortari *et al.*, 2007a; Beleboni *et al.*, 2004a).

### **INÍCIO DA PARTE CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**



**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**



**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**



**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**



**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**



**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**



**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**



**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**


**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**CONFIDENCIAL**

**FIM DA PARTE CONFIDENCIAL**


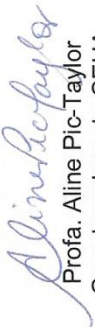
## 7. ANEXO


  
**Universidade de Brasília**  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comitê de Ética no Uso Animal

Brasília, 07 de novembro de 2011.

**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto intitulado **“PERFIL ANTICONVULSIVANTE E NEUROPROTETOR DO PEPTÍDEO OCCIDENTALINA-1202 ISOLADO DA PEÇONHA DA VESPA SOCIAL POLYBIA OCCIDENTALIS”**, UnBDOC n.º 53288/2011, sob responsabilidade da Profa. Márcia Renata Mortari, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

  
  
Prof. Aline Pic-Taylor  
Coordenadora do CEUA



**Anexo 1.** Projeto homologado pela comissão de ética em uso animal (CEUA) da UnB.

**CONFIDENCIAL**

CONFIDENCIAL

**Anexo 2.** Certificado de pureza e sequenciamento correto do peptídeo OcTx-1202(s).



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdul-latif AA, *et al.* (2004). **Power changes of EEG signals associated with muscle fatigue: The Root Mean Square analysis of EEG bands.** *Proceedings of 2004 Intelligent Sensors, Sensor Networks and Information Processing Conference*, Melbourne, 14-17.

Aramaki Y, *et al.* (1987). **Chemical structure of joro spider toxin (JSTX).** *Biomedical Reserch* 8(4), 241–245.

Argiolas A, Pisano JJ (1983). **Facilitation of phospholipase A2 activity by mastoparans, a new class of mast cell degranulating peptides from wasp venom.** *The Journal of Biological Chemistry* 258:13697–702.

Argiolas A, Pisano JJ (1984). **Isolation and characterization of two new peptides, mastoparan C and cabrolin, from venom of the european hornet, *Vespa cabro*.** *The Journal of Biological Chemistry* 59(16):101-106.

Armstrong H, *et al.* (1998). **Anticonvulsant profile of conantokin-G: a novel, broad-spectrum NMDA antagonist.** *Epilepsia* 39 (S6): 39-40.

Austin JK, *et al.* (2001). **Behavior problems in children before first recognized seizures.** *Pediatrics*, 107:115–122

Baek JH, Lee SH (2010a). **Isolation and molecular cloning of venom peptides from *Orancistrocerus drewseni* (Hymenoptera: Eumenidae).** *Toxicon* 55: 711-718.

Baek JH, Lee SH (2010b). **Differential gene expression profiles in the venom gland/sac of *Eumenes pomiformis* (Hymenoptera: Eumenidae).** *Toxicon* 55: 1147-1156.

Bai ZT, *et al.* YH (2006). **The epileptic seizures induced by BmK I, a modulator of sodium channels.** *Experimental Neurology* 197: 167–176.

Baker GA, *et al.* (1997). **Quality of life of people with epilepsy: an european study.** *Epilepsia* 38:353-62

Baker G (2002). **The Psychosocial Burden of Epilepsy.** *Epilepsia*, 43:26-30.

Baptista-Saidemberg NB, *et al.* (2010). **Protonectin(1-6): a novel chemotactic peptide from the venom of the social wasp *Agelaia pallipes pallipes*.** *Toxicon* 56: 880-889.

Barker JL, Mathers DA (1981). **GABA analogues activate channels of different duration on cultured mouse spinal neurons.** *Science* 212(4492): 358-61.

Beleboni RO *et al.* (2004a). **Spider and wasp neurotoxins: pharmacological and biochemical aspects.** *European Journal of Pharmacology* 493(1-3):1-17.

Beleboni RO *et al.* (2004b). **Pharmacological and biochemical aspects of GABAergic neurotransmission: pathological and neuropsychobiological relationships.** *Cellular and Molecular Neurobiology* 24:707–728.

Ben-Ari Y (1985). **Limbic seizure and brain damage produced by kainic acid: mechanisms and relevance to human temporal lobe epilepsy.** *Neuroscience* 14(2): 375-403.

Berg AT, *et al.* (2009). **Frequency, prognosis, and surgical treatment of MRI structural abnormalities in childhood epilepsy.** *Brain* 132:2785–2797.

Berg AT (2011). **Epilepsy, Cognition, and Behavior: The clinical picture.** *Epilepsia* 52(1): 7–12.

Bernhardt BC, *et al.* (2009). **Longitudinal and cross sectional analysis of atrophy in pharmacoresistant temporal lobe epilepsy.** *Neurology* 72:1747– 1754.

Blum DE (1998). **New Drugs for Persons With Epilepsy.** *Advances in Neurology* 76, 57-81.

Bockmann S, Paegelow I (2000). **Kinins and kinins receptors: importance for the activation of leukocytes.** *Journal of Leukocyte Biology* 68:587–92.

Boylan LS, *et al.* (2004). **Depression but not seizure frequency predicts quality of life in treatment-resistant epilepsy.** *Neurology* 62(2):258-61.

Bozas E, *et al.* (1997). **At least three neurotransmitter systems mediate a stress-induced increase in c-fos mRNA in different rat brain areas.** *Cellular Molecular Neurobiology* 17: 157-169.

Bragin A, Engel J, Jr., Wilson CL, Vizingin E, Mathern GW (1999). **Electrophysiologic analysis of a chronic seizure model after unilateral hippocampal KA injection.** *Epilepsia* 40(9):1210-21.

Brigatte P, *et al.* (2011). **Hyperalgesic and edematogenic effects of peptides isolated from the venoms of honeybee (*Apis mellifera*) and neotropical social wasps (*Polybia paulista* and *Protonectarina sylveirae*).** *Amino acids* 40:101-111.

Brodie MJ, Dichter MA (1997). **Established antiepileptic drugs.** *Seizure* 6:159-74.

Butignol CA (1992). **Observações sobre a bionomia da vespa predadora *Polista versicolor* (Olivier, 1791) (Hymenoptera: Vespidae) em Florianópolis/SC.** *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 21(2): 113-123

Cabrera MPS, *et al.* (2008) **Selectivity in the mechanism of action of antimicrobial mastoparan peptide *Polybia*-MPI.** *European Biophysics Journal* 37:879-891.

- Cairrão MAR, *et al.* (2002). **Anticonvulsant and GABA uptake inhibition properties of *P. bistriata* and *S. raptor* spider venom fractions.** *Pharmacology Biologology* 40, 472–477.
- Caplan R, *et al.* (2004). **Psychopathology and Pediatric Complex Partial Seizures: Seizure-related, Cognitive, and Linguistic Variables.** *Epilepsia* 45(10):1273-81.
- Carter JA, *et al.* (2004). **Increased prevalence of epilepsy associated with severe falciparum malaria in children.** *Epilepsia* 45:978-981.
- Cascone O, Amaral V, Ferrara P, Vita N, Guillemot JC, Díaz LE (1995). **Purification and characterization of two forms of antigen 5 from *Polybia scutellaris* venom.** *Toxicon* 33(5):659-665.
- Cavalheiro EA, *et al.* (1991). **Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures.** *Epilepsia* 32:778-82.
- CDB (2006). [www.cdb.int/doc/world/br/br-nr-04-en.pdf](http://www.cdb.int/doc/world/br/br-nr-04-en.pdf)
- Chai Zf, Bai Zt, Liu T, Pang Xy, Ji Yh (2006). **The Binding Of Bmk It2 On Mammal And Insect Sodium Channels By Surface Plasmon Resonance Assay.** *Pharmacology Reserch* 54:85-90.
- Chen W, *et al.* (2008). **Antimicrobial peptides from the venoms of *Vespa bicolor Fabricius*.** *Peptides* 29:1887-92.
- Choi DW (1988). **Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system.** *Neuron* 1:623-634
- Cobea. (1991). **Princípios Éticos Na Experimentação Animal.** Colégio Brasileiro De Experimentação Animal/Cobea, <http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>
- Costa MH (1994). **Derivação da Fonte de Sinais EEG: Correlação e Mapeamento Cerebral.** Rio de Janeiro. Tese (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Programa de Engenharia Biomédica, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Coulter DA, Huguenard JR, Prince DA (1989). **Characterization of ethosuximide reduction of low-threshold calcium currents in thalamic neurons.** *Annals of Neurology* 125: 582-93.
- Courtney KR, Etter EF (1983). **Modulated anticonvulsant block of sodium channels in nerve and muscle.** *European Journal of Pharmacology* 88(1): 1-9.
- Cunha AO, *et al.* (2005). **Anticonvulsant effects of the wasp *Polybia ignobilis* venom on chemically induced seizures and action on GABA and glutamate receptors.** *Comparative Biochemistry and Physiology: Part C Toxicology and Pharmacology* 141 (1): 50-7.

Davies JA (1995). **Mechanisms of action of antiepileptic drugs.** *Seizure* 4: 267-72.

Davies S, Heyman I, Goodman R (2003). **A population survey of mental health problems in children with epilepsy.** *Developmental Medicine and Child Neurology* 45:292–295.

De Deyn PP, D'Hooge R, Marescau B, Pei YQ (1992). **Chemical models of epilepsy with some reference to their applicability in the development of aniconvulsants.** *Epilepsy Reserch* 12: 87-110.

De Souza BM (2002). **Peptídeos policatiônicas do veneno de *Polybia paulista* (Hymenoptera, Polistinae): estrutura e função.** 2002.120 f. (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

De Souza BM, Palma, MS (2008). **Monitoring the positioning of short polycationic peptides in model lipid bilayers by combining hydrogen/deuterium exchange and electrospray ionization mass spectrometry.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1778, 12:2797-2805.

De Souza BM, Palma, MS (2009). **Peptides From Hymenoptera Venoms: Biochemistry, pharmacology and potential applications in health and biotechnology.** In: De Lima ME, Pimenta AMC, Martin-Euclaire MF, Zingali RB, Organizers. *Animal Toxins: The State of Art. Perspectives on Health and Biotechnology*; Belo Horizonte, Brazil: Editora UFMG, 273–297.

Dohtsu K *et al.*, (1993). **Isolation na sequence analysis of peptides from the venom of *Protonectarina sylveirae* (Himenoptera – Vespidae).** *Natural Toxins* 1:271-6.

Ebert U, Löscher W (1995). **Strong induction of c-fos in the piriform cortex during focal seizures from different limbic nuclei.** *Brain Reserch* 671:338-344.

Engel, Jr J (1996). **Introduction to temporal lobe epilepsy.** *Epilepsy*, 26:141-150.

Engel, J (2001). **A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology.** *Epilepsia*, 42:796:803.

Fisher, PD; Sperber EF; Moshé SL (1998). **Hippocampal sclerosis revisited.** *Brain Development* 20(8):563-73.

Fonnum, F. (1984). **Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain.** *Journal of Neurochemistry* 42:1-11.

Freitas RM (2011). **Sistemas de Neurotransmissão Envolvidos no Modelo de Epilepsia: Uma revisão de Literatura.** *Revista de Neurociência* 19:128-138.

Gallucci Neto J, Marchetti RL (2005). **Aspectos Epidemiológicos E Relevância Dos Transtornos Mentais Associados À Epilepsia / Epidemiologic Aspects And Relevance**

*Of Mental Disorders Associated With Epilepsy. Revista Brasileira de Psiquiatria* 27(4):323-328.

Gastaut HJ, Gastaut L, Goncalves Silva EGE, Fernandez Sanchez GR (1975) **“Relative frequency of different types of epilepsy: a study employing the classification of the international league against epilepsy,”** *Epilepsia* 16(3):457-461,

Geddes LA, Baker LE (1989). **Principles os Applied Biomedical Instrumentation.** Third Ed. New York: Wiley-Interscience.

Gelfuso EA et al. (2007). **Neuropharmacological profile of FrPbAll, purified from the venom of the social spider Parawixia bistriata (Araneae, Araneidae), in Wistar rats.** *Life Sciences* 80: 566–572.

Genton P (2001). **Morte prematura na epilepsia mioclônica juvenil.** *Acta Neurology Scand* 104:125-129.

Guedes FA, Galvis-Alonso OU, Leite JP (2006). **Plasticidade neuronal associada à epilepsia do lobo temporal mesial: insights a partir de estudos em humanos e em modelos animais.** *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology* 12(1 suppl.1):10-17.

Guerrini R (2006). **Epilepsy in children.** *Lancet* 367: 499-524.

Guimarães SS (1999). **Psicologia da Saúde e doenças crônicas.** In: Kerbauy RR, ed. **Comportamento e saúde: explorando alternativas.** São Paulo: ARBytes: 22-45.

Gobbi, N; Machado VLL (1984). **Material capturado eRev. bras. occidentalis.** *Annals of Society Entomological.* 13(1): 63-69.

Gobbi, N (1984). **Contribuição ao estudo do ciclo básico de espécies do gênero *Polybia*, com especial referência a *Polybia (Myrapetra) paulista* (Ihering, 1896) e *Polybia occidentalis occidentalis* (Olivier, 1791) (Hymenoptera, Vespidae).** *Revista Brasileira de Entomologia* 28(4):451-457.

Goldensohn ES (1997). Historical Perspective, em: Engel Jr J, Pedley TA - **Epilepsy: a Comprehensive Textbook,** Philadelphia, Lippincott-Raven,15-16.

Goudsmit J, Van der Waals FW (1983). Endemic epilepsy in an isolated region of Liberia. *Lancet* 528 –529.

Grishin EV, et al. (1986). **Structure-functional characterization of argiopine- an ion channel blocker from the venom of spider *Argiope lobata*.** *Bioorg Khim* 12:1121-1124.

Han XJ, et al. (2008) **Involvement of calcineurin in glutamate-induced mitochondrial dynamics in neurons.** *Neuroscience Reserch* 60:114-119

Hancock R, Diamond G (2000). **The role of cationic antimicrobial peptides in host defenses.** *TIMS, Providence* 8:402-410.

Harvey JA, McMaster SE, Romano AG (1993). **Methylenedioxyamphetamine: neurotoxic effects on serotonergic projections to brainstem nuclei in the rat.** *Brain Research* 619(1-2):1-14.

Harvey BD, Sloviter RS (2005). **Hippocampal Granule Cell Activity and c-Fos Expression during Spontaneous Seizures in Awake, Chronically Epileptic, Pilocarpine-Treated Rats: Implications for Hippocampal Epileptogenesis.** *The Journal of Comparative Neurology* 488:442-463

Hellier JL, *et al.* (1998). **Recurrent spontaneous motor seizures after repeated low-dose systemic treatment with kainate: assessment of a rat model of temporal lobe epilepsy.** *Epilepsy Res.* 31: 73-84.

Hermann B, *et al.* (2006). **Children with new-onset epilepsy: neuropsychological status and brain structure.** *Brain* 129:2609-2619.

Hermann B, *et al.* (2007). **The frequency, complications and aetiology of ADHD in new onset paediatric epilepsy.** *Brain* 130:3135-3148.

Higashijima T, Uzu S, Nakajima T, Ross EM (1988). **Mastoparan a peptide toxin from wasp venom, mimics receptors by activating GTP-binding regulatory proteins (G proteins).** *The Journal of Biological Chemistry* 263:6491-4.

Higashima M, Sawada S, Yamamoto C (1990). **Applicability of Pascal distribution to quantal analysis for non-stationary release of neurotransmitter.** *Neuroscience Letters* 31;115(2-3):231-6.

Himi T, Saito H, Kawai N, Nakajima, T (1990). **Spider Toxin (Jstx-3) Inhibits The Convulsions Induced By Glutamate Agonists.** *Journal of Neural Transmission [Gen Sect]* 80(2):95-104.

Hirai Y, Yasuhara T, Yoshida H, Nakajima T (1979a). **A new mast cell degranulation peptide "mastoparan" in the venom of *Vespula lewisii*.** *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 27(8):1942-1944.

Hirai Y, *et al.* (1979b). **A new mast cell degranulating peptide homologous to mastoparan in the venom of Japanese hornet (*Vespa xanthoptera*).** *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 27:1945-1946.

Ho CH; Hwang LL (1991). **Local edema induced by the black-bellied hornet (*Vespa basalis*) venom and its components.** *Toxicon* 29(8):1033-42.

Ho CL, Chen WC, Lin YL (1998). **Structures and biological activities of new wasp venom peptides isolated from the black-bellied hornet (*Vespa basalis*) venom.** *Toxicon* 36(4):609-17.

Hoffman DR (1993). **Allergens in Hymenoptera venom. XXV: The amino acid sequences of antigen 5 molecules and the structural basis of antigenic cross-reactivity.** *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 92(5):707-716.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - Censo Demográfico. Sinopse preliminar, 2003. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/ibge/estatistica/populacao/censo2000/default.shtm>>

Jackson H, Parks TN (1990). **Anticonvulsivant Action Of An Arylamine-Containing Fraction From Agelenopsis Spider Venom.** *Brain Reserch* 526(2):338-341.

Jane DE, Lodge D, Collingridge GL (2009). **Kainate receptors: pharmacology, function and therapeutical potential.** *Neuropharmacology* 56:90-113.

Jilek WG, Jilek-Aall LM (1970). **The problem of epilepsy in a rural Tanzanian tribe.** *African Journal of Medicine and Medical Sciences* 1:305-307.

Jilek-Aall L, Jilek W, Miller JR (1979). **Clinical and genetic aspects of seizure disorders prevalent in an isolated African population.** *Epilepsia* 613- 621.

Jimenez EC, *et al.* (2002). **Conantokin-L, a new NMDA receptor antagonist: determinants for anticonvulsant potency.** *Epilepsy Research* 51:73- 80

Judy CG, Taniura SH, Yoneda Y (2006). **Histone modifications in kainate-induced status epilepticus.** *European Journal of Neuroscience* 23:1269-1282.

Kwan P, Sills GJ, Brodie MJ (2001) **The mechanisms of action of commonly used antiepileptic drugs.** *Pharmacology and Therapeutics* 90 (1):21-34.

Kishimura H *et al.* (1976). **Vespakinin-M, a novel bradikynin analogue containing hydroxyl-proline, in the venom of *Vespa mandarinia* Smith.** *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 24: 2896-2897.

Kolarich D, *et al.* (2005) **The N-glycans of yellow jacket venom hyaluronidases and the protein sequence of its major isoform in *Vespula vulgaris*.** *FEBS Journal* 272 (20):5182-5190.

Konno K *et al.* (1998). **Isolations and structure of pompilodoxins, novel peptide neurotoxins in solitary wasp venoms.** *Biochemical and Biophysical Research Communications* 250:612-616.

Konno K *et al.* (2000). **Structure and biological activities of eumenine mastoparan – AF (EMP-AF), a new mast cell degranulation peptide in venom of solitary wasp (*Antenynchium flavomarginatum micado*).** *Toxicon* 38:505-1515.

Konno K, *et al.* (2002). **Identification of bradykinins in solitary wasp venoms.** *Toxicon* 40:309-312.

Konno K, *et al.* (2006). **Eumenitin, a novel antimicrobial peptide from the venom of the solitary eumenine wasp *Eumenes rubronotatus*.** *Peptides*, 27, 11: 2624-2631.

Kotagal P, Yardi N (2008). **The relationship between sleep and epilepsy.** *Seminars in Pediatric Neurology* 15(2):42-9.

Kwan P, Sills GJ, Brodie MJ (2001) **The mechanisms of action of commonly used antiepileptic drugs.** *Pharmacology and Therapeutics* 90 (1): 21-34.

LaRoche SM, Helmers SL (2004a). **The new antiepileptic drugs: scientific review.** *JAMA* 291 (5): 605-14.

Lawson FR *et al.* (1961). **Studies of an integrated control system for hornworms on tobacco.** *Journal of Economic Entomology* 54(1): 93 - 97.

Leite JP, Garcia-Cairasco N, Cavalheiro EA (2002). **New insights from the use of pilocarpine and kainate models.** *Epilepsy Research* 50:93-103.

Lee MC *et al.* (2001). **“Pathogenic significance of neuronal migration disorders in temporal lobe epilepsy,”** *Human Pathology* 32(6): 643-648.

Li ML, Liao RW, Qiu JW, Wang ZJ, Wu TM (2000). **Antimicrobial activity of synthetic all-D mastoparan M.** *International Journal of Antimicrobial Agents* 13:203-8.

Löscher W, Schmidt D (1998). **Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations.** *Epilepsy Research* 3(2):145-181.

Löscher W (1998). **New visions in the pharmacology of anticonvulsion.** *European Journal of Pharmacology* 342:1-13.

Löscher W, Ebert U. (1996). **The role of the piriform cortex in kindling.** *Progress in Neurobiology* 50:427-481.

Löscher W (2002). **Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy.** *Epilepsy Research* 50: 105-123.

Löscher, W. (2012). **Strategies for antiepileptogenesis: Antiepileptic drugs versus novel approaches evaluated in post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy.** In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV, editors. *Source: Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* [Internet]. 4th edition. Bethesda (MD): *National Center for Biotechnology Information* (US).

MacDonald RL, Kelly KM (1995). **Antiepileptic drug mechanisms of action.** *Epilepsia* 36(Suppl 2):S2-12.



Macdonald RL, Rogers CJ, Twyman RE (1989). **Barbiturate regulation of kinetic properties of the GABA<sub>A</sub> receptor channel of mouse spinal neurones in culture.** *Journal of Physiology* 417: 483-500.

Machado VLL (1977). **Estudos Biológicos de *Polybia occidentalis occidentalis* (Olivier, 1791) (Hymenoptera -Vespidae).** *Anais da Sociedade de Entomologia* 6(1):3-6.

Machado VLL, Gobbi N, Simões D (1987). **Material coletado e utilizado na alimentação de *Stelopolybia pallipes* (Olivier, 1791) (Hymenoptera - Vespidae).** *Anais da Sociedade de Entomologia* 16(1): 73-79.

Manford M, Hart YMJ, Sander W, Shorvon SD (1992). **“National general practice study of epilepsy (NGPSE): partial seizure patterns in a general population,”** *Neurology* 42(10):1911-1917.

Maranhão MVM, Gomes EA, Carvalho PE (2011). **Epilepsia e anestesia.** *Revista Brasileira de Anestesiologia* 61(2):232-254.

Mathern GW, *et al.* (1996). **The pathogenic and progressive features of chronic human hippocampal epilepsy.** *Epilepsy Reserch* 26:151-61.

Matuja WB, *et al.* (2001) **Risk factors for epilepsy in a rural area in Tanzania: a community-based case-control study.** *Neuroepidemiology* 20:242-247.

Mayo KH, *et al* (2000). **Structure-function relationships in novel peptide dodecamers with broad-spectrum bactericidal and endotoxin-neutralizing activities.** *Biochemical Journal* 349: 717-728.

McIntyre DC, Racine RJ (1986). **Kindling mechanisms: Current progress on an experimental epilepsy model.** *Progress in Neurobiology* 27:1-12.

McNamara JO (1999). **Emerging insights into the genesis of epilepsy.** *Nature* 399:A15-A22.

McNamara JO, Huang YZ, Leonard AS (2006). **Molecular signaling mechanisms underlying epileptogenesis.** *Science STKE*, 2006(356):12.

Meldrum, B. (1997). **Identification and preclinical testing of novel antiepileptic compounds.** *Epilepsia* 38(suppl.9):s7-s15.

Mellor IR, Usherwood PNR (2004). **Targeting ionotropic receptors with polyamine containing toxins.** *Toxicon* 43:493-508.

Mendes MA, Souza BM, Marques MR, Palma MS (2004). **Structural and biological characterization of two novel peptides from the venom of the neotropical social wasp *Agelaia pallipes pallipes*.** *Toxicon* 44:67-74.

Mendes MA, Souza BM, Palma MS (2005) **Structural and biological characterization of three novel mastoparan peptides from the venom of the neotropical social wasp *Protopolybia exigua* (Saussure).** *Toxicon* 45(1):101-106.

Mendes MA, Palma MS (2006). **Two new bradykinin-related peptides from the venom of the social wasp *Protopolybia exigua* (Saussure).** *Peptides* 27:2632-2639.

Monteiro MC, Romão PRT, Soares AM (2009). **Pharmacological Perspectives of Wasp Venom.** *Protein and Peptide Letters* 16:944-952.

Moreira SRG (2004). **Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnóstico e tratamento.** *Mental* 2(3):107-122.

Moreno RA, et al. (2004). **Anticonvulsivantes e antipsicóticos no tratamento do transtorno bipolar.** *Revista Brasileira de Psiquiatria* 26(supl.3).

Morgan JI, Cohen DR, Hempstead JL, Curran T (1987). **Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure.** *Science* 237: 192-197.

Morimoto K, Fahnstock M, Racine R (2004). **Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain.** *Progress in Neurobiology* 73(1):1-60

Mortari MR et al. (2005) **Anticonvulsant and behavioural effects of the denatured venom of the social wasp *Polybia occidentalis* (Polistinae, Vespidae).** *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* 97(5):289-95.

Mortari MR, Cunha AO, Ferreira LB, dos Santos WF (2007). **Neurotoxins from invertebrates as anticonvulsants: from basic research to therapeutic application.** *Pharmacology Therapeutic* 114(2):171-83.

Mortari MR et al. (2007b). **Inhibition of acute nociceptive responses in rats after i.c.v. injection of Thr<sup>6</sup>-bradykinin, isolated from the venom of the social wasp, *Polybia occidentalis*.** *British Journal of Pharmacology* 151(6):860-869.

Mortari, MR (2007). **Atividade neurobiológica e caracterização química da peçonha da vespa social *Polybia occidentalis* (Hymenoptera, Vespidae): identificação de peptídeos antinociceptivos e anticonvulsivantes.** Tese, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

Murata K et al. (2006). **Novel biologically active peptides from the venom of *Polistes rothneyi iwatai*.** *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29(12):2493-2497.

Murata K et al. (2009). **Novel mastoparan and protonectin analogs isolated from a solitary wasp, *Orancistrocerus drewseni drewseni*.** *Amino Acids* 37:389-394.

Nadler JV (1981) Minireview. **Kainic acid as a tool for the study of temporal lobe epilepsy.** *Life Science* 29:2031-2042.

Nagy I, *et al* (2007). **Taking the sting out of pain.** *British Journal of Pharmacology* 151(6):721-722.

Nagashima K, *et al.* (1990). **Role of lysine residue at 7th position of wasp chemotactic peptides.** *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 168:844-849.

Nakajima T, *et al.* (1985). **Wasp venom peptides; wasp kinins, new cytotropic peptide families and their physico-chemical properties.** *Peptides.* (suppl 3):425-30.

Nakajima T, *et al.* (1986). **Amphiphilic peptides in wasp venom.** *Biopolymers* 25:115-21.

Nashef L, Hindocha N, Makoff A (2007). **Risk factors for sudden death in epilepsy (SUDEP).** *Epilepsia* 48:859-871.

Nazimov IV, Snezhkova LG, Miroshnikov AT (1980). **Structure and properties of mastoparan II. Na oligopeptide from the venom of *Vespa orientalis* hornet.** *Proc. 3d Symp. Chem. Pept. Prot.: USSR.*

Negrete-Díaz, *et al.* (2012). **Kainate receptor-mediated depression of glutamatergic transmission involving protein kinase A in the lateral amygdala,** *Journal of Neurochemical* 121(1):36-43.

Nencioni AL, Lebrun I, Dorce VA (2004). **A microdialysis study of glutamate concentration in the hippocampus of rats after TsTX toxin injection and blockade of toxin effects by glutamate receptor antagonists.** *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 74(2):455-63.

Neuman RJ, *et al.* (1995). **Genetic analysis of kifafa, a complex familial seizure disorder.** *The American Journal of Human Genetics* 57:902-910.

Newell E, *et al.* (1997). **Prevalence of cysticercosis in epileptics and members of their families in Burundi.** *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 91:389-391.

Nicoletti A, *et al.* (2002a). **Epilepsy and neurocysticercosis in rural Bolivia: a population-based survey.** *Epilepsia* 46:1127-1132.

Nicoletti A, *et al.* (2002b). **Epilepsy, cysticercosis, and toxocariasis: a population-based case-control study in rural Bolivia.** *Neurology* 58:1256-1261.

Nicoletti A, *et al.* (2007). **Epilepsy and toxocariasis: a case-control study in Burundi.** *Epilepsia* 48:894–899.

Noronha ALA, *et al.* (2007). **Prevalence and pattern of epilepsy treatment in different social-economic classes in Brazil.** *Epilepsia* 48(5):880-5.

O,donnell S, Jeanne RL (1990). **Forager specialization and the control of nest repair in *Polybia occidentalis* Olivier (Hymenoptera: Vespidae).** *Behavioral Ecology and Sociobiology* 27:359-36

Olivera BM (1996). **Conus venom peptides, receptor and ion channel targets, and drug design: 50 million years of neuropharmacology.** *Molecular Biology of the Cell* 8(11):2101-9.

Oliveira MR, Palma MS (1998). **Polybitoxins: a group of phospholipases A2 from the venom of the neotropical social wasp paulistinha (*Polybia paulista*).** *Toxicon* 36(1):189-199.

Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P (2003). **Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link.** *Nature Review Molecular Cell Biology* 4:552-565.

Ottman R (1989). **“Genetics of the partial epilepsies: a review”.** *Epilepsia* 30(1):107-111.

Pacia SV, et al. (1996). **Clinical features of neocortical temporal lobe epilepsy.** *Annals of Neurology* 40:724-30.

Panayiotopoulos CP, Tahan R, Obeid T (1991). **Epilepsia mioclônica juvenil: fatores de erro envolvidos no diagnóstico e tratamento.** *Epilepsia* 32:672-676.

Park NG, Yamato Y, Lee S, Sugihara G (1995). **Interaction of mastoparan-B from venom of a hornet in Tawian with phospholipid bilayers and its antimicrobial activity.** *Biopolymers* 36:793-801.

Pal S, Sombati S, Limbrick DD Jr, DeLorenzo RJ (1999). **In vitro status epilepticus causes sustained elevation of intracellular calcium levels in hippocampal neurons.** *Brain Reserch* 851:20-31

Palma MS (2006). **Insect venom peptides.** In: **Kastin A, editor. Handbook of biologically active peptides.** San Diego: Academic Press; 409-17.

Paxinos G, Watson C (2007). **The rat brain in stereotaxic coordinates.** Academic Press, Inc, Sidney.

Pedroviejo V, Ayuso M, Jiménez A (2009). **Tratamiento anestésico del paciente adulto epiléptico no neuroquirúrgico.** *Revista Espanhõla Anestesiologia y Reanimación.* 56:425-435.

Picolo G, et al. (2010). **Bradykinin-related peptides in the venom of the solitary wasp *Cyphononyx fulvognathus*.** *Biochemical Pharmacology* 79(3):478-86.

Piek T, et al. (1990). **Threonine6-bradykinin in the venom of the wasp *Colpa interrupta* (F.) presynaptically blocks nicotinic synaptic transmission in the insect CNS.** *Comparative Biochemistry Physiology C* 96(1):157-62.

- Piek T (1991). **Neurotoxic kinins from wasp and ant venoms.** *Toxicon* 1991;29:139-49.
- Pimenta AMC, Lima ME (2005). **Small peptides, big world: biotechnological potential in neglected bioactive peptides from arthropod venoms.** *Journal of Peptide Science* 11 (11): 670-6.
- Pinel JP, Rovner LI (1978). **Experimental epileptogenesis: Kindling-induced epilepsy in rats.** *Experimental Neurology* 58:190-202.
- Pirpignani ML, Rivera E, Hellman U, Bonino MJB (2002). **Structural and immunological aspects of *Polybia scutellaris* Antigen 5.** *Archives of Biochemistry and Biophysics* 407: 224-230.
- Pisano JJ (1968). **Vasoactive peptides in venoms.** *FASEB* 27:58-62.
- Prezoto E, Machado VLL (1999). **Ação de *Polistes (Aphanilopterus) simillimus* Zikán (Hymenoptera, Vespidae) no controle de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera, Noctuidae).** *Revista brasileira de Zoologia* 16(3):841-850.
- Preux PM (2003). **Cysticercosis as a major risk factor for epilepsy in Burundi, East Africa.** *Epilepsia* 44:950-955.
- Preux PM, Druet-Cabanc M (2005). **Epidemiology and aetiology of epilepsy in sub-Saharan Africa.** *Lancet Neurology* 4:21-31.
- Popovici T, *et al.*, (1990). **Effects of kainic acid-induced seizures and ischemia on c-fos-like proteins in rat brain.** *Brain Reserch* 536:183-194.
- Porter RJ (1997). **Classification of Epileptic Seizures and Epileptic Syndromes, em: Engel Jr J, Pedley TA - Epilepsy: a Comprehensive Textbook.** Philadelphia, Lippincott-Raven, 47-57.
- Porto LA, *et al.* (2007). **O papel dos canais iônicos nas epilepsias e considerações sobre as drogas antiepilépticas – uma breve revisão** *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology* 13(4).
- Pozas E, *et al.* (1997). **Kainic Acid-Induced Excitotoxicity Is Associated with a Complex c-Fos and c-Jun Response Which Does Not Preclude Either Cell Death or Survival.** *Journal of Neurobiology.* 33(3):232-46.
- Quintans JL, *et al.* (2007). **Modelos animais para avaliação de drogas anticonvulsivantes: uma revisão.** *Revista Brasileira Farmacologia* 88(4):163-166.
- Rabb RL, Lawson FR (1957). **Some factors influencing the predation of *Polistes* Wasp on the tobacco hornworm,** *Journal of Economic Entomology* 50(6):778-784.
- Racine RJ (1972) **Modification of seizure activity by electrical stimulation. II: Motor seizure.** *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 32(3):281-94.
- Racine RJ (1978). **Kindling: The first Decade.** *Neurosurgery* 3:234–252

Raedt R (2007). **Cell Therapy for Temporal Lobe Epilepsy: Feasibility of Neurotransplantation versus Modulation of Endogenous Neurogenesis** (para revisão).

Rash LD, Hodgson WC (2002). **Pharmacology and biochemistry of spider venoms.** *Toxicon* 40(3):225-254.

Raza M, et al. (2001). **Anticonvulsant Activities Of Ethanolic Extract And Aqueous Fraction Isolated From *Delphinium Denudatum*.** *Journal of Ethnopharmacology* 78:73-78.

Ren WHP (2009). **Anesthetic management of epileptic pediatric patients.** *Internacional Anesthesiology Clinics* 47:101-116.

Rho JM, Donevan SD, Rogawski MA (1996). **Direct activation of GABA<sub>A</sub> receptors by barbiturates in cultured rat hippocampal neurons.** *Journal of Physiology* 497:509-22.

Ribeiro SP (2004). **Structural and functional characterization of N-terminally blocked peptides isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*.** *Peptides* 25(12):2069-2078.

Ribeiro SP, et al. (2004) **Structural and functional characterization of N-terminally blocked peptides isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*.** *Peptides* 25(12):2069-2078.

Richards, OW (1978). **The social wasps of the Americas (excluding the Vespinae).** London, British Museum (Natural History). 580p.

Richards OW, Richards MJ (1951). **Observations on the social wasps of South America (Hymenoptera, Vespidae).** *Transactions of the American Entomological Society* 102:1-170

Rivers DB, Rocco MM, Frayha AR (2002). **Venom from the ectoparasitic wasp *Nasonia vitripennis* increases Na<sup>+</sup> influx and activates phospholipase C and phospholipase A2 dependent signal transduction pathways in cultured insect cells.** *Toxicon*, 40:9–21.

Rocha SM, Beraldo WT, Rosenfeld G (1949). **Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor release from plasma globulin by snake venoms and by trypsin.** *American Journal of Physiology* 156: 261-273.

Rafnsson V, Olafsson E, Hauser WA, Gudmundsson G (2001). **Cause-specific mortality in adults with unprovoked seizures. A population-based incidence cohort study.** *Neuroepidemiology* 20(4):232-6.

Saidemberg DM, et al. (2010). **Polybioside, a Neuroactive Compound from the Venom of the Social Wasp *Polybia paulista*.** *Journal of Natural Products* 73(4):527-531.

Sander JW (2003). **The epidemiology of epilepsy revisited.** *Current Opinion in Neurology* 16:165-70.

Sandoval MR, Lebrun I (2003). **TsTx toxin isolated from *Tityus serrulatus* scorpion venom induces spontaneous recurrent seizures and mossy fiber sprouting.** *Epilepsia* 44: 904–911.

Santos GM, *et al.* (1997) . **Capacidade de vôo de *Polybia occidentalis occidentalis* (Olivier, 1791) (HymenopteraVespidae).** Resumos. XI Encontro de Zoologia do Nordeste, pág. 36.

Santos LD, *et al.* (2007). **Purification, sequencing and structural characterization of the phospholipase A1 from the venom of the social wasp *Polybia paulista* (Hymenoptera, Vespidae).** *Toxicon* 50:923-937.

Santos LD, *et al.* (2010). **Profiling the Proteome of the Venom from the Social Wasp *Polybia paulista*: A Clue to Understand the Envenoming Mechanism.** *Journal of proteome research* 9:3867-3877.

Saygi S, *et al.* (1994). **Differentiation of temporal lobe ictal behavior associated with hippocampal sclerosis and tumors of temporal lobe.** *Epilepsia* 35:737-42.

Scorza FA, Cavalheiro EA (2004). **Epilepsias: aspectos sociais e psicológicos.** *Revista Cult, R IMAE* 5(11):48-53.

Seidenberg M, Pulsipher DT, Hermann B (2009). **Association of epilepsy and comorbid conditions.** *Future Neurology* 17:478–482.

Semah F, *et al.* (1996). **Association of unilateral motor automatisms and dystonic posturing in medial vs neocortical temporal lobe epilepsy.** *Epilepsia* 37(5):31.

Schumacher TB, *et al.* (1998). **Effects of phenytoin, carbamazepine, and gabapentin on calcium channels in hippocampal granule cells from patients with temporal lobe epilepsy.** *Epilepsia.* 39(4):355-63.

Shin HJ, *et al.* (2012). **Effect of the calcineurin inhibitor FK506 on K<sup>+</sup>–Cl<sup>-</sup> cotransporter 2 expression in the mouse hippocampus after kainic acid-induced status epilepticus.** *Journal of Neural Transmission* 119:669-677.

Sills GJ, Brodie, MJ (2001). **Update on the mechanisms of action of antiepileptic drugs.** *Epileptic Disorders* 3(4)165-72.

Sloviter RS (1991). **Permanently altered hippocampal structure excitability, and inhibition after experimental sataus epilepticus in the rat: the “dormant basket cell” hypothesis and its possible relevance to temporal lobe epilepsy.** *Hippocampus* 1:41-66.

Soldatova L, Kochoumian L, King TP (1993). **Sequence similarity of a hornet (*D. maculata*) venom allergen phospholipase A1 with mammalian lipases.** *FEBS Lett* 320 (2):145-149.

Spradbery JP (1973). **Wasps. An account of the biology and natural history of social and solitary wasps.** Seattle, University Washington Press, 408.

Song DL, Chang GD, Ho CL, Chang CH (1993). **Structural requirements of mastoparan for activation of membrane-bound guanylate cyclase.** *European Journal of Pharmacology* 247:283–8.

Souza BM *et al.* (2004). **Mass spectrometric characterization of two novel inflammatory peptides from the venom of the social wasp *Polybia paulista*.** *Rapid Commun Mass Spectrom* 18:1095-1102.

Souza BM *et al.* (2005). **Structural and functional characterization of two novel peptide toxins isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*.** *Peptides* 26(11):2157-2164.

Souza BM *et al.* (2009). **Characterization of two novel polyfunctional mastoparan peptides from the venom of the social wasp *Polybia paulista*.** *Peptides* 30:1387-1395.

Sperk G (1994). **Kainic acid seizures in the rat.** *Progress in Neurobiology* 42:1-32.

Stafstrom CE, Thompson JL, Holmes GL (1992) **Kainic acid seizures in the developing brain: status epilepticus and spontaneous recurrent seizures.** *Brain Reserch* 65:227–236.

Steinlen OK (2004). *Genetic mechanisms that underlie epilepsy.* *Nature Reviews Neuroscience* 5(5):400-8.

Stephen LJ, Kwan P, Brodie MJ (2001). **Does the cause of localisation-related epilepsy influence the response to antiepileptic drug treatment?** *Epilepsia* 42:357-62.

Stoelting RK (2006) - **Antiepileptic Drugs, em: Stoelting RK - Pharmacology and Physiology in Anesthetic Practice**, 4th Ed, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 569-579.

Sutula T, Cascino G, Cavazos J, Parada I, Ramirez L (1989). **Mossy Fiber Synaptic Reorganization in the Epileptic Human Temporal-Lobe.** *Annals of Neurology* 26(3):321-30.

Sztriha L, Joo F, Szerdahelyi P (1985). **Accumulation of calcium in the rat hippocampus during kainic acid seizures.** *Brain Reserch* 360:51–57

Szyndler J, Wierzba-Bobrowicz T, Rock P, *et al.* (2002). **Pentylene-tetrazol-kindling of seizures selectively decreases citalopram binding in the CA-3 area of the hippocampus.** *Neuroscience Letter* 335:49-53.



Tassi LA, et al. (2009). **“Temporal lobe epilepsy: neuropathological and clinical correlations in 243 surgically treated patients,”** *Epileptic Disorders* 11(4):281-292.

Tauk DL, Nadler JV (1985). **Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats.** *Journal of Neuroscience* 5(4):1016-22.

Taylor J, et al (2010). **Patients with epilepsy: Cognitively compromised before start of antiepileptic drug treatment?** *Epilepsia* 51(1):48-56.

Theakston RD, Kamiguti AS (2002). **A list of animal toxins and some other natural products with biological activity** *Toxicon* 40(5):579-651.

Toki T, Yasuhara T, Nakajima T (1988). **Isolation and sequential analysis of peptides on the venom sac of *Parapolybia indica*.** *Japanese Journal Saint Zoology* 39(2):105-11.

Tunnick G (1996). **Basis of the antiseizure action of phenytoin.** *General Pharmacology* 27(7):1091-7.

Turillazzi S, et al. (2006). **Dominulin A and B: two new antibacterial peptides identified on the cuticle and in the venom of the social paper wasp *Polistes dominulus* using MALDI-TOF, MALDI-TOF/TOF, and ESI-ion trap.** *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 17:376-83.

Turski L, Niemann W, Stephens DN (1990). **Differential effects of antiepileptic drugs and beta-carbolines on seizures induced by excitatory amino acids.** *Neuroscience* 39(3):799-807.

Twyman RE, Rogers CJ, Macdonald RL (1989). **Differential regulation of gamma-aminobutyric acid receptor channels by diazepam and phenobarbital.** *Annals of Neurology* 25: 213-20

Ueno Y, et al. (1977). **On the Kinin-like substances in the venom of paper wasp.** *Proc. 97th Annals Meeting Pharmaceutical Society Japan* III, 37.

Udenfriend S, Nakajima T, Pisano JJ (1967). **Structure of the major kinin in wasp (*Polistes*) venom.** *Proc. 7th International Congress Biochemistry* VIII (4):501.

Valencia I, Pfeifer H, Thiele EA (2002). **General anesthesia and the ketogenic diet: clinical experience in nine patients.** *Epilepsia* 43:525-529.

Velisek L, et al. (1992). **Action of antiepileptic drugs against kainic acid-induced seizures and automatisms during ontogenesis in rats.** *Epilepsia* 33(6):987-93.

Verity CM, Hosking G, Easter DJ (1995). **A Multicentre Comparative Trial Of Sodium Valproate And Carbamazepine In Paediatric Epilepsy. The Paediatric Epilepsy Collaborative Group.** *Developmental Medicine and Child Neurology* 37:97-108.

Versteeg AC, *et al.* (2003). **Seizure disorders among relatives of Kenyan children with severe falciparum malaria.** *Tropical Medicine and International Health* 8:12-16.

Vincent P, Mulle C (2009) **Kainate receptors in epilepsy and excitotoxicity.** *Neuroscience* 158:309- 323.

Villetti G, *et al* (2001). **Preclinical Evaluation Of Chf3381 As A Novel Antiepileptic Agent.** *Neuropharmacology* 40: 866-878

Walczak TS, *et al* (2001). **Incidence and risk factors in sudden unexpected death in epilepsy: a prospective cohort study.** *Neurology* 56:519–525.

Wang GJ, Thayer SA (1996) **Sequestration of glutamate-induced Ca<sup>2+</sup> loads by mitochondria in cultured rat hippocampal neurons.** *Journal of Neurophysiology* 76:1611–1621

Wang QS, *et al* (2005). **“Kainic acid-mediated excitotoxicity as a model for neurodegeneration,”** *Molecular Neurobiology* 31(1–3):3-16.

Watanabe M, Yasuhara T, Nakajima T.(1976). **Ocurrence of thr6-bradikinin and its analogous peptide in the venom of Polistes Rothneyi iwatai.** *Animal, Plant and Microbial Toxins*, II, 105-112.

Watkins JC (2000). **L-glutamate as a central neurotransmitter: looking back.** *Biochemical Society Transactions* 28(4):297-309.

White HS (1999). **Comparative anticonvulsant and mechanistic profile of established and newer antiepileptic drugs.** *Epilepsia* 40 (suppl. 5):S2-S10.

White HS, *et al* (2000). **In vitro and in vivo characterization of conantokin-R, a selective NMDA receptor antagonist isolated from the venom of the fish-hunting snail Conus radiatus.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 292(1):425-432.

WHO, World Health Organization (2001). **Epilepsy: aetiology, epidemiology and prognosis.**

WHO, World Health Organization (2004). **Epilepsy in the WHO Africa Region: Bridging the Gap: The Global Campaign Against Epilepsy: “Out of the Shadows.”** Geneva: WHO; 2004.

WHO, World Health Organization (2009). **Epilepsy.** Fact sheet 999.

Wiebe S (2000). **“Epidemiology of temporal lobe epilepsy”.** *Journal of Neurological Sciences* 27(1):S6–S10.

Wiegartz P *et al* (1999). **Co-morbid psychiatric disorder in chronic epilepsy: recognition and etiology of depression.** *Neurology* 53(5 Suppl 2):S3-8.

Wieser HG (2004). "ILAE commission report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis," *Epilepsia* 45(6):695-714.

Yacubian EMT (2002). Tratamento da epilepsia na infância. *Jornal de Pediatria* 78(suppl.1) (para revisão)

Yasuhara T, Yoshida H, Nakajima T (1977). Chemical investigation of the hornet (*Vespa xanthoptera Cameron*) venom. The structure of a new bradkinin analogu "Vespakinin-X". *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 25:935-941.

Yamashita H, et al. (2004a). Effects of 2-[N-(4-chlorophenyl)-N-methylamino]-4H-pyrido[3.2-e]-1,3-thiazin-4-one (YM928), an orally active alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor antagonist, in models of generalized epileptic seizure in mice and rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 308(1):127-33.

Yamashita H, et al. (2004b). Effect of YM928, a novel AMPA receptor antagonist, on seizures in mice and kainate-induced seizures in rats. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology* 370(2): 99-105.

Yasuhara T, Nakajima t, Erspamer V (1983). Isolation and sequence analysis of peptides in the picomolar level. In: SAKAKIBARA, S. (Ed.), *Osaka: Protein Research Foundation*, 213-218.

Yasuhara T, et al. (1987). Structure and activity of chemotactic peptide from the venom sac of vespinae. In: Munekata E, editor. Peptide chemistry. *Protein Research Foundation*; 185-90.

Zhao A, et al. (2008). Anticonvulsant effect of BmK IT2, a sodium channel-specific neurotoxin, in rat models of epilepsy. *British Journal of Pharmacology* 154:1116-1124.

Zheng W, Zhang H, Luo Q, Zhu J (2011). Kainic Acid-Induced Neurodegenerative Model: Potentials and Limitations. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2011(2011):1-10.

Zhou XH et al. (1989). Purification and N-terminal partial sequence of anti-epilepsy peptide from venom of the scorpion *Buthus martensii* Karsch. *Biochemical Journal* 257(2):509-517.

Zimmermann M. (1983). Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 16(2):109-10.