

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**

**ISABEL VIEIRA DE ASSIS LIMA**

**PAPEL DA ENZIMA FOSFATIDILINOSITOL-3-QUINASE (PI3K) SOBRE  
CRISES CONVULSIVAS E EPILEPTOGÊNESE EM MODELO ANIMAL DE  
EPILEPSIA INDUZIDO POR PILOCARPINA**

**BELO HORIZONTE**

**2013**

**ISABEL VIEIRA DE ASSIS LIMA**

**PAPEL DA ENZIMA FOSFATIDILINOSITOL-3-QUINASE (PI3K) SOBRE  
CRISES CONVULSIVAS E EPILEPTOGÊNESE EM MODELO ANIMAL DE  
EPILEPSIA INDUZIDO POR PILOCARPINA**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-  
graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia e  
Farmacologia da Universidade Federal de Minas  
Gerais, como requisito parcial para obtenção do  
Grau de Mestre em Ciências Biológicas.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira**

**BELO HORIZONTE**

**2013**

**043**

Lima, Isabel Vieira de Assis.

Papel da enzima fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) sobre crises convulsivas e epileptogênese em modelo animal de epilepsia induzido por pilocarpina [manuscrito] / Isabel Vieira de Assis Lima. - 2013.

90f.: il. ; 29,5 cm.

Orientador: Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas.

1. Epilepsia do lobo temporal - Teses. 2. Pilocarpina - Teses. 3. Fisiologia - Teses. 4. 1- Fosfatidilinositol-3-quinase. I. Oliveira, Antônio Carlos Pinheiro de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 612

**“PAPEL DA ENZIMA FOSFATIDILINOSITOL-3-QUINASE (PI3K)  
SOBRE CRISES CONVULSIVAS E EPILEPTOGÊNESE EM  
MODELO ANIMAL DE EPILEPSIA INDUZIDO POR  
PILOCARPINA”**

**ISABEL VIEIRA DE ASSIS LIMA**

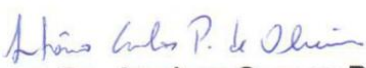
Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **25 de março de 2013**, pela Banca Examinadora constituída pelos seguintes professores:



**PROF. DR. MÁRCIO FLÁVIO DUTRA MORAES**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**PROF. DR. FABRÍCIO DE ARAÚJO MOREIRA**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



**PROF. DR. ANTÔNIO CARLOS PINHEIRO DE OLIVEIRA**  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
**ORIENTADOR**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia  
Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

**Belo Horizonte, 25 de março de 2013**

## **APOIO FINANCEIRO**

Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) –  
Programa Primeiros Projetos - Processo número CBB-APQ-04389-10;

Pró-Reitoria de Pesquisa (PRPq) / UFMG – Programa de Auxílio para a Pesquisa  
dos Recém-Doutores – Edital 08/2010;

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,  
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem  
foram conquistadas do que parecia impossível.”

*Charles Chaplin*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, autor da vida e fonte de todo o conhecimento.

Ao professor Dr. Antônio Carlos Pinheiro de Oliveira, por ter acreditado em mim e ter me acolhido em seu laboratório desde o primeiro momento, pela paciência, pelos valiosos ensinamentos e estímulo constante ao raciocínio científico.

À Dra. Aline C. Campos, pela amizade sincera, pelos valiosos ensinamentos e contribuições, empenhando-se ao máximo na realização deste trabalho.

Aos professores e alunos do NNC, em especial ao professor Dr. Márcio Flávio Dutra Moraes, pelos ensinamentos e por disponibilizar seu laboratório para a realização de alguns experimentos presentes neste trabalho.

Aos professores, Dr. Fabrício A. Moreira e Dra. Daniele C. Aguiar, por abrirem as portas do seu laboratório para que fossem conduzidas as cirurgias realizadas neste trabalho, bem como alguns experimentos, e por terem compartilhado seus conhecimentos e estarem sempre dispostos a me ajudar.

Ao professor Dr. Antônio Lúcio Teixeira, pelo incentivo e por me possibilitar a realização de diversos experimentos presentes neste trabalho.

À professora Dra. Lirlândia Pires de Sousa, pela importante contribuição neste trabalho.

À professora Dra. Elita Scio Fontes, por me introduzir ao mundo científico e ser minha grande incentivadora em seguir a carreira acadêmica.

À banca examinadora, por investir tempo e conhecimento na avaliação desta dissertação.

Aos amigos do Laboratório de Neurofarmacologia, em especial a Soraya e Paula pela amizade, paciência e pelos bons momentos compartilhados.

Aos meus queridos amigos da pós-graduação: Mariana, Carla, Ana Flávia, Thércia e Pedro, por tornarem meus dias mais alegres, pelo companheirismo e amizade.

Aos funcionários técnico-administrativos Cíntia, Nilda, Jorge, Webster, Rinaldo e Wellington, pela disponibilidade e atenção.

Ao vovô Idyllo, amigo e provedor, por apostar em meus sonhos e por se alegrar a cada pequena vitória minha. À vovó Yêda, pela fé inabalável, me transmitindo força e coragem em todos os momentos difíceis da minha vida. À minha querida mãe, pelo amor incondicional, paciência e estímulo e ao meu pai, que mesmo de longe, sempre esteve me apoiando e incentivando em todos os importantes momentos da minha vida. Às minhas irmãs Luisa e Júlia, pelo amor e momentos felizes compartilhados.

À dindinha Lílian e tia Cacá, pelo amor e apoio constantes. Às minhas queridas afilhadas, Rafaela e Sofia, por alegrarem a minha vida.

Ao amor da minha vida, João Pablo, pelo amor e dedicação, estando sempre ao meu lado nos momentos mais importantes da minha vida.

E às agências de fomento CNPq e FAPEMIG, pela concessão de bolsa e auxílio financeiro.

## RESUMO

**Introdução:** A Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) é a forma mais frequente de epilepsia em adultos. O modelo experimental de epilepsia induzida por pilocarpina (PILO) induz mudanças patofisiológicas e comportamentais em roedores muito semelhantes às observadas em seres humanos com ELT. No entanto, este modelo está associado a uma elevada taxa de mortalidade dos animais. Embora poucos estudos demonstraram que a injeção intra-hipocampal de PILO em ratos é um modelo confiável de TLE, nenhum estudo foi realizado até o momento em camundongos. A via fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K)/ proteína quinase B (Akt)/ alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) tem sido associada a várias patologias sistema nervoso central. No entanto, o papel específico da PI3K na fisiopatologia da epilepsia é pouco conhecido. Portanto, no presente estudo, foi investigada a participação da enzima PI3K sobre crises convulsivas e sobre a produção de fatores neurotróficos e mediadores inflamatórios, bem como na expressão de células microgliais e de neurogênese hipocampal em camundongos submetidos à microinjeção intra-hipocampal de PILO. **Metodologia:** Os experimentos foram realizados em camundongos adultos machos C57Bl/6 (WT) e  $PI3K\gamma^{-/-}$  (10-12 semanas de idade). Cânulas-guia foram implantadas no hipocampo esquerdo e direito, através de cirurgia estereotáxica e, em seguida, foi aguardado 5 dias para a recuperação dos animais. O *status epilepticus* (SE) foi induzido pela microinjeção intra-hipocampal bilateral de PILO (20  $\mu$ g por sítio/200nL) ou salina como controle nos animais WT e  $PI3K\gamma^{-/-}$ . As crises convulsivas foram analisadas por 90 minutos e classificadas de acordo com a escala estabelecida de Racine (1972). Além disso, foi verificada alterações na memória dos animais WT e  $PI3K\gamma^{-/-}$ , 72hs pós-SE. Vinte

quatro horas pós-SE, foram removidos hipocampo e córtex pré-frontal para determinação dos fatores neurotróficos, BDNF e NGF, bem como dos mediadores inflamatórios, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-17A. Para a avaliação da expressão de células microgлияis (Iba-1) e de neurogênese (doblecortina - DCX), os encéfalos foram removidos pós-perfusão intracardíaca, 72 h pós-SE. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism 5 e expressos em média  $\pm$  EPM (P <0,05). **Resultados:** Foram observadas alterações comportamentais nos animais pós-SE. Níveis de BDNF foram significativamente aumentados no hipocampo dos animais WT e PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup>. Já em relação ao córtex pré-frontal, somente os animais PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> apresentaram aumento significativo dos níveis de BDNF. Por outro lado, os níveis de NGF no hipocampo de animais WT e PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> não foram alterados pela administração de PILO. Com relação aos níveis de mediadores inflamatórios, destaca-se o aumento dos níveis de IL-6 no hipocampo dos animais PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> e, em ambos os grupos, no córtex pré-frontal; de IL-10 no hipocampo dos animais WT; de TNF- $\alpha$  no hipocampo dos animais WT; e de IFN- $\gamma$ , no hipocampo de ambos os grupos. Além disso, houve aumento na expressão de células microgлияis no hipocampo de animais WT, bem como uma diminuição da neurogênese hipocampal nos animais PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup>, após a indução do SE. **Conclusões:** A microinjeção intra-hipocampal de PILO induziu crises convulsivas, bem como alterações de parâmetros bioquímicos observados no modelo de injeção intraperitoneal de PILO, com a vantagem de apresentar baixíssimos índices de mortalidade. Além disso, foi possível observar diversas alterações relacionadas à via da PI3K.

## ABSTRACT

**Introduction:** Temporal Lobe Epilepsy (TLE) is the most common form of epilepsy in adults. The experimental model of epilepsy induced by pilocarpine (PILO) induces behavioral and pathophysiological changes in rodents very similar to those seen in humans with TLE. However, this model is associated with a high mortality of the animals. Although few studies have shown that intrahippocampal injection of PILO rat is a reliable model of TLE, no study has been conducted so far in mice. The phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) / protein kinase B (Akt) / mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway has been associated with several pathologies in the Central Nervous System (CNS). However, the specific role of PI3K in the pathophysiology of epilepsy is poorly understood. Therefore, in the present study, we investigated the involvement of PI3K enzyme on seizures and on the production of neurotrophic factors and inflammatory mediators as well as the expression of microglia and hippocampal neurogenesis in mice subjected to microinjection of intrahippocampal PILO. **Methods:** Experiments were performed in adult male mice C57Bl/6 (WT) and  $PI3K^{\gamma^{-}}$  (10-12 weeks of age). Guide cannulas were implanted in the left and right hippocampus, using stereotactic surgery and then was awaited 5 days for recovery animals. The *status epilepticus* (SE) was induced by bilateral intrahippocampal microinjection of PILO (20 $\mu$ g per site/200nL) or saline as control animals and WT  $PI3K^{\gamma^{-}}$ . Seizures were analyzed for 90 minutes and classified according to the scale set of Racine (1972). There was also observed changes in memory of WT and  $PI3K^{\gamma^{-}}$  animals, 72h post-SE. 24 hours after induction of SE, hippocampus were removed and prefrontal cortex to determine the neurotrophic factors, BDNF and NGF, as well as of inflammatory mediators, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10,

TNF- $\alpha$  , IFN- $\gamma$  and IL-17A. To evaluate the expression of microglial cells (Iba-1) and neurogenesis (doublecortin - DCX), the brains were removed after intracardiac perfusion, 72 h after SE induction. Analyses Statistics were performed using GraphPad Prism 5 and expressed as mean  $\pm$  SEM (P <0.05). **Results:** We observed behavioral changes post-SE. Levels of BDNF were significantly increased in the hippocampus of WT and PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> mice after microinjection of PILO. In the prefrontal cortex, only animals PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> showed significant increase in BDNF levels. Moreover, levels of NGF in the hippocampus of WT and PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> animals not were altered by administration of PILO. In the levels of inflammatory mediators, there was an increase in IL-6 levels in the hippocampus of PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> animals and, in the prefrontal cortex, in both groups; IL- 10 WT in the hippocampus of animals, TNF- $\alpha$  in the hippocampus of WT animals, and IFN- $\gamma$  in the hippocampus of both groups. Moreover, there were increase in the expression of microglial cells in WT animals, as well as a decrease in the hippocampal neurogenesis in PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup> animals, after the induction of SE. **Conclusions:** The intrahippocampal microinjection of PILO induced seizures, as well as biochemical changes observed in the model intraperitoneal injection of PILO, with the advantage of low rates of mortality. Moreover, we observed several changes related to the PI3K pathway.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Latência (min) para o início das crises nos animais PI3K $\gamma^{-/-}$  e WT. Foi realizado Teste t não-pareado. \* $p < 0,05$ .

**Figura 2:** Gravidade do SE nos animais PI3K $\gamma^{-/-}$  e WT. Foi realizado Teste t não-pareado. \* $p < 0,05$ .

**Figura 3:** Análise da expressão da proteína p-Akt no hipocampo dos animais após a administração de PILO. Foi realizada análise de variância de uma via (One-way ANOVA), seguido pelo teste de Newman-Keuls. \* $p < 0,05$ .

**Figura 4:** Níveis de BDNF no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ , após a indução de SE. Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocampais. **B** - Níveis corticais. \* ( $p < 0,05$ ); \*\* ( $p < 0,001$ ).

**Figura 5:** Níveis de NGF no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocampais. **B** - Níveis corticais. \* ( $p < 0,05$ ).

**Figura 6:** Níveis de IL-2 no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocampais. **B** - Níveis corticais.

**Figura 7:** Níveis de IL-4 no hipocampo dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocampais. **B** - Níveis corticais.

**Figura 8:** Níveis de IL-17A no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA),

seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocâmpais. **B** - Níveis corticais. \*( $p < 0,05$ ).

**Figura 9:** Níveis de IL-6 no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocâmpais. **B** - Níveis corticais, \*( $p < 0,05$ ).

**Figura 10:** Níveis de IL-10 no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocâmpais. **B** - Níveis corticais. \*( $p < 0,05$ ).

**Figura 11:** Conteúdo de TNF- $\alpha$  no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** – Níveis hipocâmpais. **B** - Níveis corticais. \*( $p < 0,05$ ).

**Figura 12:** Conteúdo de IFN- $\gamma$  no hipocampo e córtex pré-frontal dos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ . Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. **A** - Níveis hipocâmpais. **B** - Níveis corticais. \*( $p < 0,05$ ).

**Figura 13:** Efeitos da administração de PILO, sobre a expressão de células microgliciais, representado pelo número de células Iba-1<sup>+</sup> no giro denteado da formação hipocâmpal de animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ , 72 h após a indução do SE **A** - análise quantitativa, representada pela média  $\pm$  erro padrão da média (n= 5 por grupo). Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. \*( $p < 0,05$ ). **B** – Fotomicrografias representativas do giro denteado da formação hipocâmpal marcadas com Iba-1, nos animais WT e PI3K $\gamma^{-/-}$ , 72 h após a indução do SE.

**Figura 14:** Efeitos da administração de PILO, sobre a neurogênese, representado pelo número de células DCX<sup>+</sup> no giro denteado da formação hipocampal de animais WT e PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup>, 72 h após a indução do SE. **A** - análise quantitativa, representada pela média  $\pm$  erro padrão da média (n= 5 por grupo). Foi realizada uma análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. \*(p<0,05). **B** – Fotomicrografias representativas do giro denteado da formação hipocampal marcadas com DCX, nos animais WT e PI3K $\gamma$ <sup>-/-</sup>, 72 h após a indução do SE.

**Figura 15:** Análise da memória dos animais pós-SE. Foi realizada análise de variância de duas vias (Two-way ANOVA), seguido do Teste de Bonferroni. \*\*p<0,01.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Drogas anticonvulsivantes por tipo de crise\*.

**Tabela 2:** Protocolo experimental.

**Tabela 3:** Relação dose x resposta x mortalidade pós-SE, frente à administração intraperitoneal de PILO.

**Tabela 4:** Relação dose x resposta x mortalidade pós-SE, frente à administração intra-hipocampal de PILO.

**Tabela 5:** Porcentagem de animais que atingiram o SE.

## LISTA DE ABREVIATURAS

- Akt:** Homóloga celular ao oncogene v-Akt
- ANOVA:** Análise de variância
- BDNF:** Fator neurotrófico derivado do cérebro
- BHE:** Barreira hematoencefálica
- BSA:** Soroalbumina bovina
- CA1, CA2 e CA3:** Corno de Ammon - regiões 1, 2 e 3
- CBA:** *Cytometric Bead Array*
- CEBIO:** Centro de Bioterismo
- CETEA:** Comitê de Ética em Experimentação Animal
- COX:** Ciclooxigenase
- CREs:** Crises recorrentes espontâneas
- DAB:** 3,3- Diaminobenzidina
- DCX:** *Doublecortin*
- DMSO:** Dimetilsulfóxido
- EDTA:** Ácido etil-diamino-tetra-acético
- EEG:** Eletroencefalograma
- EEAC1:** Carreador de aminoácidos excitatórios 1
- EEAT3:** Transportador de aminoácidos excitatórios 3
- ELISA:** *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
- ELT:** Epilepsia do lobo temporal
- EMT:** Esclerose Mesial Temporal
- EtOH:** Etanol
- GABA:** Ácido gama-aminobutírico

**GLAST:** Transportador de glutamato/aspartato

**GLT1:** Transportador de glutamato - subtipo 1

**GSK-3:** Glicogênio sintase quinase-3

**HCl:** Ácido clorídrico

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrogênio

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:** Ácido sulfúrico

**Iba-1:** *ionized calcium-binding adapter molecule 1*

**IFN-γ:** Interferon gamma

**iGLU:** Receptore ionotrópico de glutamato

**ILAE:** *International League Against Epilepsy*

**IL:** Interleucina

**mGLU:** Receptor metabotrópico de glutamato

**mTOR:** alvo da rapamicina em mamíferos

**NF:** Fator nuclear

**NGF:** Fator neurotrófico de crescimento

**NaCl:** Cloreto de sódio

**NMDA:** N-metil-D-aspartato

**NO:** Novo objeto

**PBS:** Tampão fosfato salina

**PI3K:** Fosfatidilinositol-3-quinase

**PMS:** Fetilmetilsulfonila

**PTEN:** *Phosphatase and tensin homolog*

**PTZ:** Pentilenotetrazol

**SE:** *Status Epilepticus*

**SNC:** Sistema Nervoso Central

**TBS:** Salina tamponada

**TNF- $\alpha$ :** Fator de necrose tumoral alfa

**TRO:** Teste de Reconhecimento de Objetos

**VO:** Velho objeto

**WT:** Wild-type

## SUMÁRIO

RESUMO.....	10-11
ABSTRACT.....	12-13
LISTA DE FIGURAS.....	14-16
LISTA DE TABELAS.....	17
LISTA DE ABREVIATURAS.....	18-20
INTRODUÇÃO.....	22-38
OBJETIVOS.....	39-40
MATERIAIS E MÉTODOS.....	41-48
RESULTADOS.....	49-68
DISCUSSÃO.....	69-77
REFERÊNCIAS .....	78-90

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 As epilepsias**

Epilepsias são definidas como desordens da função cerebral caracterizadas por uma periódica e imprevisível ocorrência de crises epiléticas que causam, por sua vez, uma mudança temporária no comportamento, devido a um desordenado, sincrônico e rítmico disparo de populações de neurônios do Sistema Nervoso Central (SNC) (MCNAMARA, 1994). Trata-se de uma condição neurológica comum, que pode ocorrer em pessoas de diferentes idades, em diferentes graus (GUERREIRO et al., 2000), sem que haja um fator desencadeante agudo ou imediato, tais como condições tóxico-metabólicas e febris (ROGAWSKI & PORTER, 1990). Esta condição está frequentemente associada a dificuldades psicossociais, gerando impacto na qualidade de vida não só do paciente como também de sua família (FERNANDES et al., 2007).

As crises epiléticas são, por sua vez, eventos clínicos que refletem disfunção temporária de um conjunto de neurônios de parte do encéfalo (crises parciais) ou de uma área mais extensa, envolvendo simultaneamente os dois hemisférios cerebrais (crises generalizadas). Os sintomas de uma crise dependem das partes do cérebro envolvidas na disfunção (GUERREIRO et al., 2000). As crises parciais podem evoluir para generalizadas, demonstrando o caráter dinâmico dessa patologia evidenciado pelo recrutamento de outras estruturas cerebrais. Essas crises podem ainda se manifestar através de períodos de ausência em que se observa suspensão da consciência, sem importante atividade motora (ausência simples), ou acompanhada de discretas atividades motoras (ENGEL, 1995).

Para que o paciente seja diagnosticado como portador de epilepsia é necessário que ele apresente pelo menos uma crise convulsiva, acompanhada de alterações permanentes no cérebro que aumentem a susceptibilidade a outras crises. Além disso, é necessário que a esse quadro esteja associado um distúrbio neurobiológico, cognitivo, psicológico ou social (FISCHER et al., 2005).

A classificação das crises epiléticas pode ser feita de várias formas, sendo a mais utilizada a proposta pela International League Against Epilepsy (ILAE), baseada nas manifestações clínicas e eletroencefalográficas das crises (ILAE, 1981). A classificação das epilepsias ou síndromes epiléticas proposta pela ILAE em 1989 (ILAE, 1989), baseia-se nas semelhanças de tipo de crise, idade de início, sinais clínicos e neurológicos, história familiar, achados de exames complementares (eletroencefalograma e exames de imagem) e prognóstico.

A maioria das síndromes epiléticas não tem uma causa comum, porém é importante o conhecimento de três tipos de epilepsias quanto à causa: idiopática (epilepsias transmitidas geneticamente), sintomática (epilepsias cujas causas são identificáveis) e criptogênica (epilepsias de possível base orgânica, sem causa definida) (ILAE, 1989). Ainda, são considerados quatro grupos de epilepsias: 1- síndromes e epilepsias localizadas (parciais ou focais); 2- síndromes e epilepsias generalizadas; 3- síndromes e epilepsias não classificáveis, em que as informações não permitem determinar se são focais ou generalizadas e 4- síndromes especiais (ILAE, 1981; 1989).

Estima-se que haja no globo entre 60 e 100 milhões de pessoas portadoras de epilepsia (SANDER, 2003; SANDER & SHORVON, 1996). Há uma grande dificuldade em se realizar estudos epidemiológicos sobre epilepsia em comunidades,

devido a problemas metodológicos e à heterogeneidade na definição de tal patologia (SANDER, 1996).

A prevalência mundial da epilepsia é ao redor de 10 a 15/1.000 pessoas (SANDER, 2003), ou seja, cerca de 100 milhões de pessoas no planeta têm, já tiveram ou terão epilepsia em algum momento de suas vidas (GUERREIRO & GUERREIRO, 1999). A incidência varia muito de país a país, sendo que nos países em desenvolvimento há uma maior incidência de epilepsia, quando comparados com os países desenvolvidos (SANDER & SHORVON, 1996). Nos primeiros, a incidência pode chegar a 120 casos novos/100.000 pessoas a cada ano e nos últimos, cerca de 50 casos (SANDER, 2003).

Essas altas taxas nos países em desenvolvimento são, na maioria dos casos, atribuíveis a doenças parasitárias (principalmente neurocisticercose), infecções intracranianas virais ou bacterianas, tocotraumatismo, traumatismo crânio encefálico e doenças cerebrovasculares (GOMES, 2000; SCOTT et al., 2001; SENANAYAKE et al., 1993). A incidência da epilepsia é diferente entre as faixas etárias, sendo mais elevada em crianças e idosos (GOMES, 2000; HAUSER, 1995).

No Brasil, poucos são os dados de prevalência a respeito dessa condição em áreas urbanas e não existe estudo de incidência. Os trabalhos de Marino e cols. (1986) e de Fernandes e cols. (1992) encontraram as prevalências de 11,9/1.000 e 16,5 e 20,3/1.000 nas cidades de São Paulo e de Porto Alegre, respectivamente. Posteriormente, Borges e cols. (2004) observaram que os valores de prevalência encontrados na cidade de São José do Rio Preto (18,6/1.000 pessoas) são próximos aos do Rio de Janeiro (GOMES, 2002), Equador (PLACENCIA et al., 1992) e Senegal (NDOYE et al., 2005), 16,3/1.000, 12,2/1.000 e 14,2/1.000 pessoas, respectivamente.

## 1.2 Epilepsia do Lobo Temporal

A forma mais comum de síndrome epiléptica é a epilepsia do lobo temporal (ELT), que atinge cerca de 40% de todos os casos de epilepsia (HAUSER & KURLAND, 1975). A ELT vem sendo reconhecida como uma síndrome específica, devido à sua alta prevalência e à frequente refratariedade ao tratamento farmacológico (ENGEL, 1989). Na maioria dos pacientes, as lesões e alterações funcionais da ELT iniciam-se na infância após um insulto precipitante inicial como convulsão febril, *status epilepticus* (SE), encefalite ou trauma (ENGEL, 1995). É sabido que na ELT a formação hipocampal é a estrutura mais danificada, exibindo uma perda neuronal seletiva e gliose, resultando na chamada esclerose hipocampal (MCNAMARA, 1994).

A grande perda neuronal (50% ou mais) presente na esclerose hipocampal acomete pelo menos quatro das seis regiões hipocampais: Corno de amon (CA)1, 3 e neurônios da região polimórfica do giro denteado, sendo acompanhada de alterações também nas estruturas adjacentes envolvendo a amígdala, giro parahipocampal e córtex entorrinal. As células piramidais da região CA2 e granulares do giro denteado são mais resistentes (MELDRUM, 1992).

Os principais fatores responsáveis pela vulnerabilidade diferente entre os neurônios hipocampais estão relacionados à variação na expressão de receptores e proteínas. A região do hilo do giro denteado, CA1 e CA3 são regiões ricas em neurônios com receptores glutamatérgicos do tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), mais concentrados na região CA1, e do tipo cainato, no caso do hilo e região CA3 (GEDDES et al., 1986; TREMBLAY et al., 1985). Uma vez ativados, tais receptores permitem um influxo de cálcio, que em altas concentrações pode levar à morte celular (BABB et al., 1991).

Segundo McNamara (1994), existem pelo menos duas teorias que tentam explicar o envolvimento do hipocampo na iniciação das crises recorrentes espontâneas (CRE). A teoria das células em cesto dormentes (SLOVITER, 1992; 1994) postula que a perda de células musgosas presentes no hilo do giro denteado induz uma perda da excitação das células em cesto, que por sua vez deixam de inibir as células granulares. Conseqüentemente, tais células passam a apresentar maior saída excitatória. Já a teoria do brotamento das fibras musgosas das células granulares (TAUCK & NADLER, 1985), postula que a perda do alvo das células granulares, provocada pela morte das células musgosas, induz um brotamento axonal nas células granulares em direção à camada granular, criando um circuito recorrente excitatório. É importante ressaltar que uma teoria não exclui a outra, sendo que o aumento da saída excitatória das células granulares pode ocorrer pela ação sinérgica da perda da inibição das células granulares e pelo brotamento recorrente excitatório de seus axônios.

O brotamento das fibras musgosas das células granulares está presente tanto na esclerose mesial temporal (EMT) em humanos (SLOVITER, 1994) como em vários modelos animais de ELT (MELLO et al., 1993). Tal fenômeno envolve a formação de um novo e assimétrico contato sináptico entre o terminal das fibras musgosas e dendritos das células granulares piramidais e interneurônios inibitórios da camada molecular interna. No entanto, o mecanismo e conseqüências funcionais do brotamento das fibras musgosas evoluindo para CRE permanecem por ser definidos. Estudos eletrofisiológicos sobre brotamento das fibras musgosas na camada molecular interna indicam que esta reorganização sináptica resulta em um circuito recorrente excitatório e subsequente hiperexcitabilidade hipocampal (TAUCK & NADLER, 1985). Por outro lado, estudos indicam que a perda das células no hilo

do giro denteado, mais do que outras consequências plásticas provocadas pelo SE, como o brotamento das fibras musgosas, é responsável pela hiperexcitabilidade do hipocampo (ZAPPONE & SLOVITER, 2004).

A partir de alguns modelos experimentais de ELT, tais como *kindling* das estruturas límbicas (como amígdala e hipocampo) e indução de SE por pilocarpina, formulou-se o conceito de que um dano neuronal inicial desencadeia uma cascata de eventos neurobiológicos que levam à ocorrência de CREs (MORIMOTO et al., 2004). Muitos dos mecanismos associados com a patofisiologia da epilepsia, tais como crescimento neural, sinaptogênese ou modulação da transmissão excitatória ou inibitória, são regulados pelo fator neurotrófico derivado do endotélio (BDNF) (BINDER et al., 2001). Insultos no cérebro ou crises convulsivas por si só, estimulam fortemente a expressão de BDNF, especialmente no hipocampo, sugerindo que a superexpressão desta neurotrofina poderia participar do estabelecimento e persistência da hiperexcitabilidade no hipocampo durante a fase latente, promovendo então a epileptogênese (BINDER et al., 2001; JANKOWSKY & PATTERSON, 2001).

Ao longo dos anos, esses experimentos também auxiliaram na quebra do conceito de que células neuronais adultas não poderiam se regenerar. No entanto, sabe-se hoje que, a despeito do que se acreditou por décadas, novos neurônios podem ser integrados a determinadas regiões do encéfalo adulto, a partir de células progenitoras neurais ou células-tronco adultas neurais, em um processo chamado neurogênese (GROSS et al., 2000).

Na maioria dos mamíferos, a neurogênese ocorre ao longo de toda a vida na zona subventricular do ventrículo lateral e na zona subgranular do giro denteado no hipocampo (MING et al., 2005). A neurogênese induzida por crises epiléticas e

também por outros insultos como isquemia cerebral já foi amplamente demonstrada (PARENT et al., 2003).

As mudanças que ocorrem no hipocampo após um insulto epileptogênico levam à hiperexcitabilidade de neurônios do giro denteado, bem como da região CA1. Logo após o SE, a neurogênese hipocampal é caracterizada por aumentos dramáticos na produção de novos neurônios e migração aberrante de uma fração substancial de neurônios progenitores para o hilo e camada molecular (PARENT, 2007; SCHARFMAN & GRAY, 2007). No entanto, esse aumento inicial da neurogênese retorna a níveis basais em cerca de 2 meses após o SE em ratos (JESSBERGER et al., 2007) e atinge baixos níveis 5 meses após SE em modelos animais de TLE, bem como em humanos portadores de tal patologia (HATTIANGADY et al., 2004).

### **1.3 Tratamento das epilepsias**

Há duas principais formas de tratamento das epilepsias em uso corrente na clínica médica: intervenção medicamentosa e cirurgia de ablação. O tratamento farmacológico é o principal tratamento das epilepsias, controlando as crises em torno de 70 a 80% dos casos. A escolha das drogas antiepilépticas se baseia no tipo de crise epilética ou preferencialmente, no tipo de epilepsia ou síndrome epilética que o paciente apresenta (Tabela 1) (ELKIS, 1998). Além disso, devem ser valorizados dados do paciente como idade, sexo, condições físicas e situação socioeconômica. Uma vez determinada a medicação a ser utilizada, deve-se buscar a concentração capaz de determinar o controle das crises epiléticas com o menor número possível de efeitos colaterais (GLAUSER et al., 2006). A principal ação desses fármacos é diminuir a excitabilidade do tecido neural, aumentando o tônus inibitório. Tendo em vista as diferentes causas das epilepsias, o tratamento

farmacológico é variado, sendo que cada droga tem efeito diferenciado em cada caso.

**Tabela 1.** Drogas anticonvulsivantes por tipo de crise\*.

<b>Drogas antiepilépticas</b>	<b>Tipos de crise</b>
<b>Carbamazepina</b>	Parciais e secundariamente generalizadas
<b>Etossuximida</b>	Ausências típicas e atípicas
<b>Fenitoína</b>	Parciais e tônico-clônicas, febris, status
<b>Primidona</b>	Parciais e generalizadas, febris
<b>Valproato</b>	Primeiramente generalizadas, ausências, mioclônicas, parciais
<b>Vigabatrina</b>	Parciais, síndrome de West, esclerose tuberosa
<b>Felbamato</b>	Parciais, generalizadas, síndrome de Lennox-Gastaut
<b>Oxcarbamazepina</b>	Parciais e secundariamente generalizadas
<b>Diazepam</b>	Status, tratamento intermitente de crises febris e surtos de crises
<b>Gapapentina</b>	Adjunto nas epilepsias refratárias, reflexas e surtos de crises
<b>Clonazepan</b>	Mioclônicas, generalizadas tônico-clônica, febril (intermitente)
<b>Lamotrigina</b>	Crises parciais secundariamente generalizadas
<b>Topiramato</b>	Crises parciais, tratamento adjuvante

\*Modificado de Elkis (1998).

Outra forma de tratamento consiste em submeter o paciente a um procedimento cirúrgico para a ressecção do foco epileptogênico. A técnica tem indicação precisa direcionada às epilepsias parciais de origem unifocal, sendo que na cirurgia de pacientes portadores de ELT é o procedimento mais eficaz. Cerca de 70% dos

pacientes ficam livres de todas as crises. Embora haja um consenso de que a lesão estrutural deva ser ressecada, ainda não há total concordância sobre até que ponto as estruturas temporais mesiais devam ser incluídas na ressecção (PALMINI et al., 1998). A ablação de um hipocampo só é bem tolerada se o hipocampo contralateral é normalmente funcional. Assim, além de se assegurar de que as estruturas contralaterais ao foco epilético são capazes de assumir a maior parte das funções mnésicas, é importante também determinar o grau de funcionamento da região a ser retirada para que não ocorram perdas cognitivas (NETO & CENDES, 2000).

#### **1.4 Modelos experimentais de ELT**

Os modelos experimentais de epilepsia têm contribuído para um melhor entendimento da fisiopatologia desta síndrome, principalmente aqueles que reproduzem a ELT humana. Os principais modelos de ELT têm em comum a indução química do chamado *status epilepticus* (SE), situação na qual as crises epiléticas perduram por várias horas (LEITE et al., 2002). As crises prolongadas promovem um desequilíbrio metabólico acompanhado de uma liberação maciça de substâncias excitatórias, resultando na lesão de estruturas cerebrais sensíveis, como por exemplo, o hipocampo. Essa lesão é caracterizada pela morte celular, rearranjo das conexões sinápticas e alterações nas propriedades intrínsecas das células nervosas. Após um período variável de recuperação, chamado “fase latente”, as redes neuronais tornam-se epileptogênicas, isto é, capazes de gerar crises. Essa evolução (insulto inicial - fase latente - aparecimento das crises) também é observada na ELT humana. Muitos pacientes relatam um “evento inicial” - crises prolongadas ou traumatismo craniano - nos primeiros anos de vida, seguindo-se um

período assintomático até a adolescência, quando as crises geralmente têm início (SILVA & CAVALHEIRO, 2004).

Esses modelos experimentais “crônicos” têm possibilitado o conhecimento da sucessão de eventos celulares que culmina com o aparecimento das crises espontâneas. Durante o insulto inicial (SE), inicia-se a ativação de canais iônicos e receptores de membrana, resultando em acúmulo de glutamato e elevação dos níveis de cálcio intracelular (SILVA & CABRAL, 2008). O cálcio intracelular age como um segundo mensageiro, promovendo a ativação de enzimas presentes no citoplasma e modificando a expressão gênica e a síntese protéica. A partir de horas e estendendo-se por dias ou semanas, ocorre a morte neuronal seletiva por necrose e apoptose, paralelamente à ativação de processo inflamatório, neurogênese e reorganização sináptica. Depois de um período latente variável, surgem as CREs que caracterizam a epilepsia crônica (SILVA & CAVALHEIRO, 2004).

Alguns dos modelos experimentais de ELT mais utilizados são o de indução de abrasamento (kindling), injeção de ácido caínico e de pilocarpina. Dentre eles, o modelo da pilocarpina tem sido amplamente utilizado em função de sua facilidade técnica e, principalmente, pelas semelhanças fisiopatológicas encontradas com a ELT humana (CAVALHEIRO, 1995).

A pilocarpina, um alcalóide de origem vegetal extraído das folhas do *Pilocarpus pennatifolius* e do *Pilocarpus jaborandi*, atua como agonista dos receptores muscarínicos colinérgicos e é um potente agente convulsivante. A injeção sistêmica de altas doses de pilocarpina (300 a 380 mg/kg) produz alterações comportamentais e eletrográficas, indicativas de atividade epiléptica duradoura, tanto em ratos (LEITE et al., 1990; TURSKI et al., 1983) quanto em camundongos (CAVALHEIRO et al., 1996; TURSKI et al., 1984). Além disso, a injeção intra-

amigdaliana ou sistêmica, em altas doses, provoca lesões por todo o prosencéfalo (TURSKI et al., 1983).

Poucos minutos após sua administração, os animais começam a apresentar automatismos faciais associados à salivação moderada, acinesia e tremores generalizados. Esses sinais são seguidos de crises motoras límbicas, em que os animais apresentam salivação intensa, clonia das patas dianteiras e, finalmente, queda, podendo em alguns casos chegar a crises tônicas. Estas crises límbicas culminam em SE. Ao final deste período, os animais tornam-se irresponsivos aos estímulos ambientais. Estes episódios caracterizam a fase aguda do modelo (TURSKI et al., 1983).

De forma geral, os animais que apresentam SE após o tratamento com pilocarpina exibem um padrão de lesão cerebral difusa, provocado pelas crises. Tais lesões resultam em alterações neuropatológicas permanentes, detectáveis no córtex olfatório, complexo amigdalóide, tálamo, substância negra, formação hipocampal e neocórtex (SCORZA et al., 2005; TURSKI et al., 1983). O hipocampo é a região cerebral mais sensível aos efeitos neuropatológicos, desencadeados pela ação epileptiforme, resultante da ativação colinérgica (MELLO et al., 1993).

Após um período latente, que ocorre após a recuperação dos animais e é caracterizado pela ausência de alterações comportamentais e eletrográficas, ocorrem as CREs, mimetizando as crises parciais complexas e a patologia associada à esclerose hipocampal e modificação sináptica encontrada em humanos com crises intratáveis de lobo temporal (LEITE et al., 1990; TURSKI et al., 1983). A intensidade das modificações sinápticas, a frequência e a latência para a ocorrência das CREs são determinadas pela duração do SE (LEMOS & CAVALHEIRO, 1995).

Um mecanismo proposto para a propagação das crises induzidas por pilocarpina consiste na ativação inicial das vias colinérgicas muscarínicas, cujos eferentes ativam vias glutamatérgicas. O que reforça a hipótese desse mecanismo é o fato de que é possível bloquear crises induzidas por pilocarpina por meio do pré-tratamento com antagonistas colinérgicos (TURSKI et al., 1984). Ainda, animais deficientes de receptores muscarínicos do subtipo M1 são resistentes aos efeitos convulsivantes de altas doses de PILO (BYMASTER et al., 2003; HAMILTON et al., 1997). No entanto, o tratamento com esses mesmos antagonistas após a instalação do SE não bloqueia as crises. Portanto, a iniciação das crises é realizada por um agonista colinérgico, mas a manutenção por via glutamatérgica (TURSKI et al., 1984).

Tal hipótese é reforçada através de estudos que demonstram que regiões lesadas pelo SE induzido por pilocarpina não são necessariamente aquelas onde existe grande presença de receptores colinérgicos (WASTERLAIN & SHIRASAKA, 1994). Sendo assim, a excitotoxicidade induzida pela excessiva liberação de glutamato seria responsável pelas amplas lesões observadas, culminando, na maioria das vezes, em uma alta mortalidade dos animais. Furtado e cols. (2002) desenvolveram o modelo de indução de SE em ratos pela microinjeção intra-hipocampal de PILO. Tal modelo mimetiza características comportamentais agudas e crônicas, eletroencefalográficas e morfológicas observadas no modelo de administração sistêmica, porém com uma baixa taxa de mortalidade dos animais. Até o momento, não há estudos sobre a padronização do modelo de microinjeção intra-hipocampal de PILO em camundongos.

## 1.5 Papel da inflamação na epilepsia

Diferentes trabalhos têm demonstrado que fatores pró-inflamatórios, como citocinas, quimiocinas, prostaglandinas, fatores do complemento e moléculas de adesão celular, são rapidamente induzidos no cérebro de roedores durante crises epiléticas. Tal fato demonstra que os mecanismos imunes podem ser desencadeados no SNC por convulsões, tornando-se necessária uma investigação mais detalhada dos mecanismos subjacentes a esta ativação e suas consequências funcionais (VEZZANI, 2005).

Em camundongos e ratos adultos, a produção de interleucina (IL)-1 $\beta$  ocorre nos primeiros 60 minutos após a indução de crise nas áreas cerebrais onde a atividade epilética origina e se espalha. O aumento da produção desta citocina tanto por astrócitos quanto pela micróglia tem sido pré-associado à perda neuronal decorrente de crises epiléticas (VEZZANI et al., 2009). Observa-se também um aumento da liberação de fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e IL-6 em fatias de hipocampo de ratos submetidos a crises epiléticas (VEZZANI et al., 2002). Além disso, alguns estudos farmacológicos também demonstraram que a inibição da produção de IL-1 $\beta$ , moléculas de adesão ou de prostaglandina E<sub>2</sub>, diminuem o número de crises e podem retardar a epileptogênese (FABENE et al., 2008; RAVIZZA et al., 2008; VEZZANI & GRANATA, 2005).

A inflamação cerebral induzida pelo SE pode se tornar crônica e ser um importante fator para a epileptogênese, fase que precede o início das CREs. Estudos farmacológicos, bioquímicos e eletrofisiológicos têm demonstrado que a inflamação cerebral contribui para o aumento da excitabilidade da rede neural, aumentando ativação de receptores NMDA, níveis extracelulares de glutamato e, diminuindo a liberação de GABA (VEZZANI et al., 2002; VEZZANI et al., 2009).

## **1.6 Papel da via PI3K/Akt/mTOR sobre as epilepsias**

A fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) é uma enzima que tem sido extensamente estudada pelo seu importante papel em processos de proliferação, crescimento e sobrevivência celular além de eventos ligados a síntese proteica e metabolismo de glicose (CIDADO & PARK, 2012). A PI3K pode ser ativada por diferentes estímulos e sua ativação leva a subsequente ativação da proteína quinase B, também conhecida como Akt (LAINE et al., 2002). A ativação da Akt por sua vez, leva ao estímulo de novos substratos e enzimas tais como a glicogênio sintase quinase-3 (GSK-3) e a proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) (CANTLEY, 2002; FUKAO & KOYASU, 2003).

Apesar dessa via estar associada ao processo inflamatório, ela também participa de outros mecanismos fisiopatológicos. Portanto, é possível que a ativação dessa cascata de sinalização medie disparos neuronais não sincronizados em determinadas regiões do SNC (WONG, 2010).

De fato, diferentes estudos têm demonstrado que inibidores de mTOR apresentam efeitos protetores sobre diferentes modelos animais de epilepsia (WONG, 2010). Em modelo animal de ELT, a administração de ácido caínico induz a ativação de mTOR de forma bifásica. O início da primeira fase de ativação de mTOR ocorre no hipocampo e neocórtex 1 h depois da injeção da droga e termina 24 h após o SE. A segunda fase de ativação ocorre apenas no hipocampo e se inicia 72 h depois do SE, apresenta um pico de ativação entre 5 e 10 dias e se mantém por várias semanas (ZENG et al., 2009). A administração de rapamicina, um inibidor de mTOR, prévia ao ácido caínico reduz várias alterações patológicas induzidas por cainato, tais como morte neuronal, neurogênese e brotamento de fibras musgosas no hipocampo, além de reduzir o desenvolvimento de crises

epiléticas espontâneas. Entretanto, a administração de rapamicina posterior ao SE reduz o brotamento das fibras musgosas e as crises espontâneas, mas não a neurogênese e a morte de neurônios hipocâmpais (ZENG et al., 2009).

O tratamento com rapamicina reduz o número de crises espontâneas recorrentes e a duração dessas crises induzidas por pilocarpina. Entretanto, com a interrupção do tratamento com rapamicina, o número de crises aumenta gradualmente, não diferindo dos animais controle após três semanas, indicando um efeito transiente de rapamicina sobre as crises epiléticas crônicas (HUANG et al., 2010).

Em outro estudo, Huang e cols. (2012), demonstraram que a inibição de mTOR pela rapamicina em ratos imaturos (3-4 semanas) promoveu um aumento da gravidade das crises induzidas por pilocarpina, reduzindo também a dose mínima do agente pró-convulsivante pentilenotetrazol (PTZ) necessária para induzir crises clônicas. Já em ratos adultos, a rapamicina não promoveu alteração significativa na sensibilidade das crises induzidas por pilocarpina e PTZ.

Camundongos com deleção seletiva do gene para “phosphatase and tensin homolog” (PTEN), uma fosfatase que regula a atividade de PI3K, em neurônios granulares do giro denteado do hipocampo e no cerebelo induz o aparecimento de macroencefalia e convulsões. Esses neurônios têm um aumento na ativação de Akt, de mTOR e no tamanho de seu corpo celular (BACKMAN et al., 2001; KWON et al., 2001; ZHOU et al., 2009). De forma interessante, o tratamento crônico desses animais knockout (KO) condicionais com CCI-779 ou rapamicina, ambos inibidores de mTOR, reduz a frequência de crises convulsivas, a hipertrofia de neurônios granulares no giro denteado e a mortalidade (KWON et al., 2001; ZHOU et al., 2009).

Em outro estudo, Tokuda e cols. (2011) demonstraram que camundongos com uma mutação que promove um aumento de ativação de Akt3 têm maior susceptibilidade a crises induzidas por PTZ e elétricas, além de apresentarem crises espontâneas esporádicas. Esses animais apresentavam aumento do tamanho do encéfalo e neurônios hipocâmpais ectópicos. Por outro lado, os animais deficientes em Akt3 apresentam um elevado limiar para crises convulsivas. Já no estudo de Zhang e Wong (2012), foi demonstrado que as crises induzidas por PTZ promoveram uma ativação imediata, mas transitória de mTOR, o que não foi observado cronicamente, sugerindo um envolvimento limitado de mTOR sobre as crises e epileptogênese.

### **1.7 Papel da PI3K sobre a excitabilidade neuronal**

Fármacos utilizados para o tratamento de epilepsias também parecem possuir mecanismos dependentes de ativação de PI3K. Em um modelo *in vitro*, Lee e cols. (2005) demonstraram que a carbamazepina aumenta a ativação do transportador de aminoácidos excitatórios 3 (EAAT3) em oócitos transfectados e em células de glioma C6 que expressam constitutivamente o transportador. LY294002, um inibidor de PI3K, inibe tanto a ativação do transportador, quanto a captação de glutamato nesse modelo (LEE et al., 2005).

Outros fármacos, como o ácido valpróico, podem ativar Akt (CRESON et al., 2009), apesar da importância desse mecanismo sobre o efeito anticonvulsivante não estar bem estabelecido. O tratamento de ratos com fenitoína por um mês também aumenta a expressão de Akt (MARIOTTI et al., 2010).

Considerando a participação da via PI3K/Akt/mTOR em mecanismos de sobrevivência, proliferação e crescimento celular, sugere-se o envolvimento dessa

via frente a insultos no SNC. Assim, o estudo da participação da enzima PI3K nas epilepsias poderia fornecer informações relevantes sobre a participação desses mecanismos no contexto de um dano cerebral decorrente de um insulto excitotóxico, como o SE.

## REFERENCIAS

ADAMS, B.; SAZGAR, M.; OSEHOB, P.; VAN DER ZEE, C.E.; DIAMOND, J.; FAHNESTOCK, M.; RACINE, R.J. Nerve growth factor accelerates seizure development, enhances mossy fiber sprouting, and attenuates seizure-induced decreases in neuronal density in the kindling model of epilepsy. *J Neurosci.* v.17, p.5288-5296, 1997.

ARISI, G.M.; GARCIA-CAIRASCO, N. Doublecortin-positive newly born granule cells of hippocampus have abnormal apical dendritic morphology in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Brain Res**, v.1165:126-134, 2007.

BABB, T.L.; KUPFER, W.R.; PRETORIOUS, J.K.; CRANDALL, P.H.; LEVESQUE, M.F. Synaptic reorganization by mossy fibers in human epileptic fascia dentata. **Neuroscience**, v.42, p.351-363, 1991.

BACKMAN, S.A.; STAMBOLIC, V.; SUZUKI, A.; HAIGHT, J.; ELIA, A.; PRETORIUS, J.; TSAO, M.S.; SHANNON, P.; BOLON, B.; IVY, G.O.; MAK, T.W. Deletion of Pten in mouse brain causes seizures, ataxia and defects in soma size resembling Lhermitte-Duclos disease. **Nat Genet**, v. 29, p.396-403, 2001.

BAUER, S.; CEPOK, S.; TODOROVA-RUDOLPH, A.; NOWAK, M.; KÖLLER, M.; LORENZ, R.; OERTEL, W.H.; ROSENOW, F.; HEMMER, B.; HAMER, H.M. Etiology and site of temporal lobe epilepsy influence postictal cytokine release. **Epilepsy Res**, v. 86, p. 82-88, 2009.

BINDER, D.K.; CROLL, S.D.; GALL, C.M.; SCHARFMAN, H.E. BDNF and epilepsy: too much of a good thing? **Trends Neurosci**, v. 24, p. 47- 53, 2001.

BORGES, M.A.; LI, M.L.; GUERREIRO, C.A.; YACUBIAN, E.M.; CORDEIRO, J.A.; TOGNOLA, W.A.; BORGES, A.P.; ZANETTA, D.M. Urban prevalence of epilepsy: populational study in Sao Jose do Rio Preto, a medium-sized city in Brazil. **Arq Neuropsiquiatr**, v.62, p.199-204, 2004.

BYMASTER, F.P.; CARTER, P.A.; YAMADA, M.; GOMEZA, J.; WESS, J.; HAMILTON, S.E.; NATHANSON, N.M.; MCKINZIE, D.; FELDER, C.C. Role of specific muscarinic receptor subtypes in cholinergic parasympathomimetic responses, in vivo phosphoinositide hydrolysis, and pilocarpine-induced seizure activity. **EJN**, v. 17, p. 1403-1410, 2003.

CANTLEY, L.C. The phosphoinositide 3-kinase pathway. **Science.**, v.31, p.1655-1657, 2002.

CAVALHEIRO, E.A.; FERNANDES, M.J.; TURSKI, L.; MAZZACORATTI, G. Neurochemical changes in the hippocampus of rats with spontaneous recurrent seizure. **Epilepsy Res Suppl.**, v.9, p.239-248, 1992.

CAVALHEIRO, E.A.; FERNANDES, M.J.; TURSKI, L.; NAFFAH-MAZZACORATTI, M.G. Spontaneous recurrent seizures in rats: amino acids and monoamine in the hippocampus. **Epilepsia**, v.35, p. 1-11, 1994.

CAVALHEIRO E.A. The pilocarpine model of epilepsy. **Ital J Neurol Sci**, v.16, p.33-37, 1995.

CAVALHEIRO, E.A.; SANTOS, N.F.; PRIEL, M.R. The pilocarpine of epilepsy in mice. **Epilepsia**, v.37, p.1015-1019, 1996.

CHOI, E.K.; JANG, H.C.; KIM, J.H.; KIM, H.J.; KANG, H.C.; PAEK, Y.W.; LEE, H.C.; LEE, S.H.; OH, W.M.; KANG, I.C. Enhancement of cytokine-mediated NF-kappaB activation by phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors in monocytic cells. **Int Immunopharmacol**, v. 6, p.908-915, 2006.

CIDADO, J.; PARK, B.H. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway for breast cancer therapy. **J Mammary Gland Biol Neoplasia.**, v.17, p.205-216, 2012.

COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY OF THE INTERNATIONAL LEAGUE AGAINST EPILEPSY. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndrome. **Epilepsia**, v.30, p.389-399, 1989.

COMMISSION ON EPIDEMIOLOGY AND PROGNOSIS, ILAE. Guidelines for epidemiologic studies on epilepsy. **Epilepsia**, v. 34, p. 592-596, 1993.

CRESON, T.K.; YUAN, P.; MANJI, H.K.; CHEN, G. Evidence for involvement of ERK, PI3K and RSK in induction of Bcl-2 by valproate. **J Mol Neurosci**, v. 37, p.123-34, 2009.

CROLL, S.D.; SURI, C.; COMPTON, D.L.; SIMMONS, M.V.; YANCOPOULOS, G.D.; LINDSAY, R.M.; WIEGAND, S.J.; RUDGE, J.S.; SCHARFMAN, H.E. Brain-derived neurotrophic factor transgenic mice exhibit passive avoidance deficits, increa

sed seizure severity and in vitro hyperexcitability in the hippocampus and entorhinal cortex. **Neuroscience**, v.93, p.1491-1506, 1999.

COMMISSION ON CLASSIFICATION AND TERMINOLOGY OF THE INTERNATIONAL LEAGUE AGAINST EPILEPSY. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. **Epilepsia**, v.22, p.489-501, 1981.

DE OLIVEIRA, A.C.; CANDELARIO-JALIL, E.; BHATIA, H.S.; LIEB, K.; HULL, M.; FIEBICH, B.L. Regulation of prostaglandin E2 synthase expression in activated primary rat microglia: evidence for uncoupled regulation of mPGES-1 and COX-2. **Glia**, v.56, p.844-855, 2008.

DERE, E.; HUSTON, J.P.; SILVA, M.A.S. The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. **Neurosci Biobehav Rev.**, v.31, p.673-704, 2007.

DE SARRO, G.; RUSSO, E.; FERRERIA, G.; GIUSEPPEA, B.; FLOCCOA, M.A.; DI PAOLA, E.D.; DE SARRO, A. Seizure susceptibility to various convulsant stimuli of knockout interleukin-6 mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.77, 761-766, 2004.

DE SIMONI, M.G.; PEREGO, C.; RAVIZZA, T. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. **Eur J Neurosci**, v.12, p.2623-2633, 2000.

DHOTE, F.; PEINNEQUIN, A.; CARPENTIER, P.; BAILLE, V.; DELACOUR, C., FOQUIN, A.; LALLEMENT, G.; DORANDEU, F.. Prolonged inflammatory gene response following soman-induced seizures in mice. **Toxicology**, v.238, p. 166-176, 2007.

DODART, J.C.; MATHIS, C.; UNGERER, A. Scopolamine-induced deficits in a two-trial object recognition task in mice. **Neuroreport.**, v. 24, p.1173-1178, 1997.

DUBÉ, C.M.; RAVIZZA, T.; HAMAMURA, M.; ZHA, Q.; KEEBAUGH, A.; FOK, K.; ANDRES, A.M.; NALCIOGLU, O.; OBENAU, A.; ANNAMARIA VEZZANI, A.; BARAM, T.Z. Epileptogenesis provoked by prolonged experimental febrile seizures: mechanisms and biomarkers. **J Neurosci.**, v.30, p.7484-7494, 2010.

ELKIS, L.C. Farmacologia das drogas antiepilépticas. In: DA COSTA, J.C.; PALMINI, A.; YACUBIAN, E.M.T.; CAVALHEIRO, E. **Fundamentos neurobiológicos das epilepsias: aspectos clínicos e cirúrgicos**. São Paulo: Lemos, p.721-745, 1998.

ENGEL, J.J. Epileptic syndromes. In: **Seizure and Epilepsy**. Philadelphia: F.A. Davis Company, p.340-379, 1989.

ENGEL, J.J. Concepts of epilepsy. **Epilepsia**, v.36, p.23-29, 1995.

ENNACEUR, A.; DELACOUR, J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. **Behav Brain Res**, v.31, 47-59, 1988.

FABENE, P. F.; MORA, G.N.; MARTINELLO, M.; ROSSI, B.; MERIGO, F.; OTTOBONI, L.; BACH, S.; ANGIARI, S.; BENATI, D.; CHAKIR, A.; ZANETTI, L.; SCHIO, F.; OSCULATI, A.; MARZOLA, P.; NICOLATO, E.; HOMEISTER, J.W.; XIA, L.; LOWE, J.B.; MCEVER, R.P.; OSCULATI, F.; SBABATI, A.; BUTCHER, E.C.; CONSTANTIN, G. A role for leukocyte-endothelial adhesion mechanisms in epilepsy. **Nat Med**, v.14, p.1377-1383, 2008.

FERNANDES, J.G.; SCHIMIDT, I.; MONTE, T.L.; TOZZI, S.; SANDER, J.W.A.S. Prevalence of Epilepsy: the Porto Alegre study. **Epilepsia**, v.33, p.132, 1992.

FERNANDES, P.T.; SALGADO, P.C.B.; NORONHA, A.L.; DE BOER, H.M.; PRILIPKO, L.; SANDER, J.W.; LI, L.M. Epilepsy stigma perception in an urban area of a limited-resource country. **Epilepsy Behav**, v. 11, p.25-32, 2007.

FISCHER, R.S.; BOAS, W.V.E.; BLUME, W.; ELEGER, C.; GENTON, P.; LEE, P.; ENGEL, J.J. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v.46, p.470-472, 2005.

FUKAO, T.; KOYASU, S. PI3K and negative regulation of TLR signaling. **Trends Immunol**, v.24, p.358-363, 2003.

FURTADO, M.A.; BRAGA, G.K.; OLIVEIRA, J.A.C.; DEL VECCHIO, F.; GARCIA-CAIRASCO, N. Behavioral, morphologic, and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine. **Epilepsia**, v.43, p.37-39, 2002.

GLAUSER, T.; BEN-MENACHEM, E.; BOURGEOIS, B.; CNAAN, A.; CHADWICK, D.; GUERREIRO, C.; KALVIAINEN, R.; MATTSON, R.; PERUCCA, E.; TOMSON, T. ILAE treatment guidelines: evidence-based analysis of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. **Epilepsia**, v.47, p.1094-1120, 2006.

GOMES, M. D.; MDA, A.; ZEITOUNE, R.G.; KROPF, L. A.; BEECK, E.; EDA, S. A house-to-house survey of epileptic seizures in an urban community of Rio de Janeiro, Brazil. **Arq Neuropsiquiatr**, v.60, p. 708-711, 2002.

GUEDDES, J.W.; COTMAN, C.W. Plasticity in hippocampal excitatory amino acids receptors in Alzheimer disease. **Neurosci Res**, v.3, p. 672-678, 1986.

GUERREIRO, C.A.M.; GUERREIRO, M.M. **Epilepsia: o paciente otimamente controlado**. São Paulo. Lemos Editorial. 1999.

GUERREIRO, C.A.M.; GUERREIRO, M.M.; CENDES, F.; LOPES-CENDES, I. Considerações Gerais. In: **Epilepsia**. 3ª Edição. São Paulo. Lemos Editorial, p. 1-10, 2000.

GUILLET, B.A.; VELLY, L.J.; CANOLLE, B.; MASMEJEAN, F.M.; NIEOULLON, A.L.; PISANO, P. Differential regulation by protein kinases of activity and cell surface expression of glutamate transporters in neuron-enriched cultures. **Neurochem Int**, v.46, p.337-346, 2005.

GOMES, M.M. Epidemiologia: Distribuição, Fatores de Risco e Considerações Prognósticas. In: **Epilepsia**. 3ª Edição. São Paulo. Lemos Editorial, p.11-21, 2000.

GROSS, C.G. Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. **Nat Rev Neurosci**, v.1, p.67-73, 2000.

HAGG, T. Molecular regulation of adult CNS neurogenesis: an integrated view. **Trends Neurosci**, v.28, p.589-595, 2005.

HAMILTON, S.E., LOOSE, M.D., QI, M., LEVEY, A.I., HILLE, B., MCKNIGHT, G.S., IDZERDA, R.L. & NATHANSON, N.M. Disruption of the M1 receptor gene ablates muscarinic receptor-dependent M current regulation and seizure activity in mice. **Proc. Natl Acad. Sci. USA**, v.94, p.13311-13316, 1997.

HATTIANGADY, B.; RAO, M.S.; SHETTY, A.K. Chronic temporal lobe epilepsy is associated with severely declined dentate neurogenesis in the adult hippocampus. **Neurobiol Dis**, v.17, p.473-490, 2004.

HAUSER, W.A. Recent developments in the epidemiology of epilepsy. **Acta Neurol Scand**, v.6, p.419-429, 1995.

HAUSER, W.A.; KURLAND, L.T. The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1937. **Epilepsia**, v.16, p.1-66, 1975.

HE, X.P.; KOTLOSKI, R.; NEF, S.; LUIKART, B.W.; PARADA, L.F.; MCNAMARA, J.O. Conditional deletion of TrkB but not BDNF prevents epileptogenesis in the kindling model. **Neuron**, v.43, p.31-42, 2004.

HOWLETT, E.; LIN, C.C.; LAVERY, W.; STERN, M. A PI3-kinase-mediated negative feedback regulates neuronal excitability. **PLoS Genet**, v.4, e1000277, 2008.

HUANG, X.; MCMAHON, J.; YANG, J.; SHIN, D.; HUANG, Y. Rapamycin down-regulates KCC2 expression and increases seizure susceptibility to convulsants in immature rats. **Neuroscience**, v.219, p.33-47, 2012.

HUANG, X.; ZHANG, H.; YANG, J.; WU, J.; MCMAHON, J.; LIN, Y.; CAO, Z.; GRUENTHAL, M.; HUANG, Y. Pharmacological inhibition of the mammalian target of rapamycin pathway suppresses acquired epilepsy. **Neurobiol Dis** v.40, p.193-199, 2010.

HULKKONEN, J.; KOSKIKALLIO, E.; RAINESALO, S.; KERÄNEN, T.; HURME, M.; PELTOLA, J. The balance of inhibitory and excitatory cytokines is differently regulated in vivo and in vitro among therapy resistant epilepsy patients. **Epilepsy Res.**, v.59, p.199-205, 2004.

JANKOWSKY, J.L.; PATTERSON, P.H. The role of cytokines and growth factors in seizures and their sequelae. **Prog. Neurobiol**, v.63, p. 125-149, 2001.

JESSBERGER, S.; ZHAO, C.; TONI, N.; CLEMENSON, G.D. Jr.; LI, Y.; GAGE, F.H. Seizure-associated, aberrant neurogenesis in adult rats characterized with retrovirus-mediated cell labeling. **JNeurosci**, v.27, p.9400-9407, 2007.

JOHNSON, E.A.; KAN, R.K. The acute phase response and soman-induced status epilepticus: temporal, regional and cellular changes in rat brain cytokine concentrations. **J Neuroinflammation**, v.7, p.40-49, 2010.

KRIZMAN-GENDA, E.; GONZALEZ, M.I.; ZELENIAIA, O.; ROBINSON, M.B. Evidence that Akt mediates platelet-derived growth factor-dependent increases in activity and surface expression of the neuronal glutamate transporter, EAAC1. **Neuropharmacology**, v.49, p.872-882, 2005.

KWON, C.H.; ZHU, X.; ZHANG, J.; KNOOP, L.L.; THARP, R.; SMEYNE, R.J.; EBERHART, C.G.; BURGER, P.C.; KWON, C.H.; ZHU, X.; ZHANG, J.; KNOOP, L.L.; THARP, R.; SMEYNE, R.J.; EBERHART, C.G.; BURGER, P.C.; BAKER, S.J. Pten regulates neuronal soma size: a mouse model of Lhermitte-Duclos disease. **Nat Genet**, v. 29, p.404-411, 2001.

LAINE, J.; KUNSTLE, G.; OBATA, T.; NOGUCHI, M. Differential regulation of Akt kinase isoforms by the members of the TCL1 oncogene family. **J Biol Chem**, v.277, p.3743-3751, 2002.

LEE, G.; HUANG, Y.; WASHINGTON, J.M.; BRIGGS, N.W.; ZUO, Z. Carbamazepine enhances the activity of glutamate transporter type 3 via phosphatidylinositol 3-kinase. **Epilepsy Res**, v.66, p.145-53, 2005.

LEITE, J.P.; BORTOLOTTI, Z.A.; CAVALHEIRO, E.A. Spontaneous recurrent seizures in rats: and experimental model of partial epilepsy. **Neurosci Biobehav Ver**, v.14, p.511-517, 1990.

LEITE, J.P.; N. GARCIA-CAIRASCO, N.; CAVALHEIRO, E.A. **Epilepsy Res**, v.50, p.93-103, 2002.

LEMOS, T.; CAVALHEIRO, E. A. Suppression of pilocarpine-induced status epilepticus and the late development of epilepsy in rats. **Exp Brain Res**, v. 102, p. 423-428, 1995.

MARINO JR, R.; CUKIERT, A.; PINHO, E. Epidemiological aspects of epilepsy in Sao Paulo: a prevalence study. **Arq Neuropsiquiatr**, v.44, p.243-54, 1986.

MARIOTTI, V.; MELISSARI, E.; AMAR, S.; CONTE, A.; BELMAKER, R.H.; AGAM, G.; PELLEGRINI, S. Effect of prolonged phenytoin administration on rat brain gene expression assessed by DNA microarrays. **Exp Biol Med (Maywood)**, v.235, p.300-310, 2010.

MCNAMARA, J.O. Cellular and molecular basis of epilepsy. **J Neurosci**, v. 14, p. 3413-25, 1994.

MELDRUM, B.S.; BRUTON, C.J. EPILEPSY. In: **Greenfiels neuropathology**. 5<sup>th</sup> ed. Oxford, England: Oxford University Press, p. 1246-1283, 1992.

MELLO, L.E.; CAVALHEIRO, E.A.; TAN, A.M.; KUPFER, W.R.; PRETORIUS, J.K.; BABB, T.L.; FINCH, D.M. Circuit mechanisms of seizures in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. **Epilepsia**, v.34, p.985-995, 1993.

MINAMI, M.; KURASHI, Y.; SATOH, M. Effects of kainic acid on messenger RNA levels of IL-1 beta, IL-6, TNF alpha and LIF in the rat brain. **Biochem Biophys Res Commun**, v.176, p.593-598, 1991.

MING, G.L.; SONG, H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. **Annu Rev Neurosci**, v.28, p.223-250, 2005.

MINGHETTI, L.; AJMONE-CAT, M.A.; DE BERARDINIS, M.A.; DE SIMONE, R., Microglial activation in chronic neurodegenerative diseases: roles of apoptotic neurons and chronic stimulation. **Brain Res Rev**, v.48, p.251-256, 2005.

MONICK, M.M.; ROBEFF, P.K.; BUTLER, N.S.; FLAHERTY, D.M.; CARTER, A.B.; PETERSON, M.W.; HUNNINGHAKE, G.W. Phosphatidylinositol 3-kinase activity negatively regulates stability of cyclooxygenase 2 mRNA. **J Biol Chem**, 277, p.2992-3000, 2002.

MORIMOTO K, FAHNESTOCK M, RACINE RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: rewiring the brain. **Prog Neurobiol**, v.73, p.111-160. 2004.

NDOYE NF, SOW AD, DIOP AG, SESSOUMA B, SÉNE-DIOUF F, BOISSY L, WONE I, TOURÉ K, NDIAYE M, DE BOER H, EN GEL J, MANDLHATE C, MEINARDI H, PRILIPKO L, SANDER J WAS. Prevalence of epilepsy its treatment gap and knowledge, attitude and practice of its population in sub-urban Senegal an ILA E/IBE/WHO study. **Seizure**, v. 14, p.106-111, 2005.

NETO, E.P.; CENDES, F. Tratamento cirúrgico. In: GUERREIRO, C.A.M.; GUERREIRO, M.M.; CENDES, F.; LOPES-CENDES, I. **Epilepsia**. São Paulo: Lemos Editorial, p. 379-393, 2000.

NOWAK, M.; BAUER, S.; HAAG, A.; CEPOK, S.; TODOROVA-RUDOLPH, A.; TACKENBERG, B.; NORWOOD, B.; OERTEL, W.H.; ROSENOW, F.; HEMMER, B.; HAMER, H.M. Interictal alterations of cytokines and leukocytes in patients with active epilepsy. **Brain Behav. Immun.**, v.25, p.423-428, 2010.

PALMINI, A.; DA COSTA, J.; CALCAGNOTTO, M.E.; MARTINEZ, J.V.L. Avaliação pré-cirúrgica de pacientes com epilepsia parcial refratária. In: DA COSTA, J.C.; PALMINI, A.; YACUBIAN, E.M.T.; CAVALHEIRO, E.A. **Fundamentos neurobiológicos das epilepsias: aspectos clínicos e cirúrgicos**. São Paulo: Lemos Editorial, v.2. p.857, 1998.

PARENT, J.M.; YU, T.W.; LEIBOWITZ, R.T.; GESCHWIND, D.H.; SLOVITER, R.S.; LOWENSTEIN, D.H. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. **J Neurosci**, v.17, p.3727-3738, 1997.

PARENT, J.M. Injury-induced neurogenesis in the adult mammalian brain. **Neuroscientist**, v. 9, p.261-272, 2003.

PARENT, J.M. Adult neurogenesis in the intact and epileptic dentate gyrus. **Prog Brain Res**, v.163, p.529-540., 2007.

PELTOLA, J.; PALMIO, J.; KORHONEN, L.; SUHONEN, J.; MIETTINEN, A.; HURME, M.; LINDHOLM, D.; KERÄNEN, T. Interleukin-6 and interleukin-1 receptor antagonist in cerebrospinal fluid from patients with recent tonic-clonic seizures. **Epilepsy Res.**, v.41, p.205-211. 2000.

PITKÄNEN, A.; SUTULA, T.P. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. **Lancet Neurol.**, v.1, p.173-181, 2002.

PLACENCIA, M.; SUAREZ, J.; CRESPO, F.; SANDER, J.W.; SHORVON, S.D.; ELLISON, R.H. Epileptic seizures in an Andean region of Ecuador. Incidence and prevalence and regional variation. **Brain**, v.115, p.771-782, 1992.

RACINE, R.J.; Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. **Electroencephalogr Clin Neurophysiol.**, v.32, p.281-294, 1972.

RAVIZZA, T.; NOÉ, F.; ZARDONI, D.; VAGHI, V.; SIFRINGER, M.; VEZZANI, A. Interleukin Converting Enzyme inhibition impairs kindling epileptogenesis in rats by blocking astrocytic IL-1beta production. **Neurobiol Dis**, v.31, p.327-333, 2008.

ROGAWSKI, M.A.; PORTER, R.J. Antiepileptic drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. **Pharmacol Rev**, v. 42, p.223-286, 1990.

SACONATO, H.; PRADO, G.F.; PUGA, M.E.S.; ATALLAH, A.N. Oxcarbazepine for refractory epilepsy: systematic review of the literature. **Sao Paulo Med J.**, v.127, p.150-159, 2009.

SANDER, J.W.A.S. The epidemiology of epilepsy revisited. **Curr Opin Neurol**, v. 16, p.165-170, 2003.

SANDER, J.W.A.S.; SHORVON, S.D. Epidemiology of the epilepsies. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v.61, p.433-443, 1996.

SCHARFMAN, H.E.; GRAY, W.P. Relevance of seizure-induced neurogenesis in animal models of epilepsy to the etiology of temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v.48, p.33-41, 2007.

SCORZA, F.A.; ARIDA, R.M.; CYSNEIROS, R.M.; SCORZA, C.A.; ALBUQUERQUE, M.; CAVALHEIRO, E.A. Estudo qualitativo da formação hipocampal de animais hipertensos com epilepsia. **Arq Neuropsiquiatr**, v.63, p.283-288, 2005.

SCOTT, R.A.; LHATOO, S.D.; SANDER, J.W. The treatment of epilepsy in developing countries: where do we go from here? **Bull World Health Organ**, v.79, p.344-351, 2001.

SENANAYAKE, N.; ROMAN, G.C. Epidemiology of epilepsy in developing countries. **Bull World Health Organ**, v.71, p.247-58, 1993.

SILVA, A.V.; CABRAL, F.R. Ictogênese, epileptogênese e mecanismo de ação das drogas na profilaxia e tratamento da epilepsia. **J Epilepsy Clin Neurophysiol**, v. 14, p.39-45, 2008.

SILVA, A.V.; CAVALHEIRO, E.A. Epilepsia: uma janela para o cérebro. MultiCiência. **Revista Multidisciplinar nos Centros e Núcleos da Unicamp**, 2004.

SIMONATO, M.; TONGIORGI, E.; KOKAIA, M. Angels and demons: neurotrophic factors and epilepsy. **Trends Pharmacol Sci**, v. 27, p.631-638, 2006.

SLOVITER, R.S. Possible functional consequences of synaptic reorganization in the dentate gyrus of kainate-treated rats. **Neurosci Lett**, v.137, p.91-96, 1992.

SLOVITER, R.S. On the relationship between neuropathology and pathophysiology in the epileptic hippocampus of humans and experimental animals. **Hippocampus**, v.4, p.250-253, 1994.

TAUCK, D.L.; NADLER, J.V. Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. **J Neurosci**, v.5, p.1016-1022, 1985.

TOKUDA, S.; MAHAFFEY, C.L.; MONKS, B.; FAULKNER, C.R.; BIRNBAUM, M.J.; DANZER, S.C.; FRANKEL, W.N. A novel Akt3 mutation associated with enhanced kinase activity and seizure susceptibility in mice. **Hum Mol Genet**, v.20, p.988-99, 2011.

TREMBLAY, E.; BEM-ARI, Y. Usefulness of parenteral kainic acid as a model of temporal lobe epilepsy. **Rev Electroencephalogr Neurophysiol Clin**, v.14, p. 241-246, 1984.

TURSKI, W.A.; CAVALHEIRO, E.A.; BARTOLOTTA, Z.A., MELLO, L.E.; SCHWARZ, M.; TURSKI, L. Seizures produced by pilocarpine in mice: A behavioural, electroencephalographic and morphological analysis. **Brain Res**, v.321, p.237-253, 1984.

TURSKI, W.A.; CAVALHEIRO, E.A.; SCHWARZ, M.; CZUCSWAR, S.J.; KLEINROK, Z.; TURSKI, L. Limbic seizures produced pilocarpine in rats: A behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. **Behav Brain Res**, v.9, n.3, p.315-35, 1983.

VAN DER ZEE, C.E.; RASHID, K.; LE, K.; MOORE, K.A.; STANISZ, J.; DIAMOND, J.; RACINE, R.J.; FAHNESTOCK, M. Intraventricular administration of antibodies to nerve growth factor retards kindling and blocks mossy fiber sprouting in adult rats. **J Neurosci.**, v.15, p.5316-5323, 1995.

VEZZANI, A. Inflammation and Epilepsy. **Epilepsy Curr**, v.5, p.1-6, 2005.

VEZZANI, A.; AUVIN, S.; RAVIZZA, T.; ARONICA, E. Glia-neuron interactions in epilepsy: Inflammatory mediators. **Epilepsia**, v.51, p.55, 2010.

VEZZANI, A.; BALOSSO, S.; ARONICA, E.; RAVIZZA, T. Basic mechanisms of status epilepticus due to infection and inflammation. **Epilepsia**, v.50, p.56-57, 2009.

VEZZANI, A.; BALOSSO, S.; RAVIZZA, T. The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. **Brain Behav Immun.**, v.22, p.797-803, 2008.

VEZZANI, A.; ARONICA, E.; MAZARATI, A.; PITTMAN, Q.J. Epilepsy and brain inflammation. **Exp Neurol.**, 2011a.

VEZZANI, A.; FRENCH, J.; BARTFAI, T.; BARAM, T.Z. The role of inflammation in epilepsy. **Nat Rev Neuro**, v.7, p.31-40, 2011b.

VEZZANI, A.; GRANATA, T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. **Epilepsia**, v.46, p.1724-1743, 2005.

VEZZANI, A.; MONETA, D.; CONTI, M.; RICHICHI, C.; RAVIZZA, T.; DE LUIGI, A.; DE SIMONI, M.G.; SPERK, G.; ANDELL-JONSSON, S.; LUNDKVIST J, IVERFELDT K, BARTFAI, T. Powerful anticonvulsant action of IL1 receptor antagonist on intracerebral injection and astrocytic overexpression in mice. **Proc Natl Acad Sci USA.**, v.97, P.11534-11539, 2000.

VEZZANI, A.; MONETA, D.; RICHICHI, C.; ALIPRANDI, M.; BURROWS, S.J.; RAVIZZA, T.; PEREGO, C.; DE SIMONI, M.G. Functional role of inflammatory cytokines and antiinflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. **Epilepsia**, v.43, p.30-35, 2002.

WASTERLAIN, C. G.; SHIRASAKA, Y. Seizures, brain damage and brain development. **Brain Dev**, v.16, n.4, p.279-95, 1994.

WONG, M. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibition as a potential antiepileptogenic therapy: From tuberous sclerosis to common acquired epilepsies. **Epilepsia**, v.51, p.27-36, 2010.

WONG, M.; ESS, K.C.; UHLMANN, E.J.; JANSEN, L.A.; LI, W.; CRINO, P.B.; MENNERICK, S.; YAMADA, K.A.; GUTMANN, D.H. Impaired glial glutamate

transport in a mouse tuberous sclerosis epilepsy model. **Ann Neurol**, v. 54, p. 251-256, 2003.

WU, X.; KIHARA, T.; AKAIKE, A.; NIIDOME, T.; SUGIMOTO, H. PI3K/Akt/mTOR signaling regulates glutamate transporter 1 in astrocytes. **Biochem Biophys Res Commun**, v.393, p.514-8, 2010.

XU B, MICHALSKI B, RACINE RJ, FAHNESTOCK M. The effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) administration on kindling induction, Trk expression and seizure-related morphological changes. **Neuroscience.**, v.126, p.521-531, 2004.

ZAPPONE, C.A.; SLOVITER, R.S. Translamellar disinhibition in the rat hippocampal dentate gyrus after seizure-induced degeneration of vulnerable hilar neurons. **J Neurosci**, v.24, p.853-864, 2004.

ZENG, L.H.; RENSING, N.R.; WONG, M. The mammalian target of rapamycin signaling pathway mediates epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy. **J Neurosci**, v.29, p.6964–6972, 2009.

ZHANG, B.; WONG, M. Pentylentetrazole-induced seizures cause acute, but not chronic, mTOR pathway activation in rat. **Epilepsia**, v.53, p.506-511, 2012.

ZHOU, J.; BLUNDELL, J.; OGAWA, S.; KWON, C.H.; ZHANG, W.; SINTON, C.; POWELL, C.M.; PARADA, L.F. Pharmacological inhibition of mTORC1 suppresses anatomical, cellular, and behavioral abnormalities in neural-specific Pten knock-out mice. **J Neurosci**, v. 29, p.1773-83, 2009.