

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC

UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - UNASAU

CURSO DE FARMÁCIA

RAFAEL DABOIT DA SILVA

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM RATOS WISTAR ADULTOS
SUBMETIDOS À MENINGITE PNEUMOCÓCICA COM TRATAMENTO
ADJUVANTE COM CANABIDIOL**

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2011

UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC

UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - UNASAU

CURSO DE FARMÁCIA

RAFAEL DABOIT DA SILVA

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM RATOS WISTAR ADULTOS
SUBMETIDOS À MENINGITE PNEUMOCÓCICA COM TRATAMENTO
ADJUVANTE COM CANABIDIOL**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado para obtenção do grau de Farmacêutico Generalista no Curso de Farmácia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC.

Orientadora: Prof^a Dra. Tatiana Barichello

CRICIÚMA, NOVEMBRO DE 2011

RAFAEL DABOIT DA SILVA

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL EM RATOS WISTAR ADULTOS
SUBMETIDOS À MENINGITE PNEUMOCÓCICA COM TRATAMENTO
ADJUVANTE COM CANABIDIOL**

Trabalho de Conclusão de Curso, aprovado pela Banca Examinadora para obtenção do Grau de Farmacêutico Generalista, no Curso de Farmácia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, com Linha de Pesquisa em Microbiologia Clínica e Experimental.

CRICIÚMA, 22 DE NOVEMBRO DE 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Tatiana Barichello - Doutora - (UNESC) - Orientadora

Prof. Eduardo João Agnes - Mestre - (UNESC)

Prof. Paulo Roberto Barbosa - Mestre - (UNESC)

Aos meus pais que sempre me apoiaram e me incentivaram para que eu cumprisse mais essa etapa de minha vida, sempre com muita calma e paciência. Obrigado meus velhos...

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu força, coragem suficiente e me iluminou para realizar essa etapa com muita persistência para que pudesse concluir mais um sonho em minha vida.

Agradeço em especial a minha orientadora e professora Tatiana Barichello, pelo tempo disponibilizado com muito carinho e dedicação, por sua humildade, paciência, comprometimento, e por me delegar responsabilidades confiando em mim. A ela o meu muito obrigado.

Ele me ensinava e me dizia: Apegue-se às minhas palavras de todo o coração; obedeça aos meus mandamentos, e você terá vida.

Provérbios 4.4

RESUMO

Introdução: A meningite bacteriana é a infecção mais comum do sistema nervoso central, caracterizada por uma infecção aguda afetando a pia-máter, aracnóide e o espaço subaracnóide, apresentando altas taxas de mortalidade e morbidade. A meningite causada pelo *Streptococcus pneumoniae*, Gram (+), é responsável por grande parte das doenças adquiridas na comunidade, representando altas taxas de morbidade e mortalidade em países em desenvolvimento, sendo que o dano é ocasionado pelo microrganismo invasor e pela resposta imune do hospedeiro. O estudo com a planta *Cannabis sativa*, uma planta originária da Ásia, uma das mais antigas drogas psicotrópicas descritas, vem relatando que a mesma exerce efeitos protetores em múltiplas doenças, atuando com propriedades antiinflamatórias.

Objetivo: Avaliar a memória e aprendizagem em ratos Wistar adultos submetidos à meningite pneumocócica. **Materiais e Métodos:** Os animais foram submetidos à indução da meningite via inoculação na cisterna magna, recebendo 10 µL de solução salina estéril ou volume equivalente de suspensão de *S. pneumoniae* na concentração de 5×10^9 UFC/mL, que foram cultivadas durante a noite anterior ao experimento. A meningite foi confirmada 16 horas após a indução com a retirada de 5 µL do líquido cefalorraquidiano da cisterna magna e semeado em placas de agar sangue, sendo incubados em estufa bacteriológica a 35°C. Os animais foram divididos em 5 grupos: sham; meningite + canabidiol 2,5 mg/kg; meningite + canabidiol 5 mg/kg; meningite + canabidiol 10 mg/kg; e meningite + salina. Dez dias após a indução, os animais foram submetidos ao teste comportamental de esQUIVA inibitória. **Resultados e Discussão:** Nossos estudos demonstraram que nos animais tratados com canabidiol na concentração de 10 mg/kg, o prejuízo da memória foi revertido; as outras concentrações utilizadas não demonstraram efeito neuroprotetor. **Conclusão:** Desta forma, sugerimos que o canabidiol foi eficaz na prevenção ao dano cognitivo ocasionado pela meningite pneumocócica e novas pesquisas devem ser realizadas para elucidar o mecanismo de ação do canabidiol.

PALAVRAS-CHAVE: *Streptococcus pneumoniae*. *Cannabis sativa*. Meningite. Comportamento.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Gráfico com o número de casos acumulados de meningite pneumocócica por mês de ocorrência, Brasil, 2007 a 2011..... | 15 |
| Figura 2. Ilustração da infecção do sistema nervoso central..... | 19 |
| Figura 3. Patogênese e fisiopatologia da meningite bacteriana | 21 |
| Figura 4. Teste da Esquiva Inibitória.. | 31 |
| Figura 5. Gráfico dos dados da tarefa de esquiva inibitória..... | 32 |
| Figura 6. Gráfico da Curva de Kaplan-Meier mostrando a mortalidade dos ratos Wistar adultos submetidos à meningite pneumocócica..... | 33 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBD – Canabidiol

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

LD – Lactato Desidrogenase

LPS – Lipopolissacarídeo

MB – Meningite Bacteriana

NO – Óxido Nítrico

SNC – Sistema Nervoso Central

SNP – Sistema Nervoso Periférico

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 11 |
| 1.1. Hipocampo | 12 |
| 1.2. Córtex..... | 13 |
| 1.3. Epidemiologia | 14 |
| 1.4. Meninges | 15 |
| 1.5. Líquido Cefalorraquidiano..... | 16 |
| 1.6. Meningite Bacteriana..... | 18 |
| 1.7. Streptococcus pneumoniae..... | 19 |
| 1.8. Mecanismos de Colonização e Pasagem pela Barreira Hematoencefálica..... | 20 |
| 1.9. Tratamento | 21 |
| 1.10. Diagnóstico Laboratorial | 22 |
| 1.10.1. Proteína..... | 23 |
| 1.10.2. Glicose | 23 |
| 1.10.3. Cloro | 24 |
| 1.10.4. Lactato desidrogenase | 24 |
| 1.11. Meningite e o Canabidiol | 24 |
| 2. OBJETIVOS | 27 |
| 2.1. Objetivo Geral..... | 27 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 27 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS | 28 |
| 3.1. Local de Realização da Pesquisa | 28 |
| 3.2. Critério de Exclusão, Suspensão ou Encerramento da Pesquisa | 28 |
| 3.3. Cálculo do Tamanho da Amostra..... | 28 |
| 3.4. Organismo Infectante | 28 |
| 3.5. Protocolo para Indução da Meningite | 29 |
| 3.6. Modelo Animal..... | 29 |
| 3.7. Tratamento | 30 |
| 3.8. Teste comportamental..... | 30 |
| 4. RESULTADOS | 32 |

| | |
|----------------------------------------|-----------|
| 5. DISCUSSÃO..... | 34 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 37 |

1. INTRODUÇÃO

O corpo humano dispõe de um centro de controle que permite perceber as variações do meio interno e externo, difundindo-as e executando as respostas adequadas para manter a homeostase, o sistema nervoso (SN), o qual é composto por duas subdivisões: o sistema nervoso central (SNC) e sistema nervoso periférico (SNP) (TORTORA, 2000).

O SNC é o local onde ocorrem os pensamentos, as emoções e as memórias. A maioria dos impulsos nervosos que estimulam a contração muscular e a secreção glandular origina-se no SNC, que por sua vez é composto pelo encéfalo, que pesa cerca de 1400 g e é compartimentalizado em diferentes regiões com diferentes funções, o sendo dividido em tronco encefálico, cerebelo e cérebro (LENT, 2005).

O cérebro é a estrutura mais evidente quando se observa o encéfalo humano, que está situado no crânio. O tronco encefálico é uma extensão da medula espinhal, que por sua vez, divide-se em bulbo, ponte e mesencéfalo (SILVERTHORN, 2003). O bulbo é a transição da medula espinhal para o mesencéfalo, é no bulbo que se encontram centros de controle para muitas funções involuntárias. Na protrusão do bulbo no lado ventral do tronco encefálico, encontra-se a ponte, que atua como mediador de informações entre o encéfalo e o cerebelo, que é o responsável em processar as informações sensoriais e a execução dos movimentos. O mesencéfalo relativamente é a menor parte entre o tronco encefálico e o diencéfalo que permite atuar na função primária, movimento dos olhos, entre outros. Em continuidade ao mesencéfalo fica o diencéfalo que é constituído por numerosos núcleos e feixes, seguido o telencéfalo que é a parte mais volumosa do encéfalo humano, que pode ser dividido em núcleos da base e córtex cerebral. Os núcleos da base são um conjunto de estruturas de substância branca e cinzenta, posicionando-se entre o diencéfalo e o córtex cerebral, que é o mais importante por desempenhar inúmeras funções (LENT, 2008).

1.1. Hipocampo

O hipocampo compõe-se em uma estrutura proencefálica do lobo temporal que está dobrada sobre si de uma forma característica, portanto sendo uma região importante do sistema límbico (LENT, 2008). Por ser uma estrutura complexa, é composto por quatro principais subdivisões: área entorrinal, complexo subicular, giro dentado e o corno de Ammon. Essas estruturas são consideradas unidades morfofuncionais, pelo fato de estarem interconectadas em vias de associação. Logo, devemos nos preocupar apenas com duas regiões: a CA1 e A CA3. A via de entrada de informações no hipocampo é a área entorrinal, cujos neurônios retransmitem a informação recebida para as células granulares do giro dentado por entre um feixe de axônios conhecido como via perfurante, onde conseqüentemente esses neurônios enviam axônios para a camada CA3. Os axônios da camada de células piramidais CA3 se ramificam em duas direções: um ramo termina na camada CA1, que forma sinapses, enquanto o outro ramo projeta-se através do fórnix, que conecta o hipocampo a outras regiões do cérebro, incluindo os corpos mamilares (NEIL, 2002).

Praticamente qualquer tipo de experiência causa ativação de pelo menos alguma parte do hipocampo, e este por sua vez distribui sinais para o tálamo anterior, hipotálamo e outras partes do sistema límbico. Dessa forma, o hipocampo é um canal adicional, através dos quais sinais sensoriais de entrada permitem gerar a reação comportamental para diferentes propósitos ou em outras estruturas límbicas. A estimulação em diferentes áreas do hipocampo pode gerar qualquer tipo de padrão comportamental, como raiva, passividade e excesso de impulso sexual (GUYTON, 2006).

O hipocampo desempenha um papel importante para a fixação da memória declarativa. Danos no hipocampo ou nas regiões que fornecem suas aferências e recebem suas eferências, tem como consequência o aparecimento da amnésia anterógrada, produzida por dano bilateral aos lobos temporais mediais. Lesões no lobo temporal esquerdo afetam geralmente a memória verbal, enquanto lesões à direita afetam a memória não verbal (KANDEL, 2000).

1.2. Córtex

O córtex cerebral em seres humanos é extremamente circunvolucionado e é a camada mais externa da substância cinzenta dos hemisférios cerebrais, dispondo de uma superfície altamente enrugada, não sendo homogêneo em toda sua extensão permitindo a individualização de varias áreas (NEIL, 2002; KANDEL, 2000). Estas circunvoluções superficiais consistem em pequenas depressões denominadas sucros, fissuras, grandes depressões, e giros que separam as regiões elevadas. De fato, o córtex divide-se em quatro áreas, ou lobos, que recebem o nome dos ossos do crânio que os recobrem: o lobo frontal, lobo parietal, lobo temporal e lobo occipital (NEIL, 2002). Topograficamente o córtex está dividido em áreas com funções específicas, incluindo as áreas sensoriais para visão (córtex occipital), para audição (córtex temporal) e para sensações somáticas (giro pré-central), áreas essas bem definidas, que representam somente uma fração do córtex cerebral (RHOADES, 2005).

No córtex estão situados muitos arquivos da memória, permitindo focalizar a atenção em algum objeto ou dispersar e até dormir; é por intermédio do córtex cerebral que compreendemos e emitimos a fala e a mímica correspondente e ele nos capacita a entender e emitir comportamentos emocionais e sentir subjetivas emoções. A maior parte remanescente do córtex cerebral é destinada à área associativa, onde ocorre o processamento das informações, em nível de altíssima qualidade em que o organismo é capaz (LENT, 2008).

Entre os vertebrados, o córtex cerebral dos humanos é o mais desenvolvido em áreas associativas. Essas áreas associativas são também os locais da memória de longo prazo, controlando as funções humanas, como habilidades musicais, matemáticas, atividades motoras complexas, o pensamento simbólico e outras funções cognitivas (RHOADES, 2005).

1.3. Epidemiologia

A meningite bacteriana (MB) é reconhecida como uma das principais causas de morbidade e mortalidade em países industrializados e países em desenvolvimento, (MUSCHER, 1992; HAUSDORFF, FEIKIN e KLUGMAN, 2005). Diante de estudos em diferentes partes do mundo constata-se três tipos de bactérias encontradas que são responsáveis por mais de 90% dos casos de MB: o *Haemophilus influenzae b* (Hib), *Neisseria meningitidis* e *Sterptococcus pneumoniae*. A incidência anual de mortes por meningite bacteriana no mundo é de aproximadamente 1,2 milhões de casos, incluindo adultos e crianças menores de 5 anos de idade, resultando em 135.000 mortes por ano (WEISFELT *et al.*, 2006). As taxas de morbidade e mortalidade da meningite bacteriana variam de acordo com a idade, região a qual o paciente se encontra e o microrganismo causador (KIM, 2008), resultando em índices significativos em torno de 15% em países industrializados e 40% em países em desenvolvimento (DE GANS, 2002; MOLYNEUX *et al.*, 2002; BRANDT, 2010). Há grande avanço em terapias coadjuvantes na tentativa de minimizar os danos ocasionados por esta infecção, por meios de antimicrobianos disponibilizados, como é o caso do uso da penicilina e cloranfenicol, porém ambos agentes são ineficazes para a meningite pneumocócica devido as cepas com resistência intermediária que gera resistência ao pneumococo (FRIEDLAND IR, *et al.*, 1992; WRIGHT *et al.*, 1989). Com o avanço farmacêutico, o qual hoje disponibiliza a imunização com vacinas pneumocócicas, conjugadas proteínas-capsular, tem gerado melhorias, mas ainda existem interferências: o fator pobreza que conseqüentemente reflete em média de 1 milhão da população mundial, a população marginalizada que reside em favelas urbanas, partes situadas em países em desenvolvimento, os quais não se beneficiam dos avanços para prevenção (SINHA *et al.*, 2007).

Segundo a estimativa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil possui 192.879.731 habitantes. O Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), o qual disponibiliza dados até 2011, que foram confirmados 8.676 casos de meningites, dentre esses, 37% registradas como meningite bacteriana, 41% meningite viral, 17% meningite não especificada e 3% meningite causadas por outras etiologias. Entre os casos citados de meningite

bacteriana, 15% foram registrados como sendo por meningite pneumocócica, segue abaixo o gráfico com o número de casos, figura 1 (BRASIL, 2011).

Salvador, terceira maior cidade do Brasil, mais de 80% dos indivíduos acometidos por meningite bacteriana, residem em favelas (REIS *et al.*, 2008). Uma revisão relata todos os casos de meningite bacteriana internados com febre no isolamento de um hospital em Salvador, revelando uma incidência anual de aproximadamente 45,8 casos por 100.000 habitantes e uma taxa de mortalidade global de 33% (BRYAN *et al.*, 1990).

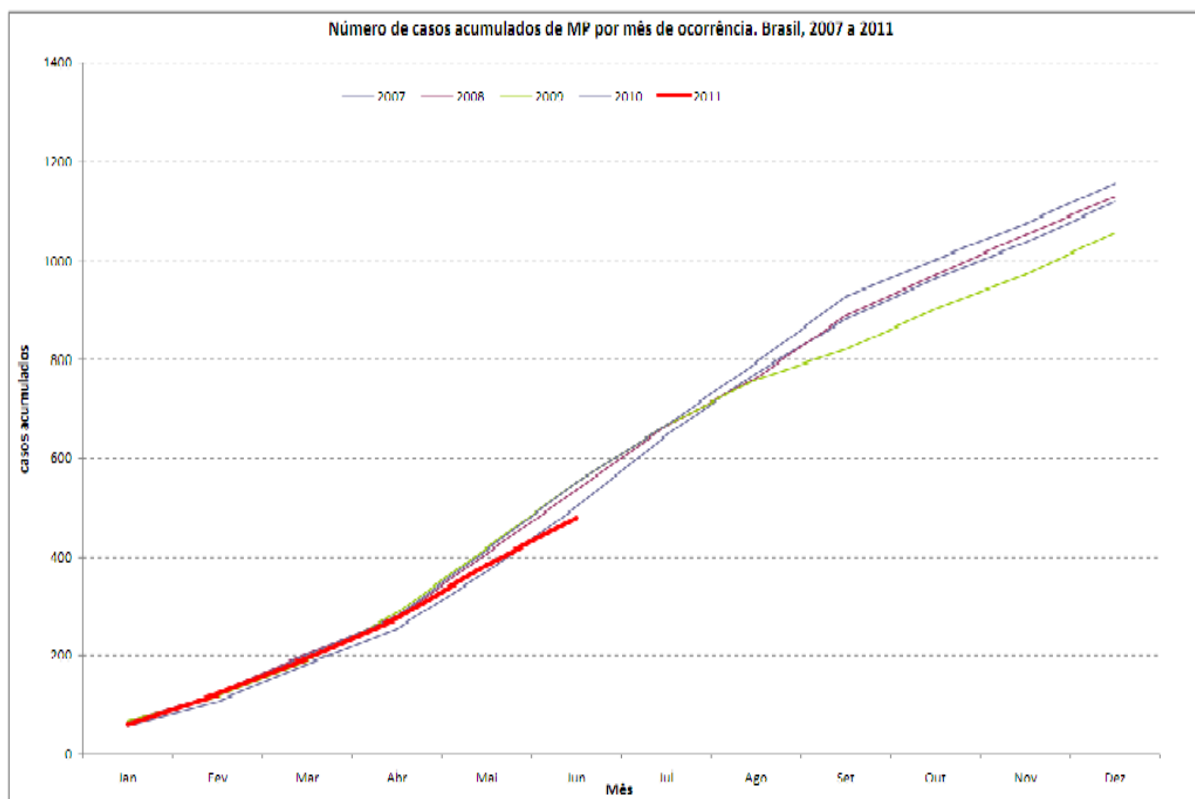


Figura 1. Gráfico com o número de casos acumulados de MP por mês de ocorrência, Brasil, 2007 a 2011. **Fonte:** BRASIL, 2011.

1.4. Meninges

O SNC compõe-se por três membranas conjuntivas envolvidas sobre si, denominadas meninges: dura-máter, aracnóide e pia-máter, que estão posicionadas anatomicamente dentro da caixa craniana e medula espinhal, de fora para dentro, as quais possuem importante papel de fornecer proteção ao encéfalo e a medula

espinhal (MACHADO, 2004; PAGANA, 2001; ERCHART, 1983; JACOB; FRANCONI; LOSSOW, 1999). A meninge mais superficial é a dura-máter, formada por um tecido conjuntivo rico em fibroblastos, formando um invólucro resistente e inelástico. Estas células produzem uma grande quantidade de colágeno que a torna rígida e resistente, sendo vascularizada e inervada, onde, como o encéfalo, não possui terminações nervosas sensitivas. Parcialmente a sensibilidade intracraniana se localiza na dura-máter, responsável pela maioria das dores de cabeça (MACHADO, 2004; LENT, 2005). Abaixo da dura-máter está a camada intermediária das meninges, a membrana aracnóide, que possui este nome pela semelhança com que ela se projeta de um delicado arranjo em forma de teia de aranha de fibras colágenas e elásticas. É uma membrana leve e esponjosa formando uma espécie de amortecedor do encéfalo, possuindo uma consistência menos rígida do que a dura-máter (NEIL, 2002). Apresenta-se adjacente a esta, separada por um fino filete de líquido cefalorraquidiano (LCR), que lubrifica o contato entre as duas meninges. No entanto, está separada da terceira meninge pelas trabéculas, gerando um amplo espaço preenchido por LCR (LENT, 2005).

Finalmente, a terceira e última das meninges, considerada a mais fina e delicada de todas, a pia-máter, também formada por fibras colágenas e elásticas que aderem a superfície da medula e do encéfalo, contém inúmeros vasos sanguíneos (LENT, 2005; MACHADO, 2004; TORTORA, 2000), acompanhando todas as saliências, depressões e fissuras maiores do cerebelo, ligando ao epêndima, onde falta tecido nervoso para separá-los, forma a tela coróideia de cada ventrículo e seus plexos coróides (LOCKART, 1983; DANGELO, 2004; PAGANA, 2001).

1.5. Líquido Cefalorraquidiano

O LCR é um fluido aquoso e incolor que ocupa o espaço subaracnóide e as cavidades ventriculares, é cristalino como água de rochas, de baixo peso molecular estando em equilíbrio osmótico com o sangue (LOCKART, 1983; MACHADO, 2004; PAGANA, 2001), contendo em sua composição proteínas, glicose, uréia e sais (sódio, cloreto, potássio e bicarbonato) (GUYTON, 2006;

TORTORA, 2000) preenchendo todas as cavidades do SNC e espaços que o circundam (LOCKART, 1983; PAGANA, 2001).

É produzido com velocidade de aproximadamente 500 mL por dia, o que equivale três a quatro vezes o volume do líquido que ocupa a região cerebral. Provavelmente, dois terços ou mais deste líquido origina-se a partir dos plexos coróides nos quatro ventrículos, sobretudo nos dois ventrículos laterais, sendo que quantidades adicionais de líquido são secretadas por toda a parte ependimária dos ventrículos e das membranas aracnóides e uma pequena fração vem do próprio cérebro pelos espaços perivasculares que circundam os vasos sanguíneos que entram no cérebro (MACHADO, 2004; GUYTON, 2006), por emaranhados vasculares que a pia-máter apresenta, revestidos por epitélio ependimário (ERCHART, 1983). O fluxo inicia a partir dos ventrículos laterais, passando pelo forame interventricular para o terceiro ventrículo, aqueduto mesencefálico para o quarto ventrículo, e deste, pelas aberturas medianas e laterais, para cisternas subaracnóideas. Desta região basal, por fluxo e refluxo, o líquido flui em torno da medula espinhal até a cisterna lombar. O líquido cefalorraquidiano retorna a corrente sanguínea através dos vilos e granulações aracnoídeas, normalmente no seio sagital superior, enquanto outra parte drena os espaços do tecido conectivo dos nervos (LOCKART, 1983). Sua circulação é extremamente lenta e ainda são discutidos os fatores que a determinam. A produção do LCR em uma extremidade e a sua absorção em outra já são suficientes para causar sua movimentação (LENT, 2008).

O LCR tem duas funções principais relacionadas à homeostase: proteção e circulação. Ele constitui um eficiente amortecedor de choques para proteger o encéfalo e a medula espinhal de impactos, que de outros modos seriam traumáticos (TORTORA, 2000). Os impactos externos, geralmente são relacionados aos grandes acidentes, já os internos são relacionados à pressão arterial (LENT, 2005). Este mesmo líquido atua absorvendo o choque quando ocorre traumatismo na cabeça, nas costas ou até mudanças súbitas de posição (PAGANA, 2001). O LCR também faz o encéfalo boiar, de modo que ele “flutua” na cavidade craniana. Em sua função circulatória, o líquido distribui substâncias nutritivas filtradas do sangue e remove as impurezas e substâncias tóxicas produzidas pela célula do encéfalo e da medula espinhal (TORTORA, 2000).

1.6. Meningite Bacteriana

A MB é a infecção mais comum e mais grave do SNC. É uma doença potencialmente fatal, caracterizada por uma infecção aguda e purulenta da pia-máter, aracnóide e do espaço subaracnóide, conforme está ilustrado na figura 2 (VAN DE BEEK *et al.*, 2001). A meningite bacteriana causada por *S. pneumoniae* é uma doença infecciosa grave do SNC associada com inflamação aguda e subsequente, dano cerebral (SCHUCHAT *et al.*, 1995), sendo uma doença infecciosa que requer tratamento multidisciplinar médico especializado. A evolução da doença pode muitas vezes resultar em uma emergência médica com consequências devastadoras quando o tratamento é realizado de forma inadequada (FILIPPIDS, 2009). As infecções do SNC estão entre as doenças mais debilitantes do século XXI (OSTERGARD *et al.*, 2001), no entanto, a mortalidade e a morbidade variam de acordo com a idade e a localização geográfica do paciente e do organismo causador (KINGLER *et al.*, 2000, KIM, 2008). A idade no momento da infecção é um fator epidemiológico crucial desta doença (FILIPPIDS, 2009). A reação inflamatória pode não envolver apenas as meninges e o espaço subaracnóide, mas também os vasos do parênquima cerebral e o parênquima em si e contribuir para o desenvolvimento de uma lesão neuronal (SELLNER *et al.*, 2010).

A MB demonstra alta morbidade, que esta associada com os fatores de virulência que os organismos causadores suportam. Sólidos dados epidemiológicos indicam que a meningite bacteriana é uma doença infecciosa classificada entre as dez principais causas infecciosas de morte (KOEDEL *et al.*, 2002).

Pacientes adultos que se recuperam de MB sem sinais de deficiência física ou neurológica, ainda estão em risco de comprometimento neuropsicológico a longo prazo. (VAN DE BEEK *et al.*, 2002; SCHIMIDT *et al.*, 2006).

Contudo, a maioria dos pacientes que sobrevivem não apresenta sequelas neurológicas (BEDFORD *et al.*, 2001). Em adultos sem sequelas neurológicas após a meningite bacteriana, resultados funcionais nunca foram investigados adequadamente (VAN DE BEEK *et al.*, 2002).

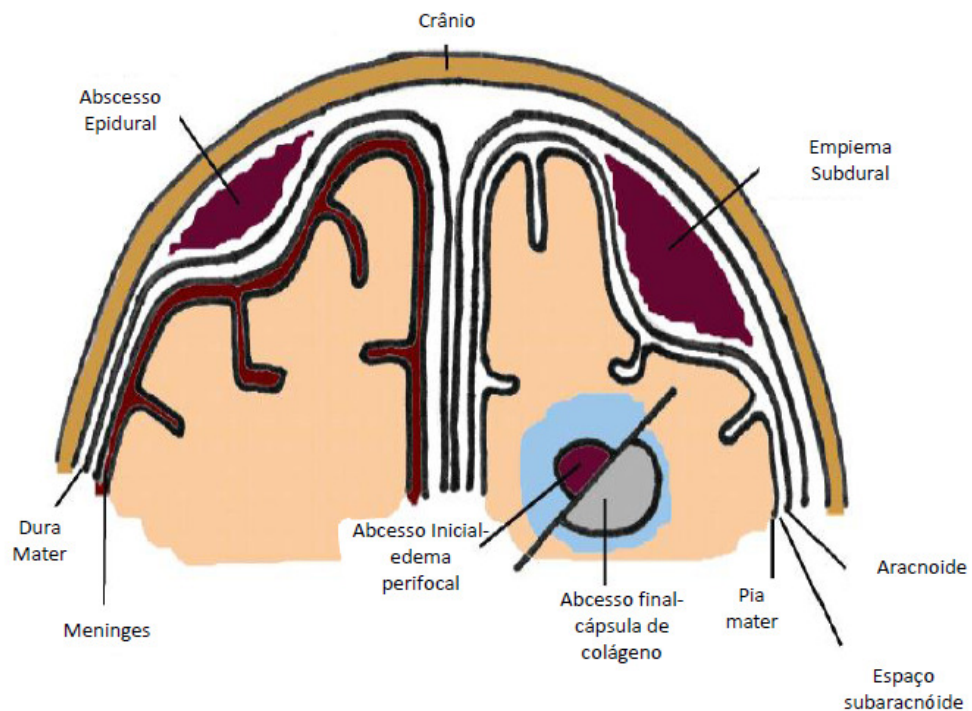


Figura 2. Ilustração da infecção do sistema nervoso central (adaptado de Ziai e Lewin, 2007).

1.7. *Streptococcus pneumoniae*

S. pneumoniae é uma bactéria Gram (+), alfa hemofílica, não possui a enzima catalase e é sensível ao antimicrobiano optoquina, sendo a causa mais frequente de meningite bacteriana adquirida na comunidade, exceto no período neonatal (WEISFELT *et al.*, 2006). *S. pneumoniae* é responsável por grande parte das doenças bacterianas envolvendo trato respiratório, tais como otite média aguda, sinusite e pneumonia, assim como a infecção invasiva (septicemia e meningite) em seres humanos. Toda infecção pneumocócica, no entanto, começa com a colonização da superfície da mucosa da nasofaringe, um estado muito mais comum do que interações do hospedeiro - patógeno, levando à doença (AUSTRIAN, 1986, BOGAERT *et al.*, 2004, WEISER, 2004).

O pneumococo reside na superfície da mucosa do trato respiratório superior (OSTENGARD, 2005). Ele pode ser facilmente cultivado a partir da nasofaringe dos seres humanos e, ocasionalmente, outros grandes mamíferos que vivem em associação com os humanos. O organismo produz uma gama de fatores

de virulência durante a colonização, incluindo a cápsula de polissacarídeo, proteínas de superfície e enzimas e toxinas como pneumolisina (MICHEL & MICHEL, 2010).

A cápsula de polissacarídeo provavelmente é o fator de virulência mais importante do pneumococo. O papel da cápsula na virulência decorre da sua atividade antifagocitária (JONSSON *et al.*, 1985). A cápsula também é crucial para a colonização, impedindo a remoção mecânica por muco (NELSON *et al.*, 2007) e podendo também restringir a autólise e reduzir a exposição ao antibiótico (VAN DER POLL & OPAL, 2009).

1.8. Mecanismos de Colonização e Pasagem pela Barreira Hematoencefálica

O pré-requisito para o desenvolvimento da meningite bacteriana é a adesão e colonização da nasofaringe por um microrganismo (KOEDEL *et al.*, 2002). As taxas de colonização de *S. pneumoniae* são mais elevadas em crianças (37%) e pode aumentar em até 58% em locais como creches (BOGAERT *et al.*, 2001). Em adultos a aglomeração pode levar a altas taxas de colonização, especialmente em hospitais, abrigos e presídios, com taxas de colonização de até 40% (HOGE *et al.*, 1994; IHEKWEAZU *et al.*, 2010), em comparação com 4% na população adulta em geral (REGEV *et al.*, 2005; MOOK-KANAMORI *et al.*, 2011).

Após a colonização da cavidade nasal, células do *S. pneumoniae* encontram secreções da mucosa. A expressão de uma cápsula reduz o aprisionamento do muco, permitindo assim que o pneumococo acesse as superfícies epiteliais (NELSON *et al.*, 2007). A cápsula de polissacarídeo promove a colonização e dificulta a fagocitose e a ativação do sistema de complemento, importante para evitar a bacteremia e a sepse após a colonização pneumocócica da mucosa (BOGAERT *et al.*, 2010). A neuroinvasão bacteriana pode ocorrer tanto no contexto de uma doença sistêmica como em uma disseminação bacteriana, seguidas através da corrente sanguínea ou por disseminação contínua de sinusite ou otite (KIM, 2003). As bactérias que conseguem alcançar a corrente sanguínea devem sobreviver aos mecanismos de defesa do hospedeiro para se replicarem (GARGES, 2006).

Finalmente, o patógeno deve sobreviver dentro do espaço subaracnóide a fim de ser capaz de infectar as meninges e iniciar uma cascata de eventos, que, eventualmente, levam a danos neuronais, segue abaixo o mecanismo figura 3 (FILIPPIDIS & FOUNTAS, 2009).

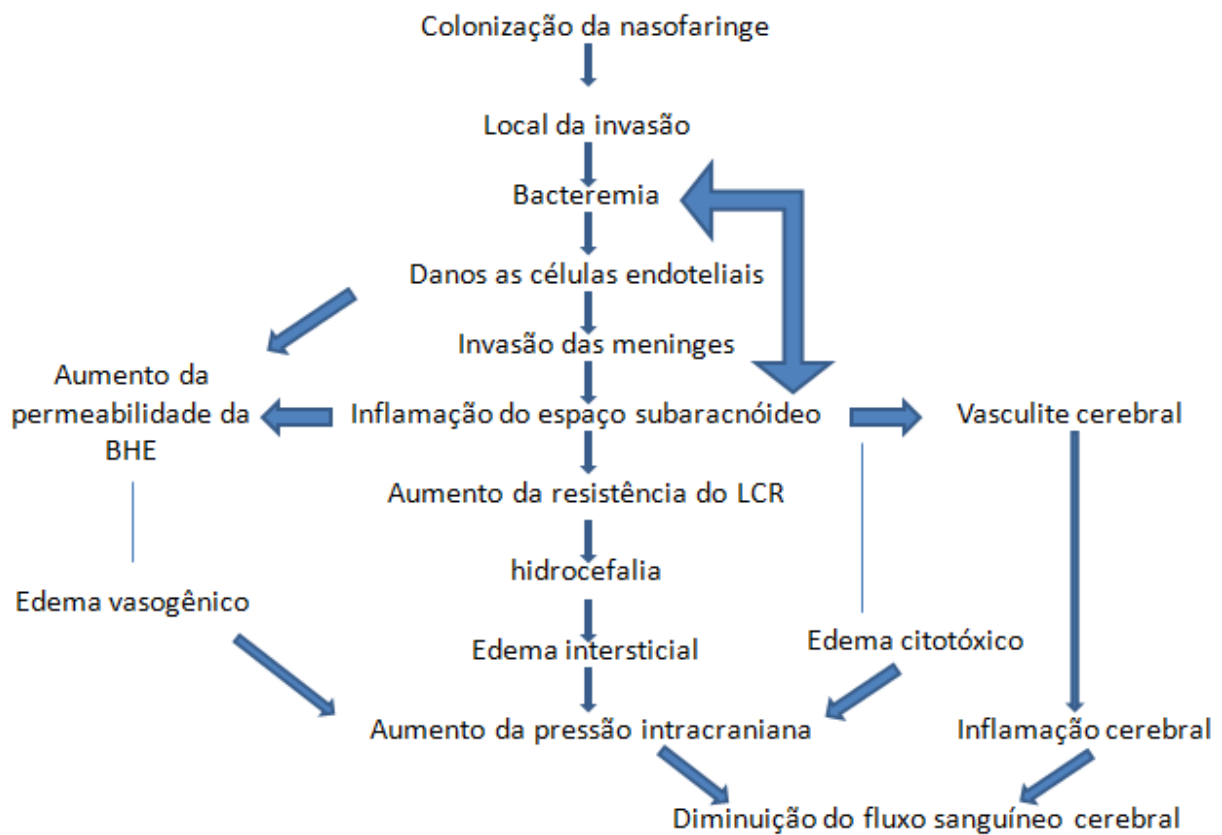


Figura 3. Patogênese e fisiopatologia da meningite bacteriana. Adaptado de Tunkel e Schel 1993.

1.9. Tratamento

O tratamento da MB tem dois grandes objetivos: primeiro, a rápida administração de um antimicrobiano com boa penetração no SNC para tratar a infecção neurológica, bem como com boa penetração tecidual para o tratamento de possíveis fontes fora do SNC e que tenha uma baixa toxicidade para o paciente; segundo, o uso de um antiinflamatório para suprimir as sequelas da lise bacteriana (SOMAND & MEURER, 2009).

Durante muitos anos, a associação de ampicilina com aminoglicosídeo no período neonatal e ampicilina com cloranfenicol após os dois meses de idade foram os esquemas antimicrobianos de eleição para o tratamento empírico inicial das meningites bacterianas. Com o crescente aparecimento de cepas bacterianas resistentes aos esquemas convencionais, a antibioticoterapia para meningites tem sofrido alterações nos últimos anos. Dentre as novas opções terapêuticas, as cefalosporinas de 3ª geração, particularmente a ceftriaxona, já acumulam uma experiência bem sucedida de aproximadamente uma década no tratamento das MB em crianças (QUAGLIARELLO & SCHELD, 1997).

As cefalosporinas de 3ª geração esterilizam rapidamente o LCR e apresentam poucos efeitos adversos. Nas meningites em recém-nascidos dá-se preferência à cefotaxima pela maior experiência com o seu uso no período neonatal e pelo fato da mesma não ter excreção biliar, via pela qual a ceftriaxona é eliminada. A excreção biliar da ceftriaxona pode suprimir a flora bacteriana intestinal, como também deslocar a bilirrubina dos locais de ligação à albumina com conseqüente precipitação ou agravamento de quadros de icterícia neonatal. No período neonatal a antibioticoterapia é indicada por pelo menos 14 dias (KLEIN, 1994; SÁEZ-LLORENS & MCCRACKEN JÚNIOR, 2003).

O tratamento alternativo com o antimicrobiano vancomicina pode ser utilizado quando a maioria das cepas resistentes às cefalosporinas permanecerem sensíveis à vancomicina (JOHN, 1994; TUNKEL *et al.*, 2004; RIBES *et al.*, 2005; CHAUDHURI *et al.*, 2008).

1.10. Diagnóstico Laboratorial

O LCR é cristalino, incolor, de peso molecular baixo e que está em equilíbrio osmótico com o sangue, contendo em sua composição (LOCKART, 1983; PAGANA, 2001), proteínas, glicose, uréia e sais (sódio, cloreto, potássio e bicarbonato) (GUYTO, 2006; TORTORA, 2000) preenchendo todas as cavidades do SNC e espaços que circundam (LOCKART, 1983; PAGANA, 2001).

O LCR é considerado o fluido mais indicado para o diagnóstico da meningite: quando encontra-se o LCR com aspecto turvo pode-se indicar um

aumento do número de leucócitos ou da concentração de proteínas, o que não é normal, com exceção por presença de alguns linfócitos. A presença de leucócitos polimorfonucleares indica MB ou abscesso cerebral. Quando há leucócitos mononucleares, há suspeita de meningite, encefalite viral ou tuberculosa. A punção do LCR é frequentemente realizada na região lombar, entre as vértebras L1 e S1, sendo mais indicados os espaços L3-L4, L4-L5 ou L5-S1. Uma das contra-indicações para a punção lombar é a existência de infecção no local da punção (pio dermite) (BRASIL, 2005; PAGANA, 2001), pois há o risco de o paciente sofrer hipotensão do LCR com parada cardiorrespiratória imediata ou após algumas horas sofrer engasgamento da amígdala cerebelar devido a herniações encefálicas, através do forame magno, por descompressão brusca (VERONESI, 2007).

Para o diagnóstico laboratorial das meningites, o LCR permite informar ao clínico alguns achados laboratoriais, permitindo determinar intensidade do processo inflamatório, agente etiológico e anticorpos específicos, os quais informam indiretamente a etiologia da infecção (MENEZES, 2009).

1.10.1. Proteína

Sabe-se que a quantidade de proteína encontrada no LCR é muito pequena, por tratarem-se de moléculas grandes que não atravessam a barreira hematoencefálica. O LCR normal tem valores de 15-45 mg/dL, sendo que valores acima de 45 mg/dL para LCR é indicativo de permeabilidade da barreira hematoencefálica causada por algum agente infeccioso ou inflamatório como a meningite, encefalite ou mielite (PAGANA, 2001; MENEZES, 2009).

1.10.2. Glicose

A glicose encontra-se em valores menores no LCR normal (50 – 75 mg/dL) e 60 a 70% na concentração sanguínea. A concentração de glicose diminui quando as bactérias ou células no LCR aumentam em número e catabolizando-a,

por falta de oxigênio (hipóxia) (VERONESI, 2007), pois uma concentração de glicose no LCR menor que 60% dos níveis sanguíneos, pode indicar meningite ou neoplasia (PAGANA, 2001).

1.10.3. Cloro

Referente á cátions, também está diminuído os valores de cloro, (700 – 750 mg/dL). Abaixo dos valores de referência, avalia a presença de infecções nas meninges (PAGANA, 2001). Alguns tipos de meningite fazem com que a taxa de cloreto fiquem abaixo dos valores de referência, mas na maioria das vezes, a taxa de cloreto esta envolvida com a osmolaridade do meio extra-celular e alterações do equilíbrio ácido-básico (VERONESI, 2007).

1.10.4. Lactato desidrogenase

A avaliação de lactato desidrogenase tem seu papel importante para diagnosticar a meningite bacteriana, pois em valores alterados encontra-se a presença de neutrófilos, responsáveis em atuar na defesa das bactérias invasoras (PAGANA, 2001). A dosagem da concentração do lactato licórico auxilia a diferenciar as meningites purulentas das não purulentas. A dosagem é rápida e bastante sensível, tanto pelo método enzimático como pelo método por cromatografia de gás liquido. Os valores de normalidade variam até 22 mg/dL (VERONESI, 2007)

1.11. Meningite e o Canabidiol

Apesar dos avanços no diagnóstico e na terapia antimicrobiana, a infecção do SNC continua sendo uma grande ameaça à saúde mundial (SHUCHAT

et al., 1997). Desta forma, torna-se importante avaliar novas terapias coadjuvantes na tentativa de minimizar os danos ocasionados por esta infecção. A *Cannabis sativa*, originária da Ásia central, é uma das mais antigas drogas psicotrópicas conhecidas pela humanidade. É difícil de relatar o início do seu uso por seres humanos, pois essa era cultivada e consumida muito antes do aparecimento da escrita. Segundo descobertas arqueológicas, a *Cannabis sativa* já era conhecida na China pelo menos desde o período Neolítico, por volta de 4000 a.C. (MCKIM, 2000). O canabidiol (CBD) é um composto canabinóide não psicotrópico derivado dessa planta, vulgarmente conhecida como maconha. É uma substância química lipossolúvel retirada de plantas fêmeas (ELSOHLY & SLADE, 2005). O CBD foi isolado pela primeira vez em 1940 e sua estrutura estereoquímica foi determinada em 1963 (IZZO *et al.*, 2009; MECHOULAM *et al.*, 2007). Nas duas últimas décadas o 9-delta-tetrahydrocannabinol e o CBD, principal mediador que vem exercendo efeito protetor em múltiplos modelos de doença, tais como sepse (IZZO *et al.*, 2009; BOOZ, 2011), atuando na proteção dos neurônios diante de estímulos neurotóxicos ou neurodegenerativos, através de receptores canabinóides, propriedades antioxidantes inata e efeitos sobre sistema imunológico no SNC. O CBD também permite a capacidade de modular células do sistema imunológico e a produção de fatores imunes no SNC. As principais células do SNC são microglias, situadas em locais de morte neuronal, que possui a função de fornecer suporte para as células neurais, em neurodegeneração (RAMIREZ *et al.*, 2005; LULL & BLOCK, 2010). O agonismo de receptores de CBD na microglia potencializa sua ativação ainda mais (Carrier *et al.*, 2004; Kreitzer & Stella, 2009; Stella, 2010), limitando a capacidade da microglia da supressão de agentes pró-inflamatórios, incluindo o fator de necrose tumoral α (TNF- α) e óxido nítrico (NO) (EHRHART *et al.*, 2005; RAMIREZ *et al.*, 2005). O CBD apresentou ser um importante anti-inflamatório limitando indução de ATP pelo aumento de cálcio intracelular e pelos níveis de produção de NO em cultura de células da microglia (MARTIN-MORENO *et al.*, 2011). Um efeito anti-inflamatório do CBD também foi observado em camundongos induzidos por lipopolissacarídeo (LPS), devido à inibição da captação de adenosina (CARRIER *et al.*, 2006.). Durante neuroinflamação, a ativação de células da microglia migram para o local da lesão onde liberam citocinas pró-inflamatórias e agentes citotóxicos (KOZELA *et al.*, 2010). Além disso, o CBD reduziu a síntese de NO e os níveis de TNF- α em ratos induzidos por um modelo de inflamação de LPS (RUIZ-

VALDEPENAS *et al*, 2011). Podendo levar em consideração que o CBD dispõem de uma variedade de propriedades aparentemente neuromoduladores, neuroprotetora, anti-oxidante e anti-inflamatória, incluindo efeitos sobre vias bioquímicas que podem complementar os seus efeitos sobre os receptores, canais iônicos e enzimas, logo atingindo um determinado objetivo terapêutico mundial.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o comportamento em ratos Wistar adultos submetidos à meningite pneumocócica com tratamento adjuvante com canabidiol.

2.2. Objetivos Específicos

Avaliar a memória aversiva em ratos Wistar adultos submetidos à meningite pneumocócica com tratamento adjuvante com canabidiol;

Avaliar o efeito do canabidiol sobre a mortalidade de ratos Wistar adultos induzidos à meningite pneumocócica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de Realização da Pesquisa

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia Experimental da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, Criciúma, SC, Brasil. Todos os procedimentos experimentais foram realizados conforme as recomendações da lei 11.794/08 para utilização de animais experimentais. O Projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), com o protocolo 97/2011.

3.2. Critério de Exclusão, Suspensão ou Encerramento da Pesquisa

Os ratos Wistar machos adultos foram excluídos da pesquisa quando apresentaram peso inferior à 250 g ou superior a 350 g, deficiência visual, motora ou qualquer má formação aparente, podendo ocorrer o encerramento da pesquisa em caso de sofrimento dos animais nos procedimentos.

3.3. Cálculo do Tamanho da Amostra

Com base em estudos prévios em pacientes e estudos em modelos animais, para uma diferença de até 20% nos parâmetros a serem analisados entre os grupos, com uma variância de no máximo 10% entre as médias, calculou-se um tamanho de amostra de 15 animais por grupo para o tratamento crônico, para um erro alfa de 0,05 e um poder de 80%.

3.4. Organismo Infectante

S. pneumoniae foi cultivado durante a noite em caldo Todd-Hewitt e obtido crescimento até a fase logarítmica. Na manhã do experimento, as bactérias

foram lavadas e ressuspendidas em NaCl 0,9% estéril (IRAZUZTA *et al.*, 2001). Os procedimentos cirúrgicos e inoculação da suspensão bacteriana foram executados sob a anestesia, que consiste em uma administração intraperitoneal de cloridrato de cetamina (6,6 mg/kg), xilazina (0,3 mg/kg) e acepromazina (0,16 mg/kg) (BARICHELLO, 2005).

3.5. Protocolo para Indução da Meningite

A meningite pneumocócica é induzida em ratos Wistar adultos, machos, pesando entre 250 e 350 g, do biotério da UNESC. A meningite foi induzida por inoculação da suspensão de *S. pneumoniae* (ATCC 6303) na cisterna magna dos animais (IRAZUZTA *et al.*, 2002). No primeiro dia, os ratos foram submetidos a uma punção na cisterna magna com uma agulha número 23. A posição da agulha foi verificada pelo fluxo livre do líquido cerebral desobstruído. O LCR foi retirado e os animais receberam 10 µL de solução fisiológica estéril como placebo (controle) ou um volume equivalente da suspensão de *S. pneumoniae* na concentração de 5×10^9 UFC/mL (IRAZUZTA *et al.*, 2002; IRAZUZTA *et al.*, 2005). Em seguida, os animais receberam 10 mL de salina subcutaneamente e analgésico (0,5 mL de buprenorfina subcutaneamente a cada 24 horas) e após retornaram para as suas gaiolas com alimento e água *ad libitum* (IRAZUZTA *et al.*, 2001; IRAZUZTA *et al.*, 2002).

Dezesseis horas após a indução da meningite foi realizada a confirmação e quantificação da concentração microbiana do LCR dos grupos animais. O LCR foi semeado em placas de agar sangue de carneiro 5%, que foram incubadas a temperatura de 37°C durante 24 horas para crescimento das colônias (GRANDGIRARD *et al.*, 2007a; IRAZUZTA *et al.*, 2002; IRAZUZTA *et al.*, 2001; SURY *et al.*, 2008).

3.6. Modelo Animal

O modelo foi organizado em 5 grupos experimentais para tratamento crônico contendo 15 animais para cada grupo, totalizando 75 animais. O experimento foi dividido em diferentes tratamentos: Grupo 01 – sham NaCl 0,9% estéril (15 ratos); grupo 02 - meningite + antimicrobiano (Ceftriaxona) (15 ratos); grupo 03 - meningite + antimicrobiano (Ceftriaxona) + CBD 2,5 mg/kg (15 ratos); grupo 04 - meningite + antimicrobiano (Ceftriaxona) + CBD 5 mg/kg (15 ratos); grupo 05 - meningite + antimicrobiano (Ceftriaxona) + CBD 10 mg/kg (15 ratos). Vinte e quatro horas após a última dose de CBD (10º dia do tratamento), os ratos foram submetidos ao teste comportamental. Após o teste comportamental, os animais foram sacrificados por decapitação

3.7. Tratamento

O CBD (THC-Pharm, Frankfurt, Germany, and STI-Pharm, UK) foi suspenso em polyoxyethylenesorbitan monooleate (Tween 80) salina a 2%. As soluções foram preparadas imediatamente antes do uso e ficaram protegidas da luz durante a sessão experimento. Para o tratamento foram administradas doses diárias de 2,5 mg/kg, 5 mg/kg e 10 mg/kg por via intraperitoneal (i.p.) associado a um antimicrobiano (Ceftriaxona) durante 9 dias. Todos os tratamentos foram administrados em um volume de 1mL/kg de CBD, sendo utilizado antimicrobiano ou salina como tratamento. Para este experimento utilizamos 75 animais, que dividimos em 5 sub-grupos, conforme descrito acima.

3.8. Teste comportamental

Foi utilizado o teste comportamental denominado Esquiva Inibitória (Inhibitory Avoidance Task). Este consiste em uma caixa de acrílico na qual o piso é formado por barras paralelas de metal (1 mm de diâmetro). Os espaços entre as barras medem 1 cm. Uma plataforma com 7 cm de largura e 2,5 cm de comprimento é colocada junto à parede esquerda do aparelho (QUEVEDO *et al.*, 1999; ROESLER *et al.*, 2003; 2004). Na sessão de treino, os animais foram colocados sobre a

plataforma e foi cronometrado o tempo que o animal levou para descer com as quatro patas da plataforma. Esse tempo é denominado latência. Imediatamente após descer da plataforma (com as 4 patas), o animal recebeu um choque de 0,4 mA durante 2 segundos. Na sessão de teste, o animal foi novamente colocado na plataforma e cronometrado o tempo que ele levou para descer (latência), porém, não foi administrado choque. A latência é parâmetro clássico de retenção de memória (IZQUIERDO *et al.*, 1998; BEVILAQUA *et al.*, 2003).



Figura 4. Teste da Esquiva Inibitória. **Fonte:** Laboratório de Neurociências.

4. RESULTADOS

Na atividade de esquiva inibitória, o grupo sham apresentou diferença significativa no tempo de latência entre seções de treino e teste ($p \leq 0,05$), o grupo meningite com tratamento coadjuvante com CBD 10 mg/kg apresentou maior tempo de latência na seção teste ($p \leq 0,05$), demonstrando que nos animais com tratamento coadjuvante com CBD 10 mg/kg houve prevenção do dano cognitivo (Figura 5).

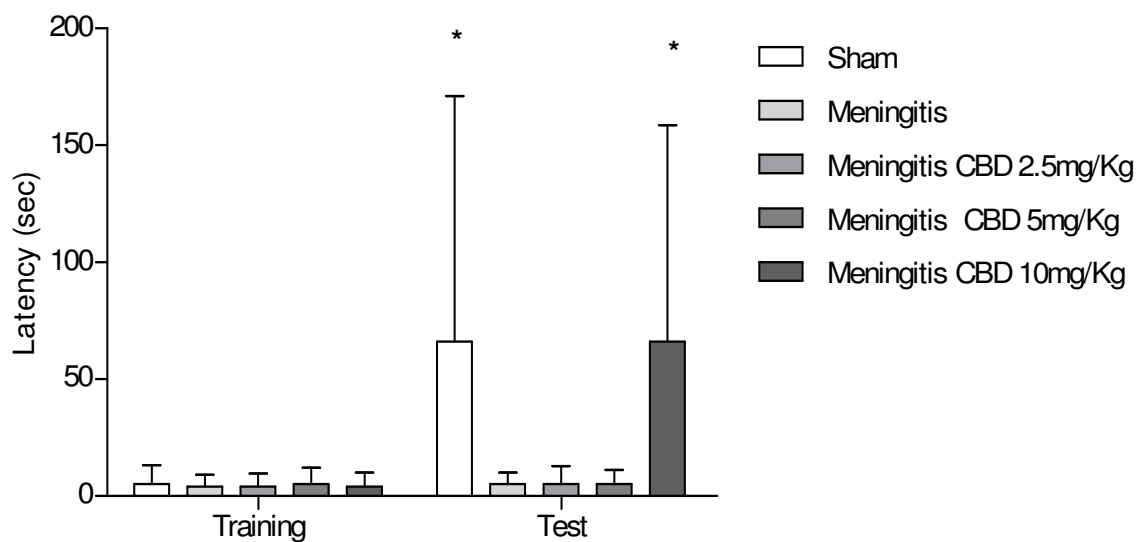


Figura 5. Gráfico dos dados da tarefa de esquiva inibitória foram apresentados como mediana e intervalos interquartis, e as comparações entre grupos foram realizadas por meio de testes de Mann-Whitney U. Dados dentro de grupos individuais foram analisados pelos testes de Wilcoxon (treino e teste). Em todas as comparações, $p < 0,05$ indicou significância estatística. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa Statistical Package for the Social Science (versão 17.0).

A sobrevivência dos animais foi analisada pela curva de Kaplan-Meier (Figura 6), desde o tempo de indução até 180 horas após a inoculação. Não houve diferença significativa na mortalidade dos animais entre os grupos experimentais.

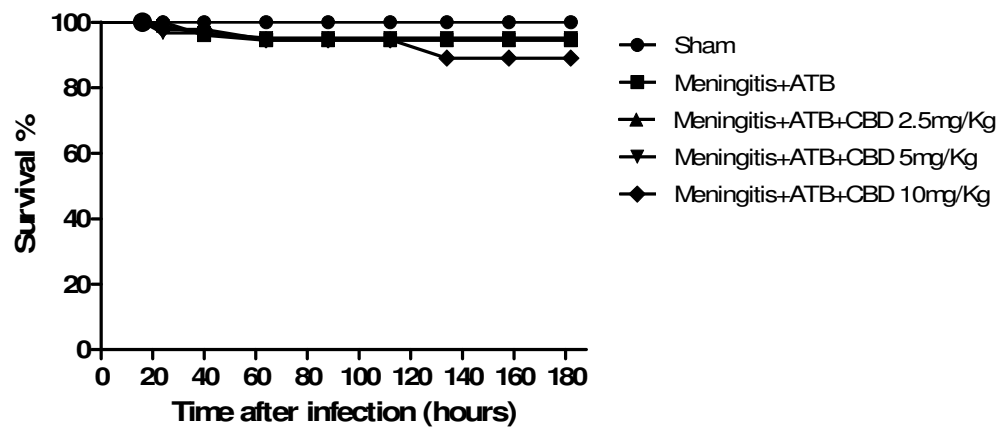


Figura 6. Gráfico da Curva de Kaplan-Meier mostrando a mortalidade dos ratos Wistar adultos submetidos à meningite pneumocócica.

5. DISCUSSÃO

A MB é uma doença infecciosa grave do SNC associada com inflamação aguda e subsequente dano cerebral (SCHUCHAT *et al.*, 1995). *S. pneumoniae* é o responsável pela inflamação no cérebro associado com uma exacerbada resposta imune (LEIB *et al.*, 1996). Essa bactéria multiplica-se no LCR facilmente, como se fosse semeado em caldo de cultura, alcançando títulos de até 10^9 UFC/mL e colonizando toda a superfície do cérebro e da medula espinhal (ZWIJNENBURG *et al.*, 2006). Quando o microrganismo multiplica-se no espaço subaracnóideo inicia uma resposta imune complexa: muitas células, tais como células endoteliais, microgliais, astrócitos, macrófagos residentes podem produzir TNF- α , interleucina-1 beta (IL-1 β), IL-6 como citocinas de resposta aguda (VAN FURTH *et al.*, 1996), sendo que estas desencadeiam em sinergismo uma cascata de mediadores pró-inflamatórios, prostaglandinas, espécies reativas ao oxigênio e metaloproteinases de matriz (NATHAN and SCHELD, 2000; SELLNER *et al.*, 2010), ocasionando dano à mitocôndrias, quebra do DNA, peroxidação lipídica e ativação das vias apoptóticas (KLEIN *et al.*, 2006). Esta complexa fisiopatologia pode ocasionar edema cerebral, vasculite, vaso espasmos, aumento da pressão intracraniana, levando a dano hipocampal e cortical. (SELLNER *et al.*, 2010). A comunicação bidirecional entre o sistema imune e o SNC desempenha interação entre o cérebro e a resposta imune do hospedeiro (MILLER *et al.*, 1999). Desta forma tanto o microrganismo quanto a resposta imune são responsáveis pelas sequelas neurológicas (MOOK-KANAMORI *et al.*, 2011).

Apesar do desenvolvimento de novos antimicrobianos mais eficazes a infecção do SNC continua sendo uma grande ameaça à saúde mundial (SCHUCHAT *et al.*, 1997). Desta forma torna-se importante avaliar novas terapias coadjuvantes na tentativa de minimizar os danos ocasionados por esta infecção.

O CBD é um composto canabinóide não psicotrópico derivado da *Cannabis sativa*, conhecido por exercer potentes efeitos anti-inflamatórios, imunomoduladores e analgésicos através da ativação de receptores localizados no SNC e células do sistema imunológico (CUNHA *et al.*, 1980).

Na administração do CBD em um modelo animal da doença de Alzheimer a sobrevivência das células foi significativamente elevada, provavelmente por uma

combinação de ações neuroprotetoras, antioxidantes e anti-apoptóticas (IUVONE *et al.*, 2004).

Estudos recentes vêm sendo realizados para investigar a segurança do uso de CBD, comprovando que a administração crônica de CBD por 30 dias em voluntários humanos saudáveis, variando nas doses de 10 á 400 mg diárias, não apresentou nenhuma alteração significativa nos exames clínicos (HASKÓ *et al.*, 2009). Baseando-se nos dados clínicos, sugere-se que administração do CBD pode ser utilizada com segurança, variando as doses em larga escala.

O CBD mostrou-se eficaz na regulação da função do sistema imunológico e estas ações podem variar de acordo com as concentrações. Em geral ocorre a liberação de dois mediadores de células e imunidade humoral que envolvem a inibição da proliferação da maturação e migração de células do sistema imunológico, apresentando antígenos e resposta humoral (IZZO *et al.*, 2009).

Cassol-Jr e colaboradores demonstraram em estudo feito com modelo animal de sepse, que o CBD atenuou parâmetros oxidativos em lipídios, proteínas; diminuiu a mortalidade dos animais e preveniu danos cognitivos (CASSOL-JR *et al.*, 2010). No tratamento da meningite com administração coadjuvante com CBD também mostrou-se ter efeito neuroprotetor, revertendo o dano cognitivo.

6. CONCLUSÃO

Apesar dos avanços terapêuticos com antimicrobianos e vacinação o desfecho das meningites é desfavorável e a mortalidade da meningite pneumocócica é alta, e as sequelas neurológicas incluem perda auditiva, convulsões, prejuízo de aprendizagem e memória em torno de 30 a 50% dos sobreviventes e o fator chave que contribui é o incompleto entendimento da fisiopatologia desta infecção do SNC (KASTENBAUER *et al.*, 2003; VAN DE BEEK *et al.*, 2004; SELNER *et al.*, 2010).

Em nosso estudo, demonstramos que o tratamento da meningite com administração coadjuvante com CBD 10 mg/kg, preveniu dano cognitivo, mostrando um efeito neuroprotetor como descrito em vários estudos anteriores, porém, o mesmo não foi observado na mortalidade dos animais, não mostrando diferença estatisticamente significativa.

Por isso, novos estudos com terapias coadjuvantes no tratamento da meningite bacteriana se fazem necessários. Por causa de seus efeitos benéficos em diversas patologias e baixa toxicidade em seres humanos e outras espécies, CBD representa um candidato promissor no tratamento da meningite pneumocócica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUSTRIAN, R. Some aspects of the pneumococcal 'state'. Journal of Antimicrobial Chemotherapy

BARICHELLO, T. *et al.* Cognitive impairment in sepsis survivors from cecal ligation and perforation. **Critical Care Medicine**, v.33, n.1, p.221-223, 2005.

BEDFORD, H. *et al.* Meningitis in infancy in England and Wales: follow up at age 5 years. **BMJ**, n. 323, p. 533-536, 2001.

BEVILAQUA, L.R. *et al.* Inhibition of hippocampal Jun N-terminal kinase enhances short-term memory but blocks long-term memory formation and retrieval of an inhibitory avoidance task. **European Journal of Neuroscience**, v.17, n.4, p.897-902, 2003.

BOOZ, G.W. Cannabidiol as an emergent therapeutic strategy for lessening the impact of inflammation on oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med**, v.8 p.5, 2011.

BRANDT, C.T. Experimental studies of pneumococcal meningitis. **Dan Med Bull**, n. 57, 2010.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**. Brasília : Ministério da Saúde, 6. ed, 2005. 816 p.

BRYAN, J. P. *et al.* Etiology and mortality of bacterial meningitis in Northeastern Brazil. **Reviews Infectious Diseases**, n. 12, p.128-135,1990.

BOGAERT, D.; DE GROOT, R.; HERMANS, P. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. The Lancet Infectious Diseases, n.4, p.144-154, 2004.

CARLSON, Neil R. **Fisiologia do comportamento**. 7. Ed. Barueri, SP}: Manole, 2002. 699p.

CASSOL-JR. *et al.* Low dose dexamethasone reverses depressive-like parameters and memory impairment in rats submitted to sepsis. *Neuroscience Letters*. V. 473, issue 2, 2010. p.126-130.

CHAUDHURI, A. *et al.* EFNS guideline on the management of community-acquired bacterial meningitis: Report of an EFNS Task Force on acute bacterial meningitis in older children and adults. **Eur J Neurol**, n. 15, p. 649-659, 2008.

CUNHA, J. *et al.* Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology*, 21: 175-185.

DANGELO, J. G.; FATTINI, C. A. **Anatomia humana sistêmica e segmentar: para o estudante de medicina**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004. 671 p.

DE GANS, J.; VAN DE BEEK, D. Dexamethasone in adults with bacterial meningitis. **N Engl J Med**, n. 347, p. 1549-1556, 2002.

ERCHART, Eros Abrantes. **Elementos de anatomia humana**. 6. Ed. São Paulo: Atheneu, 1983. 272 p.

FRIEDLAND, I. R; KLUGMAN, K. P. Fracasso da terapia de cloranfenicol no tratamento da meningite pneumocócica resistente à penicilina. *Lancet* 1992; 339: 405 – 8.

GRANDGIRARD, D. *et al.* An infant mouse model of brain damage in pneumococcal meningitis. **Acta Neuropathol**, n. 114, p. 609–617, 2007a.

GUYTON, Arthur C; HALL, John E. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. 1115 p.

HASKÓ, G. A_{2B} adenosine receptors in immunity and inflammation. *Trends Immunol.* p.263-270, 2009.

HAUSDORFF, W. P; FEIKIN, D. R; KLUGMAN, K. P. Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. **Lancet Infect Dis**. n. 5, p.83-93, 2005.

IRAZUZTA, J. *et al.* Dexamethasone decreases neurological sequelae and caspase activity. **Inte Care Med**, v.31, n.1, p. 146-150, 2005.

IRAZUZTA, J. E *et al.* Modulation of nuclear factor-kB activation and decreased markers of neurological injury associated with hypothermic therapy in experimental bacterial meningitis. **Crit Care Med**, v. 30, n. 11, p. 2553-2559, 2002.

IRAZUZTA, J. E. *et al.* Serum cleaved Tau protein and neurobehavioral battery of tests as markers of brain injury in experimental bacterial meningitis. **Brain Research**, v. 913, n. 1, p. 95-105, 2001.

IZZO, A. A. *et al.* Nonpsychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. **Trends Pharmacol Sci**, v. 30, p. 515-527; 2009.

IZQUIERDO, I. *et al.* Mechanisms for memory types differ. **Nature**, n. 393, p. 635-636, 1998.

JOHN, C.C. Treatment failure with use of a third-generation cephalosporin for penicillin-resistant pneumococcal meningitis: Case report and review. **Clin Infect Dis**, n. 18, p.188-193, 1994.

KANDEL, Eric R.; SCHWARTZ, James H.; JESSELL, Thomas M. **Fundamentos da neurociência e do comportamento**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. pag.591.

KASTENBAUER, S.; PFISTER, H. W. Pneumococcal meningitis in adults: Spectrum of complications and prognostic factors in a series of 87 cases. **Brain**, n. 126, p. 1015-1025, 2003.

KIM, K.S. Mechanisms of microbial traversal of the blood-brain barrier. **Nat Rev Microbiol**, n. 6, p. 625-634, 2008.

KIM, K. S. Pathogenesis of bacterial meningitis: from bacteraemia to neuronal injury. *Nat. Rev. Neurosci.*4: 376-385, 2003.

KLEIN, J. O. Antimicrobial treatment and prevention of meningitis. **Pediatr Ann**, n. 23, p. 76-81, 1994.

KLEIN, M.; KOEDEL, U.; PFISTER, H.W. Oxidative stress in pneumococcal meningitis: A future target for adjunctive therapy? **Prog Neurobiol**, n. 80, p. 269-280, 2006.

KLINGER, G. *et al.* Predicting the outcome of neonatal bacterial meningitis, **Pediatrics**, n.106, p.477-482, 2000.

LEIB, S.L; *et al.* Reactive oxygen intermediates contribute to necrotic and apoptotic neuronal injury in an infant rat model of bacterial meningitis due to group B streptococci. **J Clin Invest**, n. 98, p. 2632-2639, 1996.

LENT, Roberto. **Cem bilhões de neurônios: conceitos fundamentais de neurociência**. São Paulo: Atheneu, 2005. 698 p.

LENT, Roberto. **Neurociência da mente e do comportamento**. Rio de Janeiro: GEN: Guanabara Koogan: Ed. LAB, 2008. 356p.

LOCKART, Robert Douglas *et al.* **Anatomia do corpo humano**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 669 p.

MACHADO, A. B. M.; CAMPOS, G. B. **Neuroanatomia funcional**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 363 p.

MOLYNEUX, E. M. *et al.* Dexamethasone treatment in childhood bacterial meningitis in Malawi: A randomised controlled trial. **Lancet**, n. 360, p. 211-218, 2002.

MUSHER, D.M. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. **Clin Infect Dis**, n.14, p.801-807, 1992.

NELSON A.L, *et al.* Capsule enhances pneumococcal colonization by limiting mucus-mediated clearance. **Infect Immune**, n.75, p. 83-90, 2007.

OSTERGAARD, C. Prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *The New England Journal of Medicine*, n.352, p.512-515, 2005.

PAGANA, K. D; PAGANA, J. **Manual de testes diagnósticos e laboratoriais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001, 563 p.

QUAGLIARELLO V. J; SCHELD W. M. Treatment of bacterial meningitis. **N Engl J Med**, n.336, p.708-716, 1997.

QUEVEDO J, *et al.* Two time windows of anisomycin-induced amnesia for inhibitory avoidance training in rats: protection from amnesia by pretraining but not pre-exposure to the task apparatus. **Learn Mem**, n.6, p. 600-607, 1999.

RHOADES, Rodney; TANNER, George A. **Fisiologia médica**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 741p.

RIBES S, *et al.* Evaluation of ceftriaxone, vancomycin and rifampicin alone and combined in an experimental model of meningitis caused by highly cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* ATCC 51916. **J Antimicrob Chemother**, n.56, p.979-982, 2005.

ROESLER, R. *et al.* Bombesin/gastrin-releasing peptide receptors in the basolateral amygdala regulate memory consolidation. **European Journal of Neuroscience**, v.19, n.4, p.1041-1045, 2004.

ROESLER, R. *et al.* Differential involvement of hippocampal and amygdalar NMDA receptors in contextual and aversive aspects of inhibitory avoidance memory in rats. **Brain Research**, v.975, n.1-2, p.207-213, 2003.

SÁEZ-LLORENS X; MCCRACKEN JR G.H. Bacterial meningitis in children. **Lancet**, n.361, p.2139-2148, 2003.

SELLNER, J. *et al.* Effects of Toll-like receptor 2 agonist Pam3CysSK4 on inflammation and brain damage in experimental pneumococcal meningitis. *Journal of Neuroimmunology*, v. 206, n. 1-2, p. 28-31, 2009.

SELLNER, J. MARTIN, G. TAUBER, S. L. L. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial CNS infections. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 96, 3rd series, chapter 1, 2010.

SHUCHAT, A. *et al.* Bacterial meningitis in the united states in 1995. Active Surveillance Team. **The New England Journal of Medicine**, n.337, p.970-976,1995.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 2. Ed. Barueri, SP: Manole, 2003. 816p.

SINHA, A. *et al.* Custo-efetividade da vacinação pneumocócica conjugada na prevenção da mortalidade infantil: uma análise econômica internacional. *Lancet*. 2007; 369 :389-96

SOMAND, D; MEURER, W. Central Nervous System Infections. **Emerg Med Clin**, n.27, p. 89-100, 2009.

SURY, M. D. *et al.* JNK is activated but does not mediate hippocampal neuronal apoptosis in experimental neonatal pneumococcal meningitis. **Neurobiol Dis**, v.32, n.1, p. 142-150, 2008.

TORTORA, G. J. **Corpo humano: fundamentos de anatomia e fisiologia**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 635 p.

VAN DE BEEK D, *et al.* Cognitive impairment in adults with good recovery after bacterial meningitis. **J Infect Dis**, n.186, p. 1047-1052, 2002.

VERONESI, Ricardo; FOCACCIA, Roberto. **Tratado de infectologia**. 3. Ed. rev. e Atual. São Paulo: Atheneu, 1. v, 2007. 1271 p.

WEISER, J. 2004. Mechanisms of carriage, p. 169-182. *In* E. Tuomanen (ed.), The Pneumococcus. ASM Press, Washington, D.C.

WEISFELT, M. *et al.* Community-acquired bacterial meningitis in older people. **J Am Geriatr Soc**, v. 54, p.1500-1507, 2006.

WEISFELT, M, *et al.* Pneumococcal meningitis in adults: new approaches to management and prevention. **Lancet Neurol**, n.5, p. 332-342. 2006.

WRIGHT, P. F. Abordagens para prevenir a meningite bacteriana aguda nos países em desenvolvimento. *Touro Organ Mundial da Saúde* 1989; 67: 479-86.