

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
MESTRADO EM NEUROCIÊNCIAS

ERIKA MACHADO VIANA

FATORES NEUOTRÓFICOS NA EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL

BELO HORIZONTE – MINAS GERAIS

2019

ERIKA MACHADO VIANA

FATORES NEUOTRÓFICOS NA EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção de título de Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira

Co-orientadora: Dra. Érica Vieira

BELO HORIZONTE – MINAS GERAIS

2019

043 Viana, Erika Machado.
Fatores neurotróficos na epilepsia de lobo temporal [manuscrito] / Erika Machado Viana. – 2019.

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

Orientador: Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira. Co-orientadora: Dra. Érica Leandro Marciano Vieira.

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

1. Neurociências. 2. Epilepsia do Lobo Temporal. 3. Fatores de Crescimento Neural. 4. Fator Neurotrófico Derivado do Encéfalo. 5. Fatores Neurotróficos Derivados de Linhagem de Célula Glial. I. Teixeira, Antônio Lúcio. II. Vieira, Érica Leandro Marciano. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612.8

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

Aos pacientes, com quem tanto aprendi e continuo aprendendo.

Aos meus mestres na Neurologia, Prof. Dr. José Teotônio de Oliveira, Prof. Dr. Francisco Cardoso e Prof. Dr. André Palmi.

À equipe de Neurologia do HC/UFMG pelo convívio enriquecedor, e em especial à Prof.^a Dra. Sarah Camargos pela amizade e apoio, e à Laura pelo incentivo.

À Tereza, que me acolheu como uma filha, com carinho e paciência infinitos.

À minha família, por serem a minha base, pelo amor e firme presença em minha vida.

À Rita, por ter trazido tanta alegria e doçura para nossas vidas, e à Gabriela, que mesmo longe, sempre esteve em meu coração.

À vida, por estar sempre se renovando e propiciando novas oportunidades de crescimento.

A todos que prezam pela verdade e pelo caráter.

*"Segue o teu destino...
Rega as tuas plantas;
Ama as tuas rosas.
O resto é a sombra de árvores alheias."*

Fernando Pessoa

Sumário

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	12
1.1. A Epilepsia	13
1.1.1. Definições, Classificação e Síndromes.....	14
1.1.2. Mecanismos Neurobiológicos das Crises Epilépticas.....	17
1.1.3. Epilepsia do Lobo Temporal	19
1.1.4. Mecanismos neurobiológicos da ELT	21
1.2. Os Fatores Neurotróficos	23
1.2.1. Famílias de Fatores Neurotróficos	23
1.2.2. O BDNF	25
1.2.3. O GDNF.....	27
1.3. Epilepsia e Fatores Neurotróficos	28
5 - DISCUSSÃO	50
7 – REFERÊNCIAS	55
Anexos.....	63

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ESTUDOS QUE INVESTIGARAM OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE BDNF NA EPILEPSIA. ...	33
TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS DA AMOSTRA	42
TABELA 3 - NÍVEIS PLASMÁTICOS INTERICTAIS DE BDNF E GDNF EM PORTADORES DE ELT E CONTROLES.	43

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO DOS TIPOS DE CRISES - ILAE 2017	15
FIGURA 2 - ESQUEMA DIAGNÓSTICO E DE CLASSIFICAÇÃO DA EPILEPSIA	16
FIGURA 3 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DOS FATORES RELACIONADOS À EPILEPTOGÊNESE	22
FIGURA 4 - CLASSIFICAÇÃO DAS FAMÍLIAS DOS FATORES NEUROTRÓFICOS.	24
FIGURA 5 - NÍVEIS PLASMÁTICOS DE BDNF E GDNF EM INDIVÍDUOS CONTROLES E PACIENTES COM ELT.	43
FIGURA 6 - NÍVEIS DE BDNF E GDNF PLASMÁTICOS EM SUBGRUPOS DE PORTADORES DE ELT DE ACORDO COM A FREQUÊNCIA DE CRISES.....	44
FIGURA 7 - NÍVEIS DE GDNF PLASMÁTICO EM SUBGRUPOS DE PORTADORES DE ELT DE ACORDO COM O TEMPO DE DURAÇÃO DA DOENÇA.	45
FIGURA 8 - NÍVEIS DE BDNF PLASMÁTICO EM SUBGRUPOS DE PORTADORES DE ELT DE ACORDO COM O TEMPO DE DURAÇÃO DA DOENÇA.	45
FIGURA 9 - NÍVEIS DE BDNF PLASMÁTICO ENTRE SUBGRUPOS DE PORTADORES DE ELT DE ACORDO COM O TEMPO DE DURAÇÃO DA DOENÇA	46
FIGURA 10 - NÍVEIS DE BDNF E GDNF PLASMÁTICOS EM SUBGRUPOS DE PORTADORES DE ELT DE ACORDO COM OS ACHADOS À RM.	47
FIGURA 11 - NÍVEIS DE BDNF E GDNF PLASMÁTICOS ENTRE SUBGRUPOS DE PORTADORES DE ELT DE ACORDO COM O NÚMERO DE FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS USADOS	48
FIGURA 12 - ESCORES DA ESCALA HAM21 ENTRE PORTADORES DE ELT E CONTROLES.....	49
FIGURA 13 - NÍVEIS DE BDNF E GDNF PLASMÁTICOS ENTRE PORTADORES DE ELT E CONTROLES COM E SEM COMORBIDADE DEPRESSIVA.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF	<i>Brain Derived Neurotrophic Factor</i>
BEM	Esclerose mesial bilateral
CA1	Área 1 do Corno de Ammon
CA3	Área 3 do Corno de Ammon
CNEPs	Crises não-epilépticas psicogênicas
DALY	<i>Disability adjusted life years</i>
DP	Desvio padrão
EEG	Eletroencefalograma
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ELT	Epilepsia do lobo temporal
ELTM	Epilepsia de lobo temporal mesial
EM	Esclerose mesial
EMD	Esclerose mesial direita
EME	Esclerose mesial esquerda
ETM	Esclerose temporal mesial
FAEs	Fármacos antiepilépticos
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GDNF	<i>Glia Derived Neurotrophic Factor</i>
HAM-D	Escala de avaliação para depressão de Hamilton
IIQ	Intervalo interquartil
ILAE	<i>International League Against Epilepsy</i>
MEEM	Mini-exame do estado mental
NGF	<i>Neural Growth Factor</i>
NT3	Neurotrofina 3
NT4/5	Neurotrofinas 4/5
RM	Ressonância magnética
Trk	Tirosina-quinase
YLD	<i>Years lived with disability</i>
YLL	<i>Years of life lost</i>

RESUMO

Contexto: A epilepsia é uma das doenças neurológicas mais comuns, afetando 0,5 a 2% da população mundial. A epilepsia de lobo temporal (ELT) é a síndrome epiléptica mais frequente nos adultos e geralmente é refratária ao tratamento medicamentoso. Sua fisiopatologia é complexa e não completamente compreendida, sendo que os fatores neurotróficos BDNF e GDNF podem desempenhar um papel nos mecanismos fisiopatológicos.

Objetivo: Avaliar a concentração dos fatores neurotróficos plasmáticos em pacientes portadores de epilepsia do lobo temporal, no período interictal, investigando se há associação com variáveis clínicas e presença de comorbidade depressiva.

Método: Sessenta e seis indivíduos portadores de ELT e 52 controles saudáveis foram avaliados através de protocolo clínico e psiquiátrico, e coleta de sangue periférico no período interictal. Foram dosados os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF. Posteriormente os pacientes foram subdivididos em grupos de acordo com características clínicas como tipo e frequência de crises, duração da epilepsia, número de fármacos antiepilépticos (FAEs) usados, achados à ressonância magnética de encéfalo e presença de comorbidade depressiva.

Resultados: Não encontramos associação entre os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF e ELT. Quando analisamos as diferentes características clínicas da ELT (tempo de evolução da doença, frequência de crises, tipos de crises, achados à RM de encéfalo e número de FAEs usadas), a única associação estatisticamente significativa foi entre níveis reduzidos de BDNF e duração muito prolongada da doença (maior que 30 anos). Não houve diferença significativa do BDNF plasmático entre os portadores e não-portadores de comorbidade depressiva. Não houve qualquer associação entre o GDNF plasmático e as características clínicas da ELT ou a presença de comorbidade depressiva associada.

Conclusão: Níveis plasmáticos de BDNF parecem estar reduzidos em portadores de ELT de longa duração.

Palavras-chave: Epilepsia, Epilepsia de Lobo Temporal, Fatores neurotróficos, BDNF, GDNF

ABSTRACT

Background: Epilepsy is one of the most common neurological diseases affecting 0.5 to 2% of the population worldwide. Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most common epileptic syndrome in adults and is often refractory to antiepileptic drugs. Its etiopathogenesis is complex and not fully understood. The neurotrophic factors brain derived neurotrophic factor (BDNF) and glia derived neurotrophic factor (GDNF) may play a role in the pathophysiology of epilepsy. This study aimed to investigate sociodemographic and clinical characteristics of patients with (TLE) and their association with plasma levels of BDNF and GDNF.

Methods: Sixty-six patients with TLE and 52 healthy controls were enrolled in the study. Patients underwent a systematic clinical and psychiatric assessment, and plasma levels of BDNF and GDNF were measured in the interictal period. The patients were subdivided into subgroups according to clinical characteristics such as seizure types and frequency, duration of epilepsy, current antiepileptic treatment, results of neuroimaging studies and presence of comorbid depressive symptoms.

Results: There was no difference between plasmatic BDNF and GDNF in patients with TLE compared to controls. Reduced plasmatic levels of BDNF were observed in patients with longer history of TLE, but not in association to other parameters. Plasma levels of BDNF and GDNF were not different in patients or controls with depression.

Conclusion: Low plasma levels of BDNF seem to be associated with long-term ELT.

Keywords: Epilepsy, Temporal lobe epilepsy, Neurotrophic factors, Growth factors, BDNF, GDNF

INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma doença neurológica prevalente caracterizada pela predisposição duradoura à geração de crises epiléticas espontâneas e recorrentes, e suas consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais. É uma condição associada à elevada morbidade e mortalidade, acometendo 1 a 2% da população mundial, com maior incidência nos países em desenvolvimento.

O tratamento da epilepsia consiste no uso crônico de fármacos antiepiléticos, medicamentos que não atuam na causa primária da doença, funcionando apenas como sintomáticos ao reduzir o desequilíbrio entre estímulos excitatórios e inibitórios e diminuir a frequência das crises epiléticas. Cerca de 30% dos pacientes não apresentam controle completo das crises e são considerados refratários ao tratamento. Essa percentagem permaneceu constante nas duas últimas décadas, mesmo com a descoberta de dezessete novos fármacos antiepiléticos. Esse dado reflete a necessidade de maior entendimento dos fatores envolvidos na fisiopatologia da doença para a busca de novas abordagens de tratamento mais eficazes, que atuem nas causas primárias da doença.

Com a descoberta, em 1989, de que crises do lobo temporal aumentavam a expressão do fator de crescimento neural (NGF, do inglês *Neural Growth Factor*) e do seu RNAm, desenvolveu-se a ideia de que a expressão dos fatores neurotróficos induzida pelas crises poderia contribuir para as alterações estruturais e funcionais subjacentes à epileptogênese. Desde então, vários estudos têm demonstrado que alguns fatores neurotróficos, principalmente o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF, do inglês *Brain Derived Neurotrophic Factor*), possuem efeitos na plasticidade e na excitabilidade dos neurônios e, não só estão presentes, mas têm também sua expressão aumentada em áreas cerebrais implicadas na epileptogênese, gerando um grande interesse na elucidação do papel desempenhado por essas proteínas na fisiopatologia da epilepsia.

O objetivo deste estudo é investigar o comportamento de dois fatores neurotróficos, o BDNF e o GDNF (do inglês *Glia Derived Neurotrophic Factor*), no plasma de indivíduos portadores de Epilepsia do Lobo Temporal, no período interictal, de forma a contribuir com mais uma peça para o entendimento da complexa engrenagem que constitui os mecanismos fisiopatológicos da epilepsia.

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1.A Epilepsia

A palavra epilepsia, utilizada pela primeira vez por Avicena (980-1037), no século 11, é originada do verbo grego “*epilambanein*”, que significa ser tomado, atacado ou possuído, sugerindo que uma força externa provocaria a crise, força que, para os antigos, era originária de uma divindade ou de um espírito diabólico. Crises epiléticas são descritas desde a antiguidade, com registros encontrados em textos mesopotâmicos e nos vedas indianos, datando de até 4000 anos A.C. (YACUBIAN, 2012)

A epilepsia é uma das doenças neurológicas crônicas mais comuns, afetando cerca de 70 milhões de pessoas no mundo todo (NGUGI *et al*, 2010). Embora seja uma doença global, apresenta distribuição desigual, sendo que 80% dos portadores residem em países em desenvolvimento. Esse fato é parcialmente explicado por alguns fatores de risco que são mais comuns em regiões pobres, especialmente em áreas rurais, como lesões cerebrais perinatais, infecções do sistema nervoso central e traumatismos cranianos, além do precário sistema de atenção à saúde (ESPINOSA-JOVEL *et al*, 2018)

Segundo o estudo de Carga Global de Doenças (do inglês *Global Burden of Disease Study*) publicado em 2010, a epilepsia representa 0,7% da carga global de doenças medida em anos de vida perdidos, ajustados por incapacidade (DALYs, do inglês *disability adjusted life years*). DALYs é um indicador de carga da doença composto pela soma dos anos de vida perdidos por mortalidade prematura (YLL, do inglês *years of life lost*) e pelos anos vividos com incapacidade (YLD, do inglês *years lived with disability*). A epilepsia figura na 36ª posição global como causa de DALYs, sendo que na América Latina, sobe para o 21ª lugar no ranking (MURRAY *et al*, 2012). Entre as doenças neurológicas, a epilepsia representa a segunda doença mais incapacitante, medida pelo índice YLD, e, em alguns países da América Latina fica em nono lugar entre todas as doenças e não só as neurológicas (VOS *et al*, 2012).

1.1.1. Definições, Classificação e Síndromes

A epilepsia é definida como uma predisposição cerebral crônica para produzir crises epiléticas espontâneas recorrentes e pelas consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais dessa condição (FISHER *et al.*, 2014). Compreende um grupo bastante heterogêneo de doenças com etiologias, prognósticos e possibilidades terapêuticas diversos, cuja fisiopatologia básica ainda não é completamente compreendida (WYLLIE, 2015).

A crise epilética é definida conceitualmente como a ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas decorrentes de atividade neuronal cerebral anormal excessiva ou síncrona (FISHER *et al.*, 2005). Esses sinais ou sintomas incluem fenômenos anormais súbitos e transitórios como alterações da consciência ou eventos motores, sensitivos ou sensoriais, autonômicos ou psíquicos involuntários percebidos pelo paciente ou um observador. De acordo com as manifestações clínicas, podem ser classificadas em quatro grupos, de acordo com o recente esquema de classificação de 2017 da ILAE (*International League Against Epilepsy*): crises focais, crises generalizadas, crises de início desconhecido e crises não classificáveis (Figura 1) (FISHER *et al.*, 2017). Crises epiléticas focais são aquelas que se originam em redes neuronais limitadas a um hemisfério cerebral, as quais podem ser restritas ou distribuídas de forma mais ampla. As crises generalizadas são as que se originam em algum ponto de uma rede neuronal e rapidamente envolvem e se distribuem em redes neuronais bilaterais (BERG *et al.*, 2010).

As crises focais podem ser motoras ou não motoras e podem ser divididas em perceptivas, quando a percepção de si próprio e do meio ambiente é preservada; e disperceptivas, quando a percepção é comprometida. Todos estes subtipos podem evoluir para crises tônico-clônicas bilaterais (FISHER *et al.*, 2005).

Crises generalizadas são também subdivididas em motoras e não motoras (ou ausências). Há 8 subtipos de crises generalizadas motoras e 4 subtipos de ausências como mostra a Figura 1. A diferenciação destes subtipos é fundamental para o estabelecimento do diagnóstico síndrômico e do prognóstico (SCHEFFER *et al.*, 2017).

Início focal	Início generalizado	Início desconhecido
Perceptivas/Aperceptivas	Motoras tônico-clônicas clônicas mioclônicas mioclônico-tônico-clônicas mioclono-atônicas atônicas espasmos epilépticos Não motoras típicas atípicas mioclônicas mioclonias palpebrais	Motoras tônico-clônicas espasmos epilépticos Não-Motoras parada comportamental
Início motor automatismos atônicas clônicas espasmos epilépticos hipercinéticas mioclônicas tônicas Início não motor autonômicas parada comportamental cognitivas emocionais sensoriais		Não classificadas
Focal para tônico-clônica bilateral		

Figura 1 - Classificação dos tipos de crises da ILAE 2017 (Adaptado de Fisher et al., 2017)

Em situações excepcionais pode ser impossível classificar uma crise epiléptica, tanto por informações incompletas como pela natureza incomum da crise, quando ela é então categorizada como crise não classificada (FISCHER *et al.*, 2017).

Para o adequado diagnóstico das epilepsias, deve-se inicialmente classificar o tipo de crise, definir o tipo de epilepsia (se focal, generalizada, focal e generalizada combinadas ou desconhecida) e, posteriormente identificar a síndrome epiléptica. Uma síndrome epiléptica refere-se a um conjunto de características clínicas que tendem a ocorrer juntas, como por exemplo, tipos de crises, achados do eletroencefalograma e dos exames de neuroimagem, idade de início, história familiar e alterações do exame neurológico ((PALMINI & VIANA, 2014). Podem também ter comorbidades distintas como disfunção intelectual e psiquiátrica e, cada síndrome apresenta implicações etiológicas, prognósticas e terapêuticas próprias (FALCO-WALTER *et al.*, 2018). Embora existam várias síndromes epilépticas muito bem reconhecidas, não há ainda uma classificação formal de síndromes pela ILAE (BERG & SCHEFFER, 2010 – SCHEFFER *et al.*, 2017).

Em todas as etapas diagnósticas deve-se tentar identificar a etiologia da epilepsia e as comorbidades presentes (Figura 2). As etiologias são divididas em seis grandes grupos: estruturais, genéticas, metabólicas, infecciosas, imunes e as ainda desconhecidas. As comorbidades mais comuns são as psiquiátricas e cognitivas (FISHER *et al.*, 2017).

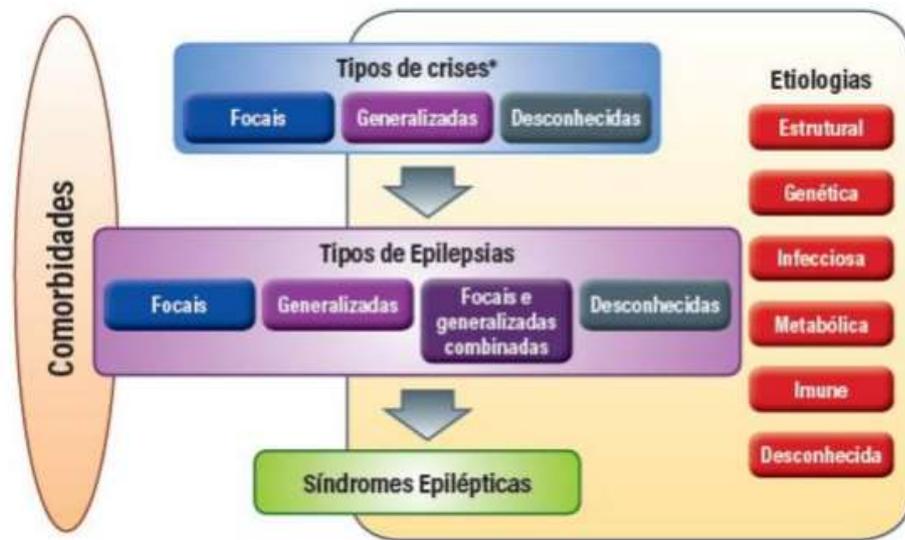


Figura 2 - Esquema diagnóstico e de classificação da Epilepsia (Adaptado de FISHER et al., 2017).

O tratamento da epilepsia consiste no uso crônico de fármacos anticonvulsivantes. Com um armamentário de mais de 25 drogas, cerca de 70 % dos pacientes epiléticos têm suas crises completamente controladas (STAFSTROM & CARMANT, 2015). As drogas usadas possuem múltiplos mecanismos de ação, sendo os mais comuns: o bloqueio dos canais de sódio, aumento da função dos canais de potássio, inibição da mediação da neurotransmissão por glutamato e a promoção da inibição mediada pelo ácido gama-aminobutírico (GABA). Entretanto essas medicações não atuam na causa primordial da doença, que ainda é desconhecida, funcionando apenas como sintomáticos ao reduzir temporariamente o desequilíbrio entre os mecanismos cerebrais excitatórios e inibitórios (STAFSTROM & CARMANT, 2015).

O prognóstico em epilepsia implica possibilidades distintas como: (1) alcançar remissão das crises epiléticas espontaneamente ou com tratamento com fármacos antiepiléticos; (2) manter essa remissão de forma prolongada, mesmo depois da retirada destes; (3) não alcançar o controle das crises apesar do tratamento adequado. O tipo de crise ou epilepsia é um dos principais determinantes do prognóstico (MERCADÉ et al, 2015). A epilepsia com lesões estruturais, seja com crises focais ou generalizadas, tem pior prognóstico em comparação a síndromes epiléticas genéticas não associadas a lesão estrutural. Assim, a identificação de síndromes eletroclínicas bem definidas é imprescindível para a avaliação mais precisa do prognóstico (PALMINI & VIANA, 2014).

1.1.2. Mecanismos Neurobiológicos das Crises Epilépticas

Apesar de muitos anos de pesquisa, as bases neurobiológicas das epilepsias e das crises epiléticas ainda não foram completamente compreendidas. Acredita-se que as crises podem ser desencadeadas por vários mecanismos, mas aceita-se que o princípio básico envolvido é um desequilíbrio entre fatores excitatórios e inibitórios (VALOTTA & CABRAL, 2008). Esse desequilíbrio pode ser abordado de forma didática, examinando seus mecanismos em diferentes níveis do sistema nervoso: no nível de íons e membranas; células e sinapses e posteriormente, das grandes redes neurais (SHARFMAN, 2007).

No nível mais fundamental, o controle dos gradientes iônicos através das membranas neuronais é a forma mais comum de equilibrar a excitabilidade (SOMJEN, 2002). O potencial de repouso da membrana é ajustado fisiologicamente de forma contínua para que esteja sempre próximo do limiar de disparo - já que o potencial de ação é fundamental para o funcionamento do sistema nervoso - mas para que não o exceda, o que faria com que os neurônios disparassem continuamente. Assim, o controle do potencial de membrana é essencial para prevenir descargas neuronais excessivas que estão tipicamente associadas às crises epiléticas (SCHARFMAN, 2007).

Em condições de repouso há uma grande concentração de potássio intracelular e sódio extracelular. Se ocorre alteração nesse equilíbrio com aumento do potássio extracelular há despolarização da membrana que leva à despolarização das sinapses, liberação de neurotransmissores, despolarização dos neurônios e descarga do potencial de ação (SOMJEN, 2002). As bombas de sódio-potássio, presentes na membrana, e as células da glia, são importantes reguladores da concentração iônica extracelular, levantando a hipótese que anormalidades nessas estruturas tenham um papel na fisiopatologia das epilepsias (FUKUDA & PRINCE, 1992). Além disso, as crises epiléticas, por si só, podem provocar aumento do potássio extracelular, resultando em mais despolarização e mais descargas, gerando um ciclo vicioso (FELLIN & HAYDON, 2005).

Podem ocorrer também anormalidades dos canais de sódio, que provocam redução no limiar de potencial de ação e favorecem a excitabilidade. Um exemplo é a síndrome da epilepsia generalizada com crises febris-plus, causada por mutações em genes responsáveis por subunidades dos canais de sódio voltagem-dependentes (MEISLER *et al.*, 2001).

A transmissão sináptica desempenha um papel importante na manutenção do equilíbrio entre inibição e excitação (BROWN & JOHNSON, 1984). O glutamato e o ácido aminogababutírico (GABA) são os principais neurotransmissores excitatórios e inibitórios, respectivamente. Entretanto, ambos não possuem uma relação simples e direta com a ictogênese. Uma possível razão seria a ocorrência de dessensibilização dos neurotransmissores glutamatérgicos e gabaérgicos com o tempo, reduzindo a magnitude da sua função (COBB *et al.*, 1996). Outra possível razão seria que a transmissão gabaérgica pode provocar despolarização ao invés de hiperpolarização nas situações em os gradientes responsáveis pelo fluxo de íons através dos receptores GABA estiverem alterados (COSTA *et al.* 1998)

A relação do glutamato com a excitação não é sempre direta pela razão de que as sinapses glutamatérgicas inervam ambos os neurônios glutamatérgicos e gabaérgicos em vários sistemas neurais. Assim, exposição ao glutamato pode resultar em um pequeno efeito (devido à subtração entre excitação e inibição) na rede neural ou, paradoxalmente, o glutamato pode aumentar a inibição já que os neurônios gabaérgicos tipicamente requerem menos despolarização para alcançar o limiar. Dessa forma é extremamente difícil prever como a modulação glutamatérgica ou gabaérgica influencia a geração de crises *in vivo*. (COSTA *et al.*, 1998). Os mecanismos propostos são a presença de um potencial excitatório pós-sináptico “gigante” nas células piramidais do córtex. Como essas células estão interconectadas por sinapses glutamatérgicas, essas conexões poderiam ser um mecanismo gerador de sincronização (BROWN & JOHNSON, 1984). O segundo mecanismo seria a presença das junções comunicantes (do inglês “*gap junctions*”) dos neurônios corticais que proporcionam uma via de baixa resistência ao fluxo entre os neurônios, que se tornam rapidamente susceptíveis (VALOTTA & CABRAL, 2008).

Paradoxalmente, outro fenômeno gerador de sincronização envolve os circuitos de inibição. Neurônios gabaérgicos, como as células em cesto, controlam a inibição perissomática e fazem conexões com várias células piramidais do córtex cerebral. Conseqüentemente, a descarga de um único interneurônio pode sincronicamente hiperpolarizar uma população de células piramidais (SCHARFMAN, 2007). Essa hiperpolarização ativa correntes voltagem-dependente nas células piramidais e o resultado dessa ativação é uma despolarização sincrônica do grupo de células piramidais (COOB *et al.*, 1996).

Por fim, algumas alterações que se desenvolvem nos cérebros de portadores de epilepsia também facilitam a sincronização, como por exemplo, o crescimento de axônios colaterais

(rebrotamento ou “*sprouting*”) de neurônios excitatórios, como o que ocorre nas células granulares do giro denteado do hipocampo. A reorganização sináptica dessas células não somente dá origem a sincronização, mas também pode contribuir com o processo de epileptogênese (VALOTTA & CABRAL, 2008).

1.1.3. *Epilepsia do Lobo Temporal*

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é uma epilepsia do tipo focal cuja zona epileptogênica está localizada no lobo temporal, sendo responsável por 40% das epilepsias do adulto (CENDES, 2005). Anatomicamente pode ser subdividida em epilepsia temporal neocortical ou mesial.

A epilepsia de lobo temporal mesial (ELTM) corresponde a cerca de 60 % das ELTs, e é o tipo mais comum de epilepsia focal em adultos (CENDES, 2005). A causa mais comum de ELTM é a esclerose temporal mesial (ETM), também chamada de atrofia hipocampal (BLUMCKE *et al.*, 2002). Outras etiologias incluem pequenas lesões expansivas como tumores gliais ou hamartomas, malformações vasculares congênitas e lesões glióticas secundárias a traumas ou infecções (CENDES, 2005).

A ELTM associada a ETM é a forma mais frequente nas séries cirúrgicas mundiais, devido ao seu alto índice de refratariedade medicamentosa e excelente resposta à cirurgia, e está presente em 60-70% dos pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico para crises refratárias (KIM *et al.*, 1999).

A primeira crise habitual do paciente geralmente ocorre no final da infância ou início da adolescência e, na maioria das vezes, é uma crise focal aperceptiva com ou sem evolução para movimentos tônico-clônico bilaterais. As crises focais aperceptivas são geralmente precedidas por uma aura, sendo as mais comuns, a aura epigástrica e sensação de medo. (CENDES, 2005). Outras auras possíveis são compostas por sintomas psíquicos como déjà vù ou sensoriais como fenômenos olfatórios ou gustatórios. A crise aperceptiva geralmente inicia-se com fixação do olhar, parada de movimentação e automatismos oro-alimentares, durante os quais, o paciente apresenta-se arresponsivo. Automatismos gestuais e distonia de membro superior unilateral também são comuns. As crises tipicamente duram um minuto ou menos (CENDES, 2005).

O exame neurológico é usualmente normal com exceção de déficits de memória. O eletroencefalograma (EEG) interictal mostra paroxismos epileptiformes uni ou bilaterais, independentes ou síncronos, melhores vistos nos eletrodos temporais inferiores e esfenoidais. Os registros de EEG ictal costumam revelar atividade rítmica na frequência teta, geralmente entre 5 a 7 Hz, na região temporal acometida (CENDES, 2005). A ressonância magnética (RM) de encéfalo mostra atrofia hipocampal uni ou bilateral associada a hipersinal em T2 em um ou ambos os hipocampos (KOBAYASHI *et al.*, 2002).

O tratamento envolve fármacos antiepilépticos (FAEs) apropriados para o controle de crises focais. Em um estudo compreendendo 2.200 pacientes adultos, Semah *et al.* observaram que após um ano de tratamento com FAEs em regime adequado, apenas 11% dos pacientes portadores de ELTM com ETM ficaram livres de crises. Esse número foi ainda menor (3%) no grupo de pacientes com patologia dupla, definida como ETM associada a outra lesão epileptogênica. A ETM claramente se associa a uma má resposta ao tratamento com (SEMAH *et al.*, 1998). Com o passar do tempo, os pacientes passam a apresentar queixas progressivas de memória e outros distúrbios comportamentais. Essa sequência de eventos sugere que a ELTM pode ser um distúrbio epilético progressivo (CENDES, 2005b).

As epilepsias de lobo temporal neocorticais são caracterizadas por grande heterogeneidade clínica e etiológica com quadros mais diversos e menos típicos do que os da ELTM. As causas podem ser genéticas ou também lesões estruturais como displasias, malformações, tumores e glioses cicatriciais (KENNEDY *et al.*, 2012).

A ELT, de uma forma geral, está relacionada a altos índices de comorbidade psiquiátrica, principalmente depressão e ansiedade, que geralmente são subdiagnosticadas (DE OLIVEIRA *et al.*, 2010). Dessa forma uma proporção significativa de pacientes não recebe tratamento apropriado, o que contribui grandemente para a morbidade geral da doença. Outra complicação importante é o prejuízo cognitivo progressivo, particularmente da memória (BELL *et al.*, 2011).

1.1.4. Mecanismos neurobiológicos da ELT

A ELTM é a síndrome epiléptica mais estudada e, apesar da grande quantidade de dados obtidos das histórias clínicas dos pacientes, técnicas de imagem, registros eletroencefalográficos e estudos histológicos, o processo de epileptogênese permanece pouco compreendido (SLOVITER, 2005). Epileptogênese é um processo definido como o desenvolvimento e a extensão de tecido cerebral capaz de gerar crises epiléticas espontâneas recorrentes, resultando em (1) desenvolvimento de epilepsia e/ou (2) progressão da doença que já está estabelecida (PITKÄNEN & ENGEL, 2014).

O desenvolvimento da epilepsia envolve uma cascata de eventos ativados por um insulto cerebral inicial, que pode ser trauma, crise febril, infecção ou estado de mal epilético, seguido por um período latente, quando ocorre perda neuronal e reorganização sináptica anormal (KHARATISHVILI & PITKÄNEN, 2010). Essa reorganização da integração neuronal pode levar anos em seres humanos e semanas em modelos animais e, ao final, produz excitabilidade e sincronização anormalmente aumentadas, que eventualmente causarão crises espontâneas (FERNANDES *et al.*, 2010)

Assim, a epilepsia pode ser considerada um processo ativo que resulta tanto em fenômenos ictais e alterações interictais tanto funcionais como estruturais no cérebro, sendo que essas últimas podem tornar-se permanentes (MATHERN *et al.* 1995). Os pacientes que desenvolvem ELT demonstram progressão no número de crises e nos sintomas neurológicos relacionados às crises como, distúrbios cognitivos e comportamentais (FRENCH *et al.*, 2004).

O hipocampo ou Corno de Ammon é uma das áreas cerebrais mais vulneráveis a desenvolver perda celular após uma crise epilética. O padrão histológico da esclerose hipocampal na epilepsia é caracterizado pela perda de células piramidais no *subiculum* e região CA1 (MATHERN *et al.*, 1995). Há também perda neuronal no hilo do giro denteado e na região CA3 adjacente. Na maioria das vezes, o dano hipocampal é acompanhado por reorganização das fibras musgosas. As fibras musgosas das células granulares denteadas, que normalmente inervam as células musgosas hilares, as células piramidais de CA3 e os interneurônios, reorganizam-se e projetam-se para o terço interior da camada molecular do giro denteado (SZABADICS & SOLTESZ, 2009). O termo “Esclerose Mesial Temporal” foi introduzido para descrever o dano celular no hipocampo, núcleo amigdalóide e córtex entorrinal (LANEROLLE & LEE, 2005).

Em CA1 ocorre morte celular significativa e reorganização, principalmente dos neurônios gabaérgicos, o que pode resultar na inibição de neurônios inibitórios levando à sincronização anormal e atividade epilética (WITTNER *et al.*, 2002). Essa é uma evidência que a hiperexcitabilidade não é decorrente da perda de GABA, mas envolve outros mecanismos que estão relacionados ao aumento da neurotransmissão excitatória (FERNANDES *et al.*, 2010). Há também evidências que as células musgosas no hilo e nos neurônios piramidais em CA3 mostram expressão aumentada de receptores para glutamato (GluR1), que por sua vez, promovem a excitabilidade das células granulares (EID *et al.*, 2002). Há ainda gliose nessa região, principalmente de astrócitos, que pode, também, contribuir para a hiperexcitabilidade. Existem evidências que os astrócitos contribuem com altos níveis de glutamato em áreas hipocâmpais nas quais os neurônios são esparsos (LANEROLLE & LEE, 2005).

Assim, de forma geral, nos tecidos epiléticos de modelos animais e nos tecidos humanos ressecados cirurgicamente são encontradas as seguintes alterações epileptogênicas fundamentais: astrogliose, cicatrizes gliais, degeneração neuronal e brotamento aberrante de fibras musgosas (O'DELL *et al.*, 2012). As vias bioquímicas que tanto provocam quanto são resultantes destas alterações estruturais ainda não estão claras e têm sido alvo de muita investigação na última década. Os fatores moleculares mais estudados incluem as citocinas inflamatórias, a homeostase da adenosina, a regulação dos canais iônicos e os fatores neurotróficos (Figura 3) (O'DELL *et al.*, 2012).

Com a descoberta, em 1989, de que crises do lobo temporal aumentavam a expressão do fator de crescimento neural (NGF) e do seu RNAm (GALL & ISACKSON, 1989), desenvolveu-se a ideia de que a expressão dos fatores neurotróficos induzida pelas crises poderia contribuir para as alterações estruturais e funcionais subjacentes à epileptogênese. Desde então, vários estudos têm demonstrado que os fatores neurotróficos e, principalmente, o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), possuem efeitos na plasticidade e na excitabilidade dos neurônios, sendo considerados importantes participantes na epileptogênese (IUGUETTI *et al.*, 2018).

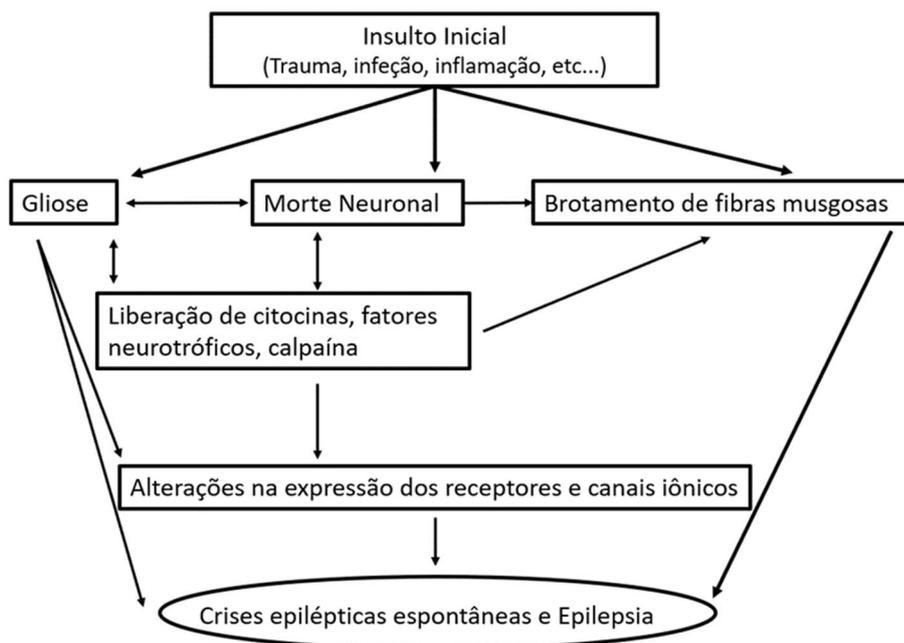


Figura 3 - Representação esquemática dos fatores relacionados à epileptogênese. Fonte: O'DELL et al., 2012

1.2.Os Fatores Neurotróficos

1.2.1. Famílias de Fatores Neurotróficos

Os fatores neurotróficos são um grupo heterogêneo de peptídeos endógenos que desempenham um papel central no funcionamento neuronal, incluindo o crescimento, diferenciação, maturação, sobrevivência e plasticidade das células nervosas em formação e maduras (HUANG & REICHARDT, 2001).

A história da descoberta dos fatores neurotróficos remonta ao início da década de 1950, quando a pesquisadora italiana Levi-Montalcini, ao realizar um transplante de células tumorais de ratos em embriões de aves, percebeu que ocorria uma estimulação das células nervosas do embrião que começavam a estender seus axônios em direção ao tecido estranho (BINDER & SHARFMAN, 2004). Levantou-se a hipótese que as células tumorais estariam liberando alguma substância que promovia e guiava o crescimento dos neurônios. Alguns anos mais tarde, Levi-Montalcini e o bioquímico americano Stanley Cohen isolaram a substância, uma proteína nomeada como Fator de Crescimento Neuronal (NGF). Em 1986 os dois pesquisadores receberam o prêmio Nobel de Medicina pela descoberta (HAMBURGUER, 1993).

Posteriormente o BDNF foi identificado e, a partir de então, várias outras proteínas com estruturas e funções análogas foram descobertas (BINDER & SHARFMAN, 2004).

Atualmente, os fatores neurotróficos englobam várias famílias como ilustrado pela Figura 4. As mais estudadas são a família das neurotrofinas e do fator neurotrófico derivado da glia, GDNF. As neurotrofinas incluem o BDNF, o NGF e as neurotrofinas 3 e 4/5 (NT3, NT4/5) (KALINOWSKA-LYSZCZARZ & LOSY, 2012).

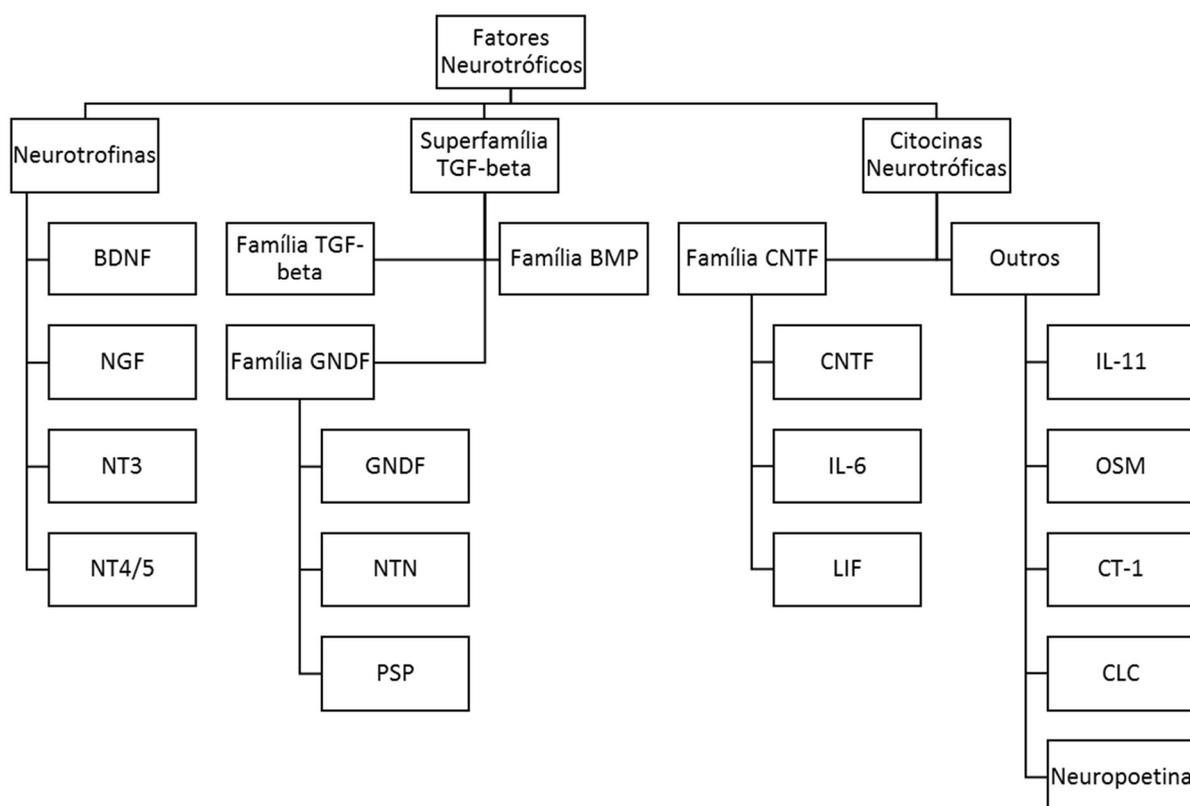


Figura 4 - Classificação das famílias dos fatores neurotróficos. NGF: Fator de Crescimento Neural, BDNF: Fator de Crescimento Derivado do Cérebro, NT-3: Neurotrofina 3, NT-4/5: Neurotrofina 4/5, TGF beta: Fator de Crescimento de Transformação beta, GDNF: Fator Neurotrófico Derivado da Glia, BMP: Proteína Morfogenética Óssea, NTN: Neurturina, PSP: Persefina, CNTF: Fator Neurotrófico Ciliar, IL-6: Interleucina 6, LIF: Fator Inibidor de Leucemia, IL-11: Interleucina 11, OSM: Oncostatina M, CT-1: Cardiotrofina-1, CLC: Cardiotrofina- Citocina. Adaptado de Kalinowska-Lyszczarz A & Losy J, 2012

As neurotrofinas são sintetizadas na forma de moléculas precursoras e são posteriormente clivadas, intracelularmente, por furinas ou pró-hormônio convertases, e extracelularmente, por plasminas ou metaloproteases da matriz, dando origem às formas maduras. Essas formas maduras existem como homodímeros e ligam-se a receptores

específicos tirosina-quinase (Trk), provocando sua dimerização e ativação. Existem três tipos de receptores Trk: TrkA, cujo ligante é NGF; TrkB, cujos ligantes são BDNF e NT-4; e TrkC, ao qual se liga o NT-3. Todas as neurotrofinas também podem ligar-se, com menor afinidade, ao receptor p75^{NTR}, membro da família do fator de necrose tumoral. A combinação de neurotrofinas específicas com seus receptores inicia um processo de dimerização, transfosforilação dos resíduos de tirosina intracitoplasmáticos e ativação dos domínios cinase (SKAPER, 2008). Os resíduos fosforilados têm a função de iniciar um processo de recrutamento de proteínas intracitoplasmáticas específicas com consequente modificação da expressão gênica, síntese protéica (POO, 2001) e apoptose celular (CHAO, 2003). A ligação das neurotrofinas maduras ao receptor p75^{NTR} desencadeia cascatas de sobrevivência neuronal, enquanto a ligação das pró-neurotrofinas ativa cascatas de apoptose (KANDRATAVICIUS *et al*, 2010). O BDNF é o fator neurotrófico mais estudado nas doenças neurológicas. No presente estudo investigaremos os níveis plasmáticos do BDNF e GDNF em pacientes portadores de epilepsia.

1.2.2. O BDNF

O BDNF é o fator neurotrófico mais amplamente distribuído no sistema nervoso central e tem capacidade de regular diversas funções biológicas como crescimento axonal e conectividade, mediação do processo de sobrevivência e apoptose neuronal, além de participar na resposta local a diversos estressores neuronais e ambientais (MURER *et al*, 2001). Promove ainda, a sobrevivência de vários neurônios do SNC incluindo os hipocámpais e corticais (LINDHOM *et al*, 1996), colinérgicos (ALDERSON *et al*, 1990), dopaminérgicos (HYMAN *et al*, 1991) e serotoninérgicos (RUMAJOGEE *et al*, 2004).

Apresenta grande expressão no hipocampo, amígdala, neocórtex e cerebelo (SHIMIZU *et al*, 2003). Suas ações variam de acordo com as fases do desenvolvimento do sistema nervoso. No início da fase fetal, o BDNF é importante para a formação e maturação dos neurônios de forma geral. O BDNF tem produção aumentada no ser humano até por volta dos 40 anos, apresentando queda após essa idade (KATOH-SEMBA *et al*, 2007). As modificações na expressão do BDNF podem ocorrer por uma série de respostas a eventos como crises epiléticas (MARINI *et al*, 2007), uso de glicocorticóides (KUMAMARU *et al*, 2008), esteroides sexuais, hipóxia cerebral (MARINI *et al*, 2007) e exercícios físicos (LOU *et al*, 2008).

O gene que codifica o BDNF localiza-se no braço curto do cromossomo 11 e tem estrutura genômica complexa com pelo menos 4 regiões promotoras de sua transcrição. As regiões promotoras são diferentemente distribuídas por regiões cerebrais, tipos celulares e até mesmo estruturas neuronais (PATTABIRAMAN *et al*, 2005). Após a transcrição, o pró-BDNF é levado ao retículo endoplasmático, sendo então envolto pelo complexo de Golgi e empacotado em vesículas secretórias. As vesículas podem ser agrupadas para liberação espontânea ou, mais frequentemente, liberadas frente a um estímulo (CHEN *et al*, 2006). O pró-BDNF secretado por neurônios (substância negra, núcleo amigdalóide, hipotálamo, cerebelo e córtex cerebral) e células de Schwann, é posteriormente convertido em BDNF maduro por proteases extracelulares (tais como plasmina e fator ativador de plasminogênio extracelular) (PANG *et al*, 2004). O pró-BDNF, além de regular a liberação de BDNF maduro, também tem a capacidade de ligar-se ao receptor p75, ocasionando uma cascata de apoptose celular, e a de regulação da depressão de longa duração hipocampal (REICHARDT, 2006).

A ação do BDNF ocorre através de sua ligação aos receptores Trk-B, promovendo uma cascata de sinalizadores intracelulares e de transcrição em vários sistemas neuroquímicos (MAPK, PI3-K, PLC) (REICHARDT, 2006). A ativação do Trk-B e p75 promove e suprime, respectivamente, o crescimento dendrítico, assim como uma potenciação ou depressão sináptica. Esse balanço entre as ligações BDNF-TrkB e pró-BDNF-p75 são importantes para as alterações das estruturas sinápticas e densidade das espículas dendríticas (LU *et al*, 2005). Este balanço é fundamental para a plasticidade sináptica. Estudos em camundongos têm elucidado a importância do BDNF, principalmente através da remoção genética de uma cópia do gene que o codifica (modelos animais “*knock-out*”). A supressão gênica completa do BDNF (BDNF *-/-*) impede o conceito de progredir o desenvolvimento além da fase embrionária. A depleção do BDNF após o nascimento ocasiona extrema dificuldade de aprendizado e memória. A depleção na vida adulta, por sua vez, ocasiona em diminuição da LTP (LINNARSON *et al*, 1997). Consistentemente com tais dados, camundongos BDNF +/- são incapazes de se orientarem em labirintos (LINNARSON *et al*, 1997), apresentam diminuição de neurogênese e tamanho do hipocampo (LEE *et al*, 2002), assim como uma variedade de alterações neuroquímicas e comportamentais incluindo diminuição de serotonina (5-HT) em associação com agressividade e hiperfagia (LYONS *et al*, 1999).

A multiplicidade de ações do BDNF em diferentes tipos de neurônios tem embasado pesquisas científicas associando alterações em sua expressão a diversas doenças neurológicas e psiquiátricas, inclusive a epilepsia.

1.2.3. O GDNF

O GDNF foi inicialmente descoberto como um potente fator de sobrevivência para os neurônios dopaminérgicos mesencefálicos e, posteriormente, demonstrou-se que era capaz de recuperar esses neurônios em modelos animais experimentais de doença de Parkinson (SARIOLA & SAARMA, 2003). Também regula a sobrevivência de muitos neurônios periféricos, como os simpáticos, parassimpáticos, sensoriais e entéricos, além de possuir funções fora do sistema nervoso, como a regulação da morfogênese renal e da espermatogênese (IBANEZ & ANDRESSO, 2017).

O GDNF é uma proteína homodimérica, heterogeneamente glicosilada e com massa molecular entre os 33 e 45 KDa (LIN *et al*, 1993), que pode ser expressa em astrócitos (SCHAAR *et al*, 1993) e em neurônios (SCHMIDT-KASTNER *et al*, 1994). Está presente em vários sistemas neuronais, e essa localização depende da atividade local e do estágio de desenvolvimento do indivíduo (DEL FIACCO *et al*, 2002). Há níveis detectáveis de GDNF no tálamo, hipocampo, cerebelo, córtex, substância negra mesencefálica e medula entre outros locais do sistema nervoso (CHOI-LUNDBERG & BOHN, 1995; DEL FIACCO *et al*, 2002). No entanto, a expressão do GDNF não está limitada ao sistema nervoso, ocorrendo em outros órgãos como os rins, pulmões, gónadas, intestinos, osso, fígado, coração, músculos esqueléticos e glândulas suprarrenais (TRUPP *et al*, 1995).

As respostas celulares desencadeadas pelos membros da família do GDNF são mediadas por um receptor com atividade de tirosina quinase, codificado pelo proto-oncogene RET, e pelos receptores α da família do GDNF (GFR α). Um dímero de GDNF liga-se ao GFR α 1 monomérico ou dimérico (AIRAKSINEN & SAARMA,2002). Por sua vez, o complexo formado interage com duas moléculas de RET, fosforilando resíduos de tirosina específicos e desencadeando a sinalização intracelular. Entre as vias que podem ser ativadas a partir desta fosforilação encontram-se as vias da quinase regulada por sinalização extracelular (ERK), da quinase ativada por mitogénos (MAPK), da quinase do inositol trifosfato (IP3K), da quinase B (PCB), da proteína inibidora da apoptose neuronal (NAIP) e da proteína inibidora da apoptose ligada ao cromossomo X (XIAP) (AIRAKSINEN & SAARMA,2002). A ativação dessas vias tem como resultado o aumento da sobrevivência e da proliferação celular (TAKAHASHI *et al*, 2001). Em culturas estriatais de células embrionárias, o GDNF ativa as vias p42/p44 MAPK

mas não o IP3K, promovendo principalmente a diferenciação neuronal de neurónios GABAérgicos sem afetar a sobrevivência e maturação de outros neurónios (GARCIA-MARTINEZ *et al*, 2006). Apesar das vias de sinalização intracelular acima descritas terem sido as mais estudadas, ensaios *in vitro* sugerem que o GDNF pode desencadear sinalização intracelular independente do receptor RET, através da molécula de adesão das células neuronais (NCAM) (PARATCHA *et al*, 2003). Outros autores também sugerem o GFR α 2 como receptor do GDNF (BENNETT *et al*, 1998).

O GDNF caracteriza-se pela capacidade de aumentar o comprimento dos axônios, o tamanho celular e o número dos neurónios dopaminérgicos, exercendo efeitos potentes no desenvolvimento dos neurónios embrionários *in vitro* (LIN *et al*, 1993). O GDNF pode ser considerado o fator neurotrófico mais potente na proteção dos neurónios dopaminérgicos contra a degeneração induzida por várias toxinas, assegurando a sobrevivência desses neurónios em modelos animais de doença de Parkinson, como a degeneração induzida por MPTP ou 6-hidroxidopamina (6-OHDA) em ratos e macacos (ROSENBLAD *et al*, 1998).

O GDNF também exerce uma potente ação protetora em neurónios motores e noradrenérgicos centrais (ARENAS *et al*, 1995). A estimulação da produção de dois transportadores de glutamato dependentes de GDNF está descrita em estudos com culturas de hipocampo e parece estar implicada na regulação da morte celular pela privação de glicose e oxigênio (KIPP *et al*, 2006). O GDNF está também envolvido com a regulação da produção e armazenamento de citocinas em outros tecidos (KIPP *et al*, 2006), mas por outro lado a resposta inflamatória e o aumento de citocinas estimulam a expressão de GDNF. Estudos efetuados em culturas primárias de micróglia de rato e em linhas celulares revelaram que o GDNF tem um papel modulador das atividades microgliais para além da sua já conhecida ação nos neurónios. Este fator neurotrófico estimula a produção de óxido nítrico e de moléculas de adesão e aumenta a capacidade fagocítica da micróglia, assim como a atividade da superóxido dismutase microglial, ativando o sistema antioxidante endógeno da micróglia. A atividade microglial parece ser regulada pelo GDNF através da ativação da via ERK-MAPK (CHANG *et al*, 2006).

1.3.Epilepsia e Fatores Neurotróficos

Existem três tipos de estudos sobre os fatores neurotróficos na epilepsia. O primeiro tipo e o mais comum é realizado em modelos experimentais animais de epilepsia e tem seu foco na

fase inicial do processo da doença, a epileptogênese. O segundo tipo de estudo engloba aqueles realizados em tecidos cerebrais ressecados cirurgicamente de pacientes com epilepsia, atualmente com maior foco na expressão gênica e polimorfismos; e o terceiro grupo, dentro do qual se encontra o presente estudo, é o que analisa os níveis plasmáticos no período interictal de pacientes com a epilepsia já estabelecida.

Estudos *in vitro* e *in vivo* apontam o BDNF como um componente importante da cascata de alterações fisiopatológicas presentes no estado epiléptico. Demonstrou-se que tanto o RNAm quanto a proteína madura do BDNF estão aumentados nos hipocampus de modelos animais após uma crise epiléptica (ERNFORNS *et al.*, 1991; ISACKSON *et al.*, 1991; NIBUYA *et al.*, 1995), e níveis elevados de BDNF e do RNAm do seu receptor Trk estão presentes em áreas classicamente envolvidas com a epileptogênese como o hipocampo e córtex entorrinal (LINDVALL *et al.*, 1994). Estudos com imunorreatividade mostraram altas concentrações da proteína madura no hipocampo (CONNER *et al.*, 1997) e do Trk fosforilado (ativado), também em hipocampo de ratos, após crises induzidas por cainato, quando comparados com controles (BINDER *et al.*, 1999).

Embora o aumento do BDNF após as crises pareça ter propósitos neuroprotetores e morfológicos, existem poucas evidências diretas que suportam essas ações (BINDER *et al.*, 2001; SOYSAL *et al.*, 2016). Por outro lado, um número significativo de estudos recentes descreveu um papel importante do BDNF na excitabilidade neuronal e epileptogênese tanto em modelos experimentais, quanto em pacientes com epilepsia.

Estudos experimentais têm sido conduzidos em modelos *knockout* de ratos, heterozigotos para os alelos BDNF. Nesses modelos, foi observada redução importante do desenvolvimento de *kindling* (KOKAIA *et al.*, 1995). *Kindling* é um modelo animal de ELT, no qual crises são induzidas pela aplicação repetitiva de estímulos sublimiáres em tecido cerebral previamente não lesado (GODDARD *et al.*, 1969). O *knockout* do TrkB no prosencéfalo foi seguido por completa abolição de *kindling* (SHARFMANN *et al.*, 2015). A hiperexpressão de BDNF em ratos transgênicos levaram a crises espontâneas e mais intensas em resposta ao cainato. (CROLL *et al.*, 1999). A infusão de BDNF foi suficiente para induzir atividade ictal em modelos animais de crises límbicas espontâneas (SHARFMANN *et al.*, 2002).

Por outro lado, em um estudo envolvendo ratos Wistar, a amplitude e incidência dos surtos de descargas epileptiformes foram reduzidos de forma significativa em animais epilépticos tratados com injeções de BDNF no hipocampo dorsal, após a indução de status

epilepticus (EFTEKHARI *et al.*, 2016). Outros estudos demonstraram que a infusão intra-hipocampal crônica de BDNF inibe o desenvolvimento de *kindling* local (BINDER *et al.*, 2001). Dessa forma, o papel do BDNF na epileptogênese, se promotor ou fator de proteção, ainda não está esclarecido (KOYAMA & IKEGAYA, 2005).

Wang e colaboradores (WANG *et al.*, 2010) mediram o RNAm total do BDNF e seis de seus transcritos no tecido hipocampal de portadores de ELT com e sem ETM comparando-os com controles, e também acessaram as ações excitatórias induzidas pelo BDNF nas células hipocâmpais. Os autores encontraram um aumento estatisticamente significativo em três transcritos nos casos de ELT com ETM, quando comparados com aqueles sem ETM. Além disso, o BDNF aparentemente induziu correntes de N-methyl-D-aspartato (NMDA) nas células denteadas granulares somente dos pacientes com ELT relacionada à ETM.

De forma similar, Murray e colaboradores (MURRAY *et al.*, 2000) encontraram níveis elevados do RNAm do BDNF nas células granulares do hipocampo de seres humanos portadores de ELT refratária quando comparados com o grupo controle, e também identificaram uma correlação negativa significativa entre a duração da epilepsia e a expressão do RNAm do BDNF. Takahashi e colaboradores (TAKAHASHI *et al.*, 1999) chegaram à conclusão que pacientes com ELT refratária são caracterizados por um aumento marcante nos níveis de BDNF nos tecidos cerebrais ressecados, mas sem aumento das outras neurotrofinas. Um estudo (HOU *et al.*, 2010) envolvendo 40 indivíduos com ELT refratária demonstrou um aumento na expressão do BDNF/TrkB na região CA3 e giro denteado em ambos os grupos com e sem ETM. O tratamento com ácido valpróico resultou na redução da expressão do BDNF/TrkB, também em ambos os grupos.

Em 2015, Shen e colaboradores (SHEN *et al.*, 2015) investigaram a associação entre o polimorfismo Val66Met do BDNF e a ocorrência de ELT e seus fenótipos clínicos. A frequência do alelo Met foi menor nos indivíduos epiléticos do que nos controles, e no grupo de TLE com ETM, a frequência dos portadores do alelo Met66 foi significativamente menor do que dos não portadores. Os autores sugerem que o polimorfismo Val66Met do BDNF parece estar correlacionado com a epileptogênese, e o alelo Met66 pode possuir um efeito protetor contra a ocorrência de TLE. Estudos genéticos anteriores que avaliaram polimorfismos e variações de sequências genômicas do BDNF, particularmente o Val66Met, foram inconclusivos (BRAGATTI *et al.*, 2010; LOHOFF *et al.*, 2005; CHOU *et al.*, 2004).

Apenas cinco estudos investigaram a relação entre níveis plasmáticos de BDNF e a epilepsia (tabela 1). Hong e colaboradores (HONG *et al.* 2014) foram os únicos que usaram o *Luminex Human BDNF Antibody Bead Kit (Introvigen, Camarillo, EUA)* para dosagem do BDNF; todos os outros usaram o ensaio imunoenzimático (ELISA).

LaFrance e colaboradores (LAFRANCE *et al.*, 2010) analisaram os níveis de BDNF plasmáticos em 15 pacientes portadores de vários tipos de epilepsia, 14 pacientes que apresentavam crises não-epilépticas psicogênicas (CNEPs) e 17 controles saudáveis. O grupo controle apresentou níveis significativamente mais altos de BDNF do que os grupos de portadores de epilepsia e de CNEP.

Hong e colaboradores (HONG *et al.*, 2014) dosaram a concentração do BDNF plasmático no período interictal em 135 portadores de vários tipos de epilepsia e compararam com 34 controles saudáveis. O resultado não diferiu entre os grupos, entretanto a análise de regressão linear mostrou que a maior frequência de crises e a duração da epilepsia tiveram correlação com menores níveis de BDNF, levando os autores a concluir que o BDNF plasmático está associado à gravidade da epilepsia e deve ser mais estudado como um possível marcador de gravidade da doença.

Em um estudo em lactentes, Ismail e colaboradores (ISMAIL *et al.*, 2015) mediram os níveis de BDNF plasmáticos de 30 crianças menores que 2 anos, portadoras de epilepsia idiopática, e os níveis de BDNF no leite de suas mães, e compararam com 15 lactentes saudáveis e suas mães. Os resultados foram maiores níveis de BDNF, tanto no plasma quanto no leite, nas crianças epilépticas em comparação com os controles. O aumento foi maior naqueles com maior duração da doença e maior número de crises.

Chen e colaboradores (CHEN *et al.*, 2016) realizaram dosagens de BDNF no plasma, testes cognitivos e exames de tractografia por ressonância magnética no período interictal em 34 pacientes portadores de epilepsia de lobo temporal e 22 controles saudáveis. Os resultados mostraram redução significativa da concentração de BDNF nos pacientes epilépticos em relação aos controles. A redução foi maior naqueles com maior duração da epilepsia e nos pacientes que o exame de imagem mostrou anisotropia fracional no lobo temporal. Análises de regressão linear mostraram que o nível de BDNF foi preditor de pior desempenho verbal nos testes cognitivos. Tais resultados levaram os autores à conclusão que os níveis de BDNF refletem maior duração da epilepsia, prejuízo da integridade da substância branca e da função cognitiva em pacientes com epilepsia de lobo temporal.

Em um outro estudo, Chen e colaboradores (CHEN *et al*, 2018) avaliaram o BDNF e IGF-1 séricos, testes de função do sistema nervoso autônomo, como tilt-test e manobra de Valsalva e, também, realizaram a quantificação da autorregulação cerebral por doppler transcraniano em 57 portadores de epilepsia focal e 35 controles saudáveis. Os resultados mostraram que em comparação com os controles, os pacientes epiléticos apresentaram menores níveis séricos de BDNF e IGF-1, piores índices de função autonômica e redução da autorregulação do fluxo cerebral. Em relação às características clínicas da epilepsia, níveis reduzidos de BDNF foram encontrados no subgrupo de pacientes que apresentavam crises focais com evolução para movimentos tônicos-clônicos bilaterais.

Tabela 1 - Estudos que investigaram os níveis plasmáticos de BDNF na epilepsia.

Autor	Amostra	Resultados
La France et al, 2010	- 15 epiléticos - 14 portadores de CNEPs - 17 controles	- O grupo controle apresentou níveis mais elevados de BDNF quando comparados com CNEPs e portadores de Epilepsia.
Hong et al, 2014	- 135 epiléticos - 34 controles	- Os níveis de BDNF não diferiram entre controles e pacientes. - A duração da epilepsia e a frequência de crises tiveram correlação negativa com os níveis de BDNF. - Sexo, mas não idade, foi um fator relacionado aos níveis de BDNF tanto em controles quanto em pacientes. Os homens apresentaram maiores níveis de BDNF.
Ismail et al, 2015	- 30 lactentes em fase de amamentação (<2 anos) portadores de epilepsia idiopática - 15 controles saudáveis, lactentes em fase de amamentação.	- BDNF sérico e no leite materno estão mais elevados em lactentes epiléticos do que nos controles. - BDNF sérico e no leite materno estão mais elevados nos casos de doença mais prolongada e com maior frequência de crises.
Chen et al, 2016	- 22 controles - 34 portadores de ELT, dos quais: 11 ELT bilateral 23 ELT unilateral	- Níveis de BDNF significativamente mais baixos na ELT quando comparados aos controles, com contribuição mais significativa do grupo bilateral, que também tinha crises mais frequentes. - Os níveis de BDNF correlacionaram-se com a duração da epilepsia e anisotropia fracional no lobo temporal esquerdo, tálamo esquerdo e hipocampo direito
Chen et al, 2018	- 57 portadores de epilepsia focal - 35 controles	- Níveis menores de BDNF sérico em portadores de epilepsia em comparação ao grupo controle - Níveis maiores de BDNF sérico no subgrupo de pacientes que apresentava crises focais com evolução para movimentos tônico-clônicos bilaterais do que no subgrupo apenas com crises focais.

Em resumo, os estudos sobre o comportamento do BDNF no período interictal ainda são inconclusivos. Em seres humanos com ELT, foi demonstrado um aumento de ambos RNAm (MURRAY *et al.*, 2000) e forma protéica (TAKAHASHI *et al.*, 1999) do BDNF, em tecidos de hipocampo ressecados cirurgicamente. Entretanto, alguns estudos mostraram redução dos níveis plasmáticos interictais nos pacientes epiléticos em comparação aos controles, redução que seria maior nos casos de epilepsia com maior duração. Uma possível explicação para a

redução do BDNF na epilepsia crônica pode vir de modelos experimentais de epilepsia em ratos com crises induzidas por eletrochoque, onde, mecanismos epigenéticos foram implicados na demetilação observada na região IX no BDNF, provocada por essas crises induzidas (AID *et al.*, 2007). Além disso, estudos sobre a plasticidade mostraram que o *GADD45b* está associado à demetilação dependente de crises induzidas por EC, e que, crises podem disparar a demetilação também em precursores do BDNF (MA *et al.*, 2009). Crises induzidas por EC e *kindling* provocaram também, aumento da expressão cerebral de formas normais e truncadas do RNAm do Trkb (NYBUYA *et al.*, 1995). E ainda, lesões nas vias aferentes maiores do hipocampo têm sido implicadas no aumento das formas truncadas, mas não nas normais, do RNAm Trkb (BECK *et al.*, 1993). Somados, esses resultados podem construir um paradigma no qual crises de repetição e possíveis lesões epileptogênicas poderiam simultaneamente aumentar o BDNF central, e também, aumentar a sinalização através de uma via de atenuação truncada Trkb. Tal sinalização aberrante poderia potencialmente levar aos níveis reduzidos de BDNF plasmático em portadores de ELT com o decorrer do tempo (LAFRANCE *et al.*, 2010).

O outro fator neurotrófico avaliado pelo presente estudo é o GDNF. O envolvimento do sistema de sinalização do GDNF na epilepsia tem sido estudado em modelos animais sob dois diferentes ângulos. O primeiro, mais tradicional, foca na regulação da expressão do GDNF depois das crises epiléticas e do possível efeito neuroprotetor de perda neuronal induzida pelas crises (IBANEZ *et al.*, 2017). Há exemplos de aumento do GDNF após a crise epilética têm sido descritos em modelos animais (REEBEN *et al.*, 1998 – TRUPP *et al.*, 1997). Entretanto, a administração de GDNF mostrou sinais positivos de neuroproteção em apenas um estudo (MARTIN *et al.*, 1995), mas não em outro (KANTER-SCHLIFKE *et al.*, 2009). Essas diferenças podem ser resultantes de paradigmas experimentais diversos usados para induzir a epilepsia e de rotas alternativas de administração do GDNF.

O segundo grupo de pesquisas foca nas funções endógenas do GDNF e seus receptores na atividade de redes neurais relacionadas ao desenvolvimento de crises. Devido aos seus efeitos no desenvolvimento de neurônios gabaérgicos, a sinalização defeituosa dos receptores GRF α 1 provocou hiperatividade cortical e aumento da sensibilidade a subdoses de agentes epileptogênicos (CANTY *et al.*, 2009).

Até o momento não foram publicados estudos que avaliaram os níveis plasmáticos de GDNF em pacientes portadores de epilepsia já estabelecida. Portanto, considerando a

necessidade de melhor entendimento da fisiologia dos fatores neurotróficos na epilepsia, propomos o presente estudo.

A nossa hipótese é que os níveis séricos de BDNF estarão reduzidos nos pacientes portadores de epilepsia, sendo que os níveis mais baixos serão encontrados nos casos de maior gravidade e com comorbidade depressiva. Os níveis de GDNF também estarão alterados nesse grupo, porém resta saber se elevados ou reduzidos, já que não existem estudos prévios na literatura.

2 – OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Investigar a concentração dos fatores neurotróficos BDNF e GDNF plasmáticos em pacientes portadores de epilepsia do lobo temporal, no período interictal.

Objetivos específicos

- Realizar a caracterização sóciodemográfica da amostra
- Avaliar os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF em pacientes com epilepsia de lobo temporal no período interictal e compará-los com controles saudáveis;
- Comparar os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF em subgrupos de pacientes com epilepsia de lobo temporal de acordo com características clínicas, como duração da doença, frequência de crises, fármacos antiepilépticos usados e achados à RM;
- Avaliar os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF em pacientes com epilepsia de lobo temporal com e sem sintomas depressivos.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento da pesquisa

Estudo transversal observacional, envolvendo 66 pacientes com diagnóstico de epilepsia de lobo temporal com ou sem esclerose mesial acompanhados no Ambulatório de Epilepsia do Serviço de Neurologia do Hospital das Clínicas da UFMG, além de 52 indivíduos controles sem doenças psiquiátricas, pareados por gênero e idade. Os controles foram os familiares dos pacientes que concordaram em participar da pesquisa. As entrevistas aconteceram em consultórios do Ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da UFMG, onde foram explicitados todos os procedimentos da pesquisa, esclarecidas eventuais dúvidas e obtido o consentimento do paciente por meio de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP/UFMG).

Critérios de Inclusão

- Idade maior que 18 anos.
- Diagnóstico clínico de epilepsia de lobo temporal baseado na história clínica, semiologia das crises, resultados de eletroencefalograma interictal e/ou ictal e exames de ressonância magnética.

Critérios de Exclusão

- Portadores de outras doenças neurológicas.
- Portadores de doenças inflamatórias crônicas.
- Portadores de neoplasias malignas.
- Uso de medicação imunomoduladora nas seis semanas anteriores à coleta.
- Cirurgia ou trauma extenso no mês precedente à coleta.
- Portadores de insuficiência hepática ou renal, doença psiquiátrica grave ou gravidez.
- Ter uma crise epilética nos últimos 3 dias.
- Não consentimento para a participação no estudo.

Instrumentos Clínicos

Anamnese

Foi realizada anamnese com coleta dos dados sociodemográficos do participante (idade, sexo, escolaridades, estado civil, profissão), diagnóstico e resultados do eletroencefalograma e ressonância magnética do encéfalo, calendário de crises, tempo de diagnóstico, história pregressa e familiar, presença de comorbidades e dados sobre os medicamentos em uso (dose, efeitos colaterais e farmacoresistência).

Mini-exame do estado mental (MEEM)

O MEEM é o teste de rastreio de funções cognitivas para pessoas adultas mais utilizado em todo o mundo. É um teste rápido, de fácil aplicação e que não requer material específico. É composto por questões agrupadas em várias categorias, cada uma delas desenhada com o objetivo de avaliar funções cognitivas específicas: orientação temporal e orientação espacial, atenção, memória recente, cálculo, linguagem, gnosis e praxia (FOLSTEIN *et al*, 1975). O objetivo da aplicação do MEEM foi excluir indivíduos com déficit cognitivo, tanto estático quanto progressivo, como nos casos das demências.

Escala de avaliação para depressão de Hamilton (HAM-D)

A HAM-D (HAMILTON, 1960) é o instrumento de avaliação de sintomas depressivos mais utilizado no mundo. A versão proposta originalmente possui 21 itens (HAMILTON, 1960). Posteriormente, foi proposta uma simplificação para 17 itens em virtude da pequena ocorrência dos 4 últimos itens da escala original, a saber, variação diurna, sintomas de desrealização/despersonalização, sintomas paranóides e sintomas obsessivo-compulsivos (HAMILTON, 1967). A versão de 24 itens inclui, além dos 21 itens originais, questões sobre desamparo, desesperança e baixa autoestima. A HAM-D já mostrou possuir boas propriedades psicométricas, validade e confiabilidade na depressão (HEDLUNG *et al*, 1979). Utilizamos a versão de 21 itens, cujo escore máximo é 62 pontos. São sugeridos os seguintes pontos de corte: menor que 7 para eutímia, entre 7 e 13 para presença de sintomas depressivos leves, e, maior ou igual a 14, para depressão moderada e grave (GORESTEIN *et al*, 2000).

Coleta de sangue periférico

Após a avaliação clínica dos pacientes, foram coletados 15 ml de sangue venoso em tubos à vácuo contendo EDTA (6ml). As amostras de sangue foram levadas ao Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica (LIIM) – Faculdade de Medicina/UFMG, mantidas à temperatura ambiente e processadas dentro de, no máximo, três horas. Aproximadamente 9 ml de sangue de cada paciente ou indivíduo controle foram centrifugadas a 3000 rpm, a 4°C, por 10 minutos para separação do plasma, que foi coletado e congelado em freezer à temperatura de -70°C até o momento da quantificação dos fatores neurotróficos por ensaio imunoenzimático (ELISA).

Análise dos fatores neurotróficos no plasma

As amostras de plasma obtidas previamente foram descongeladas para avaliação dos níveis dos fatores neurotróficos BDNF e GDNF por ELISA tipo sanduíche, utilizando-se kits *Duoset* da empresa *R&D Systems*.

Para a técnica de ELISA, brevemente, a cada poço da placa foram adicionados 100 µL de solução contendo anticorpo monoclonal contra os fatores neurotróficos a serem mensurados diluídos em PBS (anticorpo de captura). As placas foram incubadas por, pelo menos, 12 horas a 4° C. Os anticorpos não aderidos nas placas foram descartados por inversão e lavagem em PBS–Tween 0,1%. Em seguida, as placas foram bloqueadas com 200 µL/poço de uma solução contendo albumina de soro bovino (BSA) 1%, durante 2 horas à temperatura ambiente. Após nova lavagem das placas, em cada poço foram adicionados 100 µL da amostra ou padrão. As placas foram novamente incubadas por pelo menos 12 horas a 4°C e em seguida lavadas. Anticorpos conjugados com biotina e diluídos em BSA 0,1%, foram incubados por duas horas à temperatura ambiente.

Em seguida, após nova lavagem, foram acrescentados 100 µL/poço de estreptavidina conjugada com peroxidase às placas, que foram incubadas por 30 minutos à temperatura ambiente. Finalmente, após nova lavagem, o cromógeno Ø-fenileno-diamina (OPD) foi aplicado às placas, incubadas na ausência de luz. A reação foi interrompida com solução contendo ácido sulfúrico 1M. A leitura da intensidade de marcação foi realizada em leitor de

ELISA no λ de 490 nM (*SOFTmax Pro* – versão 2.2.1). Essa análise foi realizada no Laboratório Interdisciplinar de Investigação Médica da Faculdade de Medicina da UFMG.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software SPSS versão 22.0. Após a realização das análises descritivas, a normalidade dos dados foi investigada com o teste de Shapiro-Wilk e Kolmogov-Smirnov.

Para análise comparativa das variáveis contínuas, que seguiam distribuição normal foi utilizado o Teste-T. Para as variáveis contínuas que não seguiam distribuição normal, foram utilizados os testes de Wilcoxon-Mann-Whitney e Kruskal Wallis.

Para a comparação de variáveis categóricas foram utilizados o teste Qui-quadrado e o teste de Fisher. Para análise da correlação foi utilizado o teste de Spearman.

Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

4- RESULTADOS

As características clínicas e sociodemográficas de 66 pacientes com ELT e 52 controles estão apresentadas na tabela 1. Não foram observadas diferenças significativas entre sexo, idade e presença de comorbidade depressiva ao comparar os grupos. Em relação ao estado civil e escolaridade, foram encontradas diferenças, com uma maior frequência de solteiros, e aposentados por doença no grupo de pacientes (Tabela 1). A idade média de início das crises foi 7,6 anos. A frequência média de crises foi 3,3 por mês e o número médio de fármacos antiepilépticos usados foi 2,5. O tempo médio de duração da epilepsia foi de 28,9 anos (Tabela 2).

Não houve diferença nas dosagens plasmáticas de BDNF e GDNF quando comparados os grupos de portadores de TLE e controles (Tabela 3 e Figura 5).

Tabela 2- Características demográficas e clínicas da amostra

	Total (n = 118)		
	ELT (n=66)	Controles (n=52)	Valor p
Sexo, n (%)			
Homens	33 (49,3%)	21 (48,6%)	0,335 ^a
Mulheres	34 (50,7%)	31 (51,4%)	
Estado Civil, n (%)			
Solteiro	34 (52,2%)	16 (30,8%)	0,027 ^{b*}
Casado/União Estável	24 (35,8%)	32 (61,5%)	
Divorciado	7 (10,5%)	4 (7,7%)	
Viúvo	1 (1,5%)	0 (0,0%)	
Idade média, anos (DP)	42,34 (10,9)	41,38 (8,9)	0,474 ^c
Escolaridade média, anos (DP)	7,99 (3,6)	11,48 (5,8)	p < 0,001 ^{c*}
Idade média de início da Epilepsia, anos (Variação)	7,6 (0-50)		
Tempo médio de duração da epilepsia, anos (Variação)	28,9 (1,5-57)		
Frequência média de crises, por mês (Variação)	3,3 (0-60)		
Tipo de crise, n (%)			
Focal perceptiva	1 (1,5%)		
Focal aperceptiva	23 (35,4%)		
Focal perceptiva e aperceptiva	5 (7,7%)		
Com evolução para movimentos tônico-clônicos bilaterais	37 (55,4%)		
Número médio de fármacos antiepilépticos usados (variação)	2,5 (1-4)		
Esquema medicamentoso, n (%)			
Monoterapia	5 (7,5%)		
2 FAEs	24 (37,2%)		
3 FAEs	33 (49,3%)		
4 FAEs	4 (6%)		
RM de encéfalo, n (%)			
EMD	18 (27,2%)		
EME	24 (36,5%)		
EMB	6 (9,1%)		
Sem EM	18 (27,2%)		
Comorbidade depressiva (n=79). n (%)			
Sem depressão	18 (46,2%)	27 (67,5%)	p = 0,397 ^c
Com depressão	21 (53,8%)	13 (32,5%)	
Escores Escala HAM-D , média,(DP)	9,82 (8,65)	5,67 (4,97)	p=0,331 ^c

ELT = epilepsia de lobo temporal; DP = desvio padrão; FAE = fármacos antiepilépticos; RM = ressonância magnética; EMD – esclerose mesial direita; EME – esclerose mesial esquerda; EMB – esclerose mesial bilateral; EM = esclerose mesial.

^a qui-quadrado de Pearson - ^b teste exato de Fisher - ^c teste de Mann-Whitney / * significância estatística

Tabela 3 - Níveis plasmáticos interictais de BDNF e GDNF em portadores de ELT e controles.

	Mediana (IIQ)	Mediana (IIQ)	Valor p
BDNF	3804,47 (8749,96)	3702,30 (2985,82)	0,474 ^a
GDNF	62,91 (340,29)	62,91 (194,79)	0,830 ^a

IIQ = intervalo interquartil
^a Teste de Mann-Whitney

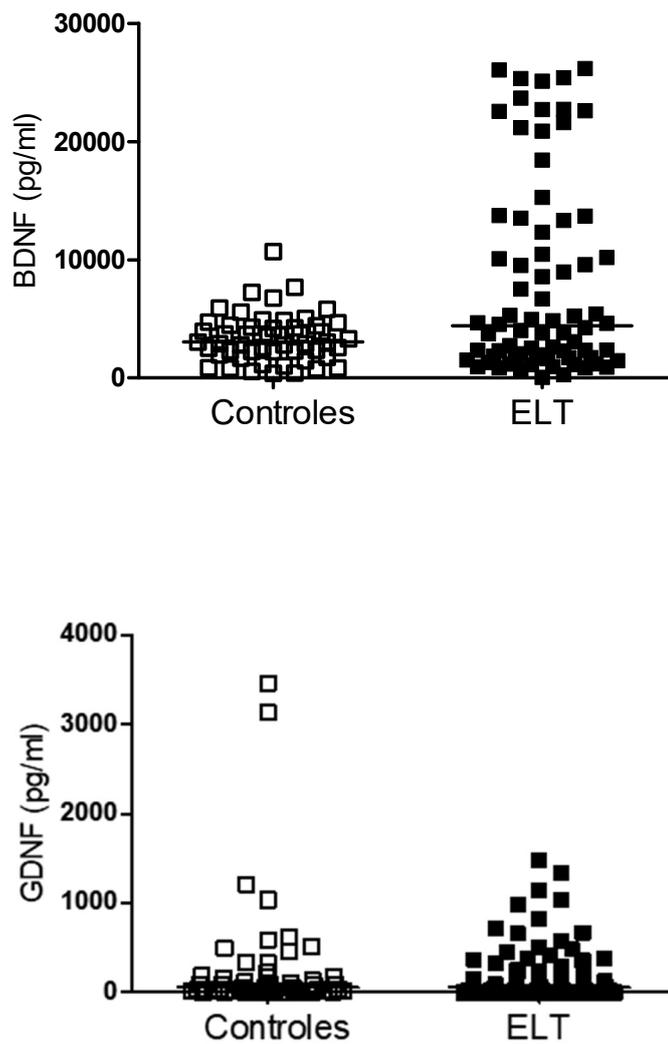


Figura 5 - Níveis plasmáticos de BDNF e GDNF em indivíduos controles e pacientes com ELT. Diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$ (Teste de Mann-Whitney).

Comparação das dosagens plasmáticas de BDNF e GDNF com características clínicas da ELT

Os indivíduos portadores de ELT foram subdivididos em grupos de acordo com características clínicas variadas e os valores de BDNF e GDNF foram comparados. Em relação à frequência de crises, os pacientes foram separados em 2 subgrupos: 1) crises infrequentes: menos de uma crise por mês (n=16); 2) crises frequentes: uma ou mais crises por mês (n=50). Como demonstrado na figura 6, não houve diferença para BDNF e GDNF em relação a essa variável clínica.

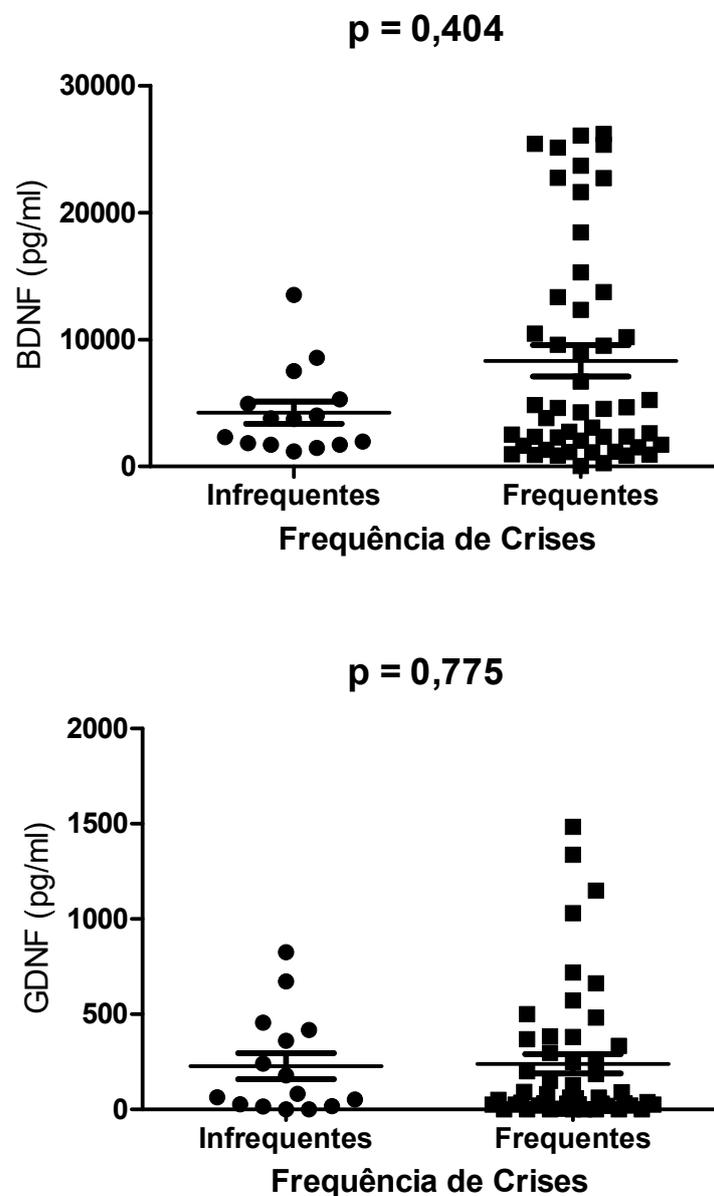


Figura 6 - Níveis de BDNF e GDNF plasmáticos em subgrupos de portadores de ELT de acordo com a frequência de crises. Diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$ (Teste de Mann-Whitney).

Quanto ao tempo de evolução da doença, os grupos foram divididos em 2 categorias: 1) 0 a 29 anos ($n = 37$) e mais que 30 anos ($n = 29$). Não encontramos diferenças significativas nos níveis de GDNF entre os grupos (figura 7). Por outro lado, verificou-se uma redução dos níveis plasmáticos de BDNF naqueles pacientes com mais de 30 anos de duração da epilepsia (figura 8).

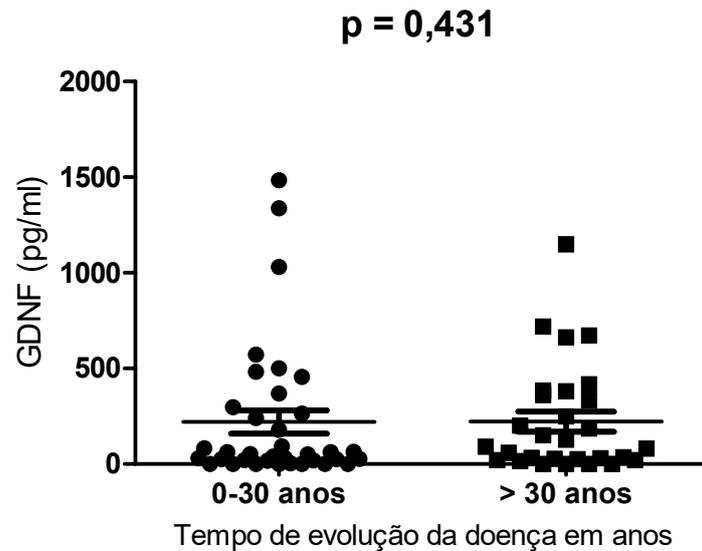


Figura 7- Níveis de GDNF plasmático em subgrupos de portadores de ELT de acordo com o tempo de duração da doença, em anos. Diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$. (teste de Mann-Whitney).

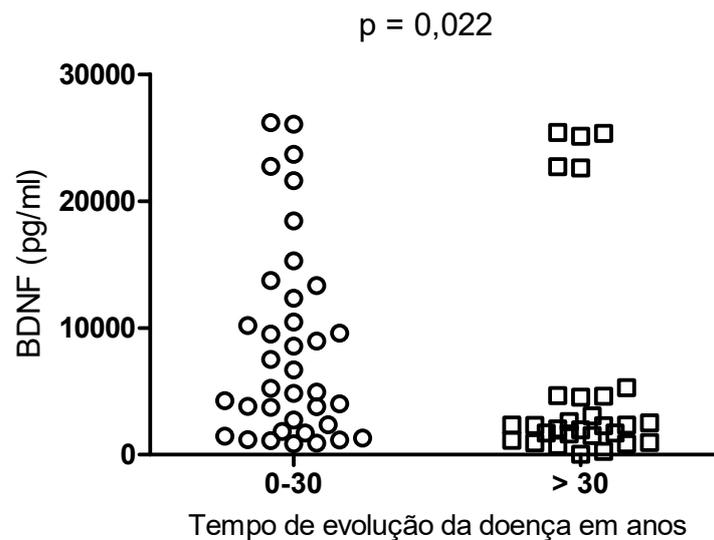


Figura 8 - Níveis de BDNF plasmático entre subgrupos de portadores de ELT de acordo com o tempo de duração da doença, em anos. Diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$. (teste de Mann-Whitney)

A população de pacientes com ELT também foi avaliada em relação à presença de EMT pelos achados da ressonância magnética (RM). Os pacientes foram subdivididos em grupos de acordo com a presença e localização da esclerose hipocampal da seguinte forma: 1) presença de esclerose mesial temporal direita (EMTD); 2) presença de esclerose mesial temporal esquerda (EMTE); 3) presença de esclerose mesial temporal bilateral (EMTB); 4) ausência de EMT (Figura 10). Não foram observadas diferenças significativas nos níveis de BDNF e GDNF plasmáticos entre os grupos.

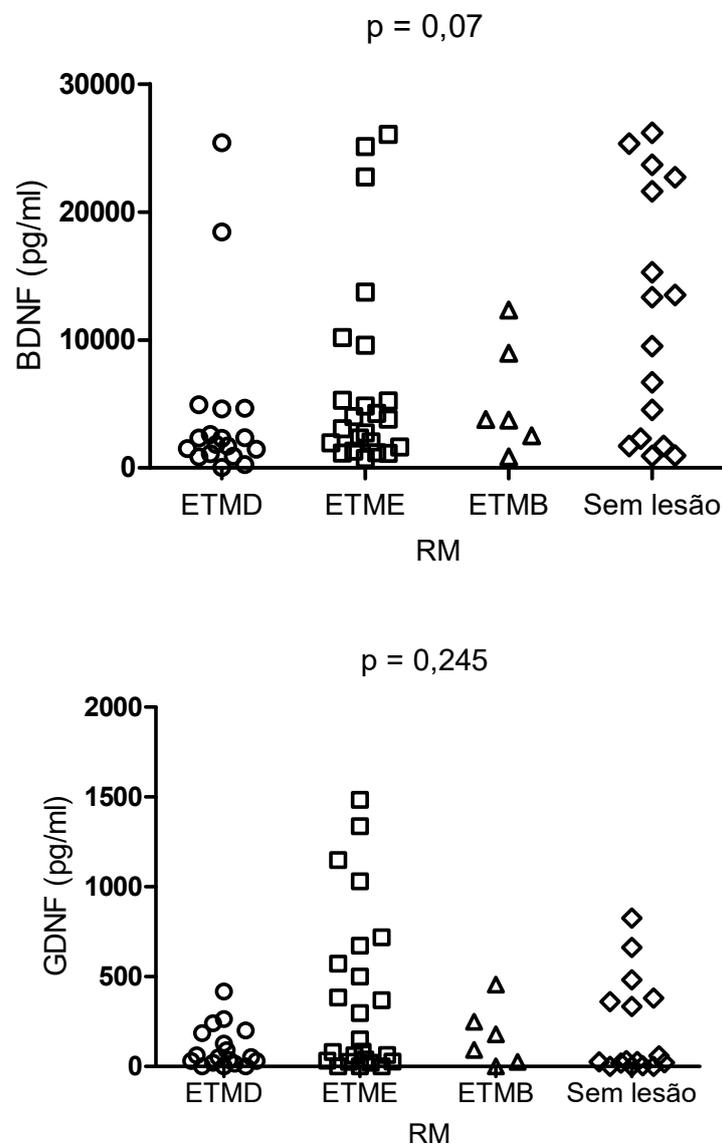


Figura 9 - Níveis de BDNF e GDNF plasmáticos em subgrupos de portadores de ELT de acordo com os achados à RM. EMTD = esclerose mesial temporal direita; EMTE = esclerose mesial temporal esquerda; EMTB = esclerose mesial temporal bilateral. Diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$ (teste de Kruskal Wallis).

Quando avaliamos a utilização de fármacos antiepiléticos (FAE), não verificamos diferenças dos níveis plasmáticos de BDNF e GDNF de acordo com número de medicamentos usados no tratamento (Figura 12).

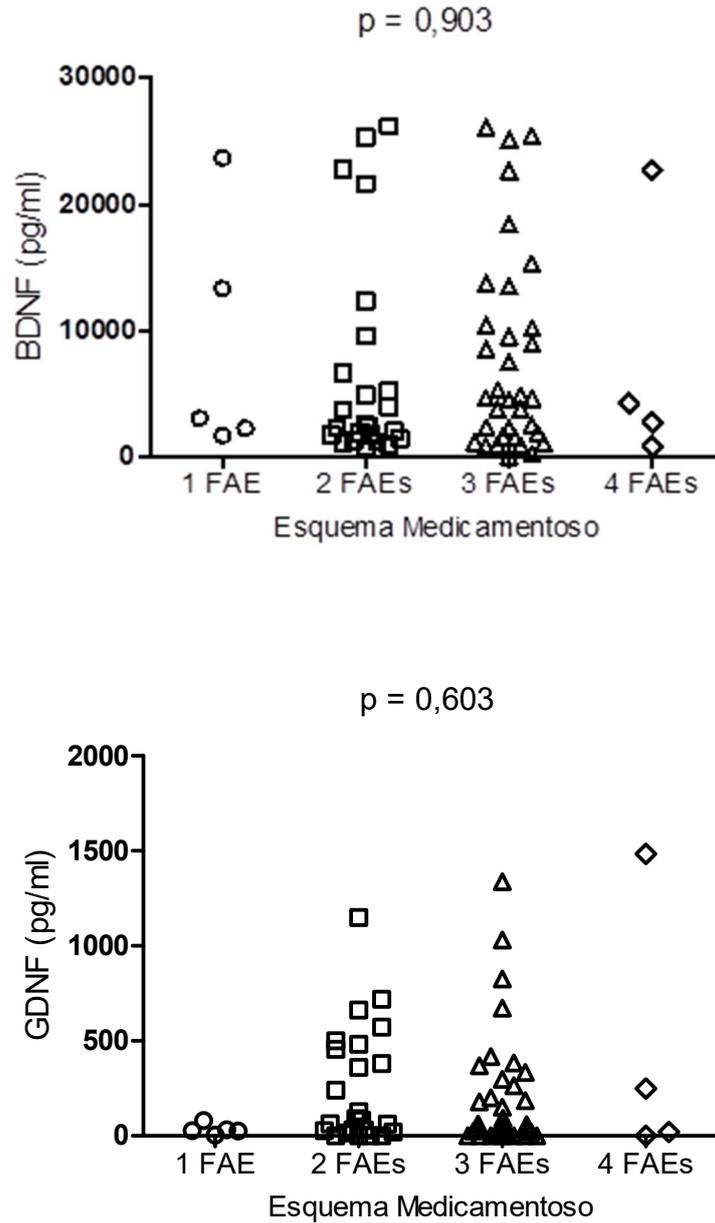


Figura 10 - Níveis de BDNF e GDNF plasmáticos entre subgrupos de portadores de ELT de acordo com o número de fármacos antiepiléticos usados. Diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$ (Teste de Kruskal Wallis). FAEs = fármacos antiepiléticos.

Avaliação dos níveis plasmáticos de BDNF e GDNF e a presença de sintomas depressivos

Foram comparados os escores da escala HAM-D entre os grupos de pacientes e controles e não foram encontradas diferenças significativas (figura 13). Posteriormente a amostra foi categorizada em: (1) sem depressão quando o resultado da escala HAM-D foi menor ou igual a 13, e (2) com depressão, quando a HAM-D foi maior que 13. Não foram encontradas diferenças significativas com relação a presença de sintomas depressivos entre os grupos (figura 14). . O teste de correlação de Spearman não mostrou correlação estatística, com $p=0,963$ para o BDNF e $p=0,68$ para o GDNF.

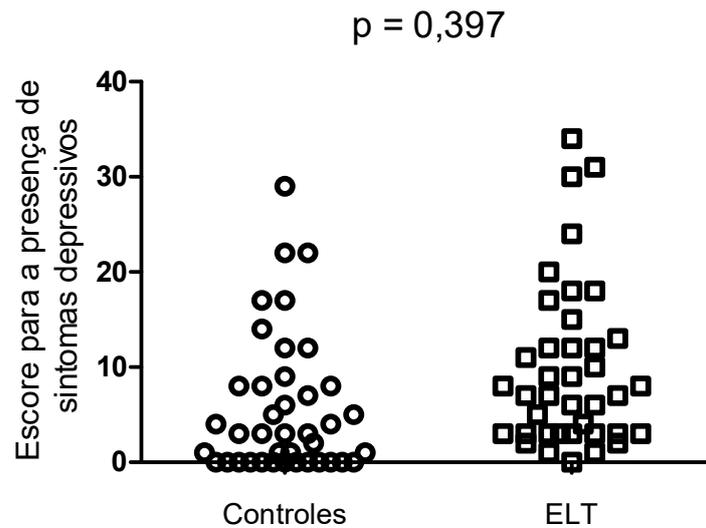


Figura 11 - Escores da escala HAM-D entre portadores de ELT e controles. Diferenças são consideradas significativas quando $p < 0,05$ (Teste de Mann-Whitney).

5 - DISCUSSÃO

Esse trabalho envolveu pacientes com o diagnóstico de ELT em acompanhamento em um centro terciário de epilepsia e controles sem epilepsia. É um estudo transversal com o objetivo de investigar se características sociodemográficas e clínicas de pacientes com ELT estão associadas com níveis plasmáticos dos fatores neurotróficos BDNF e GDNF. A amostra compôs-se de 66 pacientes e 52 controles.

É importante enfatizar a escassez de estudos que investigam os níveis plasmáticos de fatores neurotróficos na epilepsia, além dos dados ainda incertos resultantes desses estudos. Ressaltamos que, até o presente momento, não foram publicados estudos que investigaram os níveis plasmáticos do GDNF na epilepsia.

Os resultados dos dados sociodemográficos apresentados estão de acordo com resultados prévios da literatura com mais indivíduos solteiros e com menor grau de escolaridade no grupo de pacientes portadores de epilepsia (SHACKLETON *et al.*, 2003). Esses aspectos podem ser explicados pela dificuldade que os pacientes encontram em frequentar a escola devido às crises epiléticas imprevisíveis e recorrentes, e por vezes, deficiências de aprendizado que podem decorrer tanto da patologia quanto do uso crônico de medicamentos. A partir desses fatores pode sobrevir o isolamento social, uma característica frequente em pacientes com epilepsia (AUSTIN & DEBOEER, 1997). Como consequência, ocorre redução das oportunidades de interação, o que por sua vez, pode resultar em menores chances na formação de amizades e relacionamentos, resultando em uma maior frequência de solteiros em pacientes com epilepsia (COLLINGS, 1990).

Não houve diferença significativa nas dosagens plasmáticas de BDNF e GDNF entre portadores de ELT e controles, dado que, no que diz respeito ao BDNF, está de acordo com o estudo de Hong e colaboradores (HONG, 2014). Entretanto, seu estudo não se limitou à ELT, investigando a epilepsia como um todo, com a inclusão de diversas síndromes. Três outros estudos verificaram que os portadores de epilepsia possuíam menores níveis de BDNF plasmáticos interictais que os controles (LAFRANCE *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2018), sendo que o trabalho de Chen e colaboradores em 2016, assim como o nosso, investigou apenas portadores de ELT. O estudo de LaFrance e colaboradores possui algumas limitações constituídas por uma pequena amostra de pacientes ($n = 15$), composta por

síndromes epilépticas variadas e, ainda, uma média da idade da amostra de controles, 19,8 anos menor que a média da idade da amostra de pacientes.

Não encontramos diferença significativa entre os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF quando subdividimos o grupo de pacientes de acordo com características clínicas como frequência e tipos de crises, achados à ressonância magnética e número de fármacos antiepilépticos utilizados. O estudo de Chen e colaboradores (CHEN *et al.*, 2016) encontrou níveis menores de BDNF nos pacientes com maior frequência de crises e portadores de esclerose mesial bilateral, que seriam duas características indicadoras de maior intensidade da doença. Um segundo estudo de Chen e colaboradores (CHEN *et al.*, 2018) verificou maiores níveis de BDNF no subgrupo de pacientes que apresentava crises focais com evolução para movimentos tônico-clônicos bilaterais do que no grupo com crises focais apenas. Nesse estudo não houve associação com, frequência de crises, presença de ETM à RM. ou tempo de evolução da doença. Porém o tempo médio de duração da epilepsia nessa pesquisa foi 19,8 anos enquanto no nosso estudo foi 28,9 anos.

No nosso estudo, assim como no de CHEN e colaboradores (CHEN *et al.*, 2016), uma relação inversa entre os níveis plasmáticos de BDNF e maior duração da epilepsia foi encontrada, porém apenas naqueles pacientes com mais de 30 anos de evolução da doença. Discute-se se as concentrações de BDNF são estágio-dependente como já demonstrado na doença de Alzheimer, onde são encontrados níveis elevados nas fases iniciais da doença, e níveis reduzidos nas fases avançadas (LASKE *et al.*, 2006). Sugere-se que essa redução constitui uma ausência de suporte trófico e contribui para a degeneração progressiva de regiões específicas do cérebro afetado pela doença de Alzheimer (LASKE *et al.*, 2006). Propomos a hipótese que a redução dos níveis de BDNF na epilepsia de longa duração tanto é causada pelo processo patológico crônico, como também contribui para alterações cerebrais funcionais e estruturais subjacentes ao processo neurodegenerativo relacionado à epilepsia prolongada e grave.

Apesar da forte evidência que associa alterações do BDNF com a fisiopatologia da epilepsia, existem algumas questões que permanecem obscuras. Um ponto importante a ser considerado é se níveis circulantes de BDNF realmente refletem sua expressão cerebral.

A relação entre níveis centrais e periféricos de BDNF tem sido estudada, em sua maioria, em modelos de roedores. Duas séries sugerem que há relação positiva significativa entre os níveis cerebrais e plasmáticos (SARTORIUS *et al.*, 2009; KLEIN *et al.*, 2011). Entretanto, em

um estudo em um modelo experimental de ratos com epilepsia, o BDNF plasmático permaneceu inalterado e o BDNF líquido foi indetectável, enquanto houve uma robusta elevação em ambas, proteína e RNAm, em diversas áreas cerebrais (LANZ *et al.*, 2012). Em humanos, O BDNF pode ser medido no plasma, soro ou líquido. Existem fontes periféricas potenciais de BDNF que podem afetar seus níveis plasmáticos, como as células endoteliais (NAKASHI *et al.*, 2000), monócitos (SCHULTE-HERBRUGGEN *et al.*, 2005) e miócitos (PEDERSEN & FEBBRAIO, 2012), que podem sintetizá-lo, e ainda, as plaquetas (IUGUETTI *et al.*, 2011), que podem armazená-lo. Outros fatores como estresse oxidativo, danos da barreira hematoencefálica e neuroinflamação têm sido relacionados a mudanças nos níveis do BDNF plasmático (BUS *et al.*, 2011).

Outros fatores que poderiam atuar como fatores de confusão alterando os níveis plasmáticos de BDNF são a idade, sexo, variações circadianas e o uso de fármacos anticonvulsivantes. Os dados sobre as alterações do BDNF com a faixa etária têm se mostrado inconsistentes, ora mostrando redução com o avançar da idade (ERICKSON *et al.*, 2010; ZIEGENHORN *et al.*, 2007), ora mantendo-se constantes (YASUTAKE *et al.*, 2006; SEM *et al.*, 2008). Porém estudos que mostraram declínio dos níveis de BDNF com o avançar da idade, estudaram apenas pessoas com mais de 59 anos (ERICKSON *et al.*, 2010; ZIEGENHORN *et al.*, 2007). Alguns estudos prévios demonstraram que mulheres apresentaram níveis menores de BDNF plasmáticos (KAREGE *et al.*, 2002) ou do conteúdo plaquetário de BDNF (LOMMATZSCH *et al.*, 2005) que os homens; embora vários outros estudos não tenham detectado diferenças ((ERICKSON *et al.*, 2010; ZIEGENHORN *et al.*, 2007; YASUTAKE *et al.*, 2006).

Tem sido demonstrado que o uso prolongado de fármacos anticonvulsivantes (FAEs) contribui para a aterosclerose (TAN *et al.*, 2009) e estresse oxidativo em pacientes epiléticos, o que poderia estar relacionado à redução do BDNF periférico. No presente estudo, os pacientes que usaram maior número de FAEs não apresentaram níveis menores de BDNF ou GDNF. Uma questão que permanece não resolvida é se determinados FAEs impactam mais os níveis dos fatores neurotróficos que outros. Um estudo encontrou que o fenobarbital, ácido valpróico e fenitoína reduziram os níveis de RNAm no cíngulo, hipocampo e tálamo em ratos (BITTIGAU *et al.*, 2002), mas não há estudos que investigaram essa associação em seres humanos.

Não encontramos diferença entre os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF nos grupos de pacientes e controles com e sem sintomas depressivos. A hipótese neurotrófica da depressão

postula que o estado depressivo é associado com neuroplasticidade reduzida, atrofia neuronal e/ou neurogênese aberrante em áreas cerebrais “chave” relacionadas ao humor e memória (LANG & BORGWARDT, 2013). Principalmente o BDNF tem sido extensivamente investigado, com vários estudos mostrando que seus níveis plasmáticos estão reduzidos em pacientes portadores de depressão se comparados com indivíduos controle e que esses níveis se elevam após tratamentos bem sucedido com medicamentos antidepressivos ou eletroconvulsoterapia (BRUNONI *et al.*, 2008).

Existem algumas limitações no presente estudo. Primeiramente, deve-se ter em mente que os nossos resultados podem não ser representativos para toda a população de indivíduos com epilepsia de lobo temporal, já que a amostra aqui estudada representa uma população altamente selecionada, proveniente de um centro terciário de referência, especializado nos casos de difícil controle medicamentoso. Outra limitação é o tamanho da amostra pois quando os grupos foram subdivididos de acordo com as variáveis clínicas criaram-se subgrupos muito pequenos em algumas situações.

Cabe aqui ressaltar ainda a importância da publicação de resultados negativos desde que sejam frutos de experimentos realizados sobre hipóteses sólidas. Ao se publicar somente resultados positivos, o público tende a ter uma visão enviesada e limitada da pesquisa. A publicação de resultados negativos pode gerar uma grande troca de informações e melhores resultados gerais alcançados pela comunidade científica.

6 – CONCLUSÃO

Não encontramos diferenças entre os níveis plasmáticos de BDNF e GDNF entre portadores de ELT e controles. Quando analisamos as diferentes características clínicas da ELT (tempo de evolução da doença, frequência de crises, achados à RM de encéfalo e número de FAEs usadas) a única associação estatisticamente significativa encontrada foi entre níveis reduzidos de BDNF e duração muito prolongada da doença (maior que 30 anos). Não houve diferença significativa do BDNF plasmático entre os portadores e não-portadores de comorbidade depressiva. Os níveis de GDNF plasmático não estava alterado quando estudado de acordo com as características clínicas da ELT ou a presença de sintomas depressivos.

7 – REFERÊNCIAS

- AIRAKSINEN, M.; SAARMA, M. The GDNF Family: Signalling, Biological Functions and Therapeutic Value. **Nat Rev Neurosci.** , v. 3, p. 383-394, May 2002.
- ALDERSON, R. et al. Brain-derived neurotrophic factor increases survival and differentiated functions of rat septal cholinergic neurons in culture. **Neuron**, v. 5, p. 297-306, Sep 1990.
- ARENAS, E. et al. GDNF prevents degeneration and promotes the phenotype of brain noradrenergic neurons in vivo. **Neuron** , v. 15, p. 1465-1473, 1995.
- BELL, B. et al. The neurobiology of cognitive disorders in temporal lobe epilepsy, v. 7, p. 154-164, 2011.
- BENNETT, D. et al. A distinct subgroup of small DRG cells express GDNF receptor components and GDNF is protective for these neurons after nerve injury. **J Neurosci**, v. 18, p. 3059-72, Apr 1998.
- BERG, A. et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. **Epilepsia**, p. 676-85, April 2010.
- BERG, A.; SCHEFFER, I. New concepts in classification of the epilepsies: entering the 21st century. **Epilepsia**, v. 52, p. 1058-1062, 2011.
- BINDER, D. K.; ROUTBORT, M. J.; MCNAMARA, J. O. Immunohistochemical evidence of seizure-induced activation of trk receptors in the mossy fiber pathway of adult rat hippocampus, **J. Neurosci.**, v. 19, p. 4616-4626, 1999.
- BINDER, D.; SCHARFMAN, H. Brain-derived neurotrophic factor. **Growth Factors**, v. 22, p. 123-31, 2004.
- BITTIGAU, P. et al. Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. **Proc Natl Acad Sci** , v. 99, p. 15089-94, 2002.
- BLUMCKE, I.; THOM, M.; WIESTLER, O. Ammon's horn sclerosis: a developmental disorder associated with temporal lobe epilepsy. **Brain Pathol**, v. 12, p. 199-211, 2002.
- BROWN, T.; JOHNSTON, D. The synaptic nature of the paroxysmal depolarization shift in hippocampal neurons, v. 16, p. S65-S71, 1984.
- BRUNONI, A.; LOPES, M.; FREGNI, F. A systematic review and meta-analysis of clinical studies on major depression and BDNF levels: implications for the role of neuroplasticity in depression. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 11, p. 1169-80, 2008.
- BUS, B. et al. Determinants of serum brain-derived neurotrophic factor. **Psychoneuroendocrinology**, v. 36, p. 228-39, 2011.
- CENDES, F. Mesial temporal lobe epilepsy syndrome: an updated overview, p. 141-144, 2005.

- CENDES, F. Progressive hippocampal and extrahippocampal atrophy in drug resistant epilepsy, p. 173-177, 2005.
- CHANG, C. et al. Clinical significance of serological biomarkers and neuropsychological performances in patients with temporal lobe epilepsy, p. 12-15, March 2012.
- CHANG, Y. et al. Regulation of microglial activities by glial cell line derived neurotrophic factor. **J Cell Biochem**, v. 97, p. 501-11, Feb 2006.
- CHAO, M. Neurotrophins and their receptors: a converge point for many signaling pathways. **Nat Rev Neurosci.**, v. 4, p. 199-309, 2003.
- CHEN, N. et al. Interictal serum brain-derived neurotrophic factor level reflects white matter integrity, epilepsy severity, and cognitive dysfunction in chronic temporal lobelevel reflects white matter integrity, epilepsy severity, and cognitive dysfunction in chronic. **Epilepsy Behav.**, v. 59, p. 147-54, Jun 2016.
- CHEN, S.-F. et al. Serum Levels of BDNF and IGF-1 are associated with autonomic dysfunction and impaired cerebral autoregulation in patients with epilepsy. **Frontiers in Neurology**, v. 9, p. 1-8, Nov 2018.
- CHEN, Z. et al. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. **Science**, v. 314, p. 140-3, 2006.
- CHOI-LUNDBERG, D.; BOHN, M. Ontogeny and distribution of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) mRNA in rat. **Brain Res Dev Brain Res**, v. 85, p. 80-9, Mar 1995.
- COBB, S. et al. COBB SR, BUHL EH, HALASY K, PAULSEN O, SOMOGYI P, et al. Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons, v. 378, p. 75-8, 1996.
- CONNER, J. M. et al. Distribution of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein and mRNA in the normal adult rat CNS: evidence for anterograde axonal transport. **J. Neurosci.**, p. 2295–2313, 1997.
- CONNOLLY, A. et al. Brain-derived neurotrophic factor and autoantibodies to neural antigens in sera of children with autistic spectrum disorders, Landau-Kleffner syndrome, and epilepsy. **Biol Psychiatry**, v. 59, p. 354-63, Feb 2006.
- COSTA, J. D. et al. **Fundamentos neurobiológicos das epilepsias:** aspectos clínicos e cirúrgicos. São Paulo: Lemos Editorial, 1998.
- EID, T. et al. Novel expression of AMPA-receptor subunit GluR1 on mossy cells and CA3 pyramidal neurons in the human epileptogenic hippocampus. **Eur J Neurosc**, p. 517-27, 2002.
- ENGEL, J. J. Mesial temporal lobe epilepsy: what have we learned? **Neuroscientist** , v. 7, p. 340-352, 2001.
- ERICKSON, K. et al. Brain-derived neurotrophic factor is associated with age-related decline in hippocampal volume. **J Neurosci**, v. 30, p. 5368-75, 2010.
- ERNFORS, P. et al. Increased levels of messenger RNAs for neurotrophic factors in the brain during kindling epileptogenesis. **Neuron.**, p. 165-76, Jul 1991.

ESPINOSA-JOVEL, C. et al. Epidemiological profile of epilepsy in low income populations. **Seizure**, v. 56, p. 67-72, Mar 2018.

FALCO-WALTER, J.; FISHER, I.; SCHEFFER, R. The new definition and classification of seizures and epilepsy. **Epilepsy Res.**, v. 139, p. 73-79, Jan 2018.

FELLIN, T.; HAYDON, P. Do astrocytes contribute to excitation underlying seizures?, v. 11, p. 530-533, 2005.

FERNANDES, M. J. S.; ET, A. Pathophysiological aspects of temporal lobe epilepsy and the role of P2X Receptors. **The Open Neuroscience Journal**, p. 35-43, 2010.

FIACCO, M. D. et al. Topographical localization of glial cell line-derived neurotrophic factor in the human brain stem: an immunohistochemical study of prenatal, neonatal and adult brains. **J Chem Neuroanat**, v. 1, p. 29-48, Jan 2002.

FISHER, R. et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, p. 475–482, 2014.

FISHER, R. et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Epilepsia**, v. 58, p. 531, 2017.

FISHER, R. et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, v. 58, p. 522-530, Ap 2017.

FISHER, R. S. et al. 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.

FRENCH, J. et al. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I: results of history and physical examination. *Ann Neurol* 2004; 34(6): 774-80. **Ann Neurol**, p. 774-80, 2004.

FUKUDA, A.; PRINCE, D. Postnatal development of electrogenic sodium pump activity in rat hippocampal pyramidal neurons. **Brain Res**, v. 65, p. 101-114, 1992.

GARCÍA-MARTÍNEZ, J. et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor promotes the arborization of cultured striatal neurons through the p42/p44 mitogen-activated protein kinase pathway. **J Neurosci Res**, v. 83, p. 68-79, Jan 2006.

GODDARD, G.; MCINTYRE, D.; LEECH, C. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. **Exp Neurol**, p. 295-330, 1969.

HAMBURGUER, V. The history of the discovery of the nerve growth factor. **Journal of Neurobiology**, v. 24, p. 893-7, 1993.

HAMILTON, M. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 23, p. 56-62, 1960.

HAMILTON, M. Development of a rating scale for primary depressive illness. **Br J Soc Clin Psychol**, v. 6, p. 278-96, 1967.

HEDLUNG, J.; VIEWEG, B. The Hamilton Rating Scale for Depression: a Comprehensive Review. **Journal of Operational Psychiatry**, v. 10, p. 149-165, 1979.

- HUANG, E.; REICHARDT, L. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. **Annu Rev Neurosci.** , v. 24, p. 677-736, 2001.
- HYMAN, C. et al. BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. **Nature**, v. 350, p. 230-2, Mar 1991.
- IBÁÑEZ, C.; ANDRESSOO, J. Biology of GDNF and its receptors - Relevance for disorders of the central nervous system. **Neurobiol Dis.**, v. 97 (Pt B), p. 80-89, Jan 2017.
- ISACKSON, P. J. et al. BDNF mRNA expression is increased in adult rat forebrain after limbic seizures: temporal patterns of induction distinct from NGF. **Neuron**, p. 937-948, 1991.
- IUGHETTI, L. et al. Plasma brain-derived neurotrophic factor concentrations in children and adolescents. **Neuropeptides**, p. 205-211, 2011.
- IUGHETTI, L. et al. Brain-derived neurotrophic factor and epilepsy: a systematic review. **Neuropeptides**, v. 72, p. 23-29, Dec 2018.
- KALINOWSKA-LYSZCZARZ, L. The role of neurotrophins in multiple sclerosis - pathological and clinical implications. **Int J Mol Sci.** , v. 13, p. 13713-25, Oct 2012.
- KANDRATAVICIUS, L. et al. Neurotrofinas na Epilepsia de Lobo Temporal. **J. epilepsy clin. neurophysiol.**, Porto Alegre, v. 16, p. 7-12, 2010.
- KAREGE, F. et al. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. **Psychiatry Res**, v. 109, p. 143-8, 2002.
- KATOH-SEMBA, R. et al. Age-related changes in BDNF protein levels in human serum: differences between autism cases and normal controls. **Int J Dev Neurosci**, v. 26, p. 367-72, Aug 2007.
- KENNEDY, D. et al. Neocortical Temporal Lobe Epilepsy. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 29, p. 366-370, 2012.
- KHARATISHVILI, I.; PITKÄNEN, A. Association of the severity of cortical damage with the occurrence of spontaneous seizures and hyperexcitability in an animal model of posttraumatic epilepsy. **Epilepsy Res.** , v. 90, p. 47-59, Jun 2010.
- KIM, W. et al. The prognosis for control of seizures with medications in patients with MRI evidence for mesial temporal sclerosis. **Epilpesia**, v. 40, p. 290-293, 1999.
- KIPP, M. et al. Estrogen and the development and protection of nigrostriatal dopaminergic neurons: concerted action of a multitude of signals, protective molecules, and growth factors. **Front Neuroendocrinol**, v. 27, p. 376-90, Dec 2006.
- KLEIN, A. B. et al. Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 14, p. 347-353, April 2011.
- KOBAYASHI, E. et al. Magnetic resonance imaging evidence of hippocampal sclerosis in asymptomatic, first-degree relatives of patients with familial mesial temporal lobe epilepsy. **Arch Neurol**, v. 59, p. 1891-1894, 2002.

- KOBAYASHI, E. et al. Hippocampal atrophy and T2-weighted signal changes in familial mesial temporal lobe epilepsy. **Neurology**, p. 405-9, 2003.
- KOYAMA, R.; IKEGAYA, T. To BDNF or not to BDNF: that is the epileptic hippocampus. **The Neuroscientist**, v. 11, p. 282-7, 2005.
- KUMAMARU, E. et al. Glucocorticoid prevents brain-derived neurotrophic factor-mediated maturation of synaptic function in developing hippocampal neurons through reduction in the activity of mitogen-activated protein kinase. **Mol Endocrinol**, v. 22, p. 546-58, Mar 2008.
- LANEROLLE, N. D.; LEE, T. New facets of the neuropathology and molecular profile of human temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Behav**, p. 109-203, 2005.
- LANG, U.; BORGWARDT, S. Molecular mechanisms of depression: perspectives on new treatment strategies. **Cell Physiol Biochem**, v. 31, p. 761-77, 2013.
- LANZ, T. et al. Robust changes in expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA and protein across the brain do not translate to detectable changes in BDNF levels in CSF or plasma. **Biomarkers**, v. 17, p. 524-531, 2012.
- LASKE, C. et al. Stage-dependent BDNF serum concentrations in Alzheimer's disease. **J. Neural Transm**, v. 113, p. 1217-24, 2006.
- LEE, J.; DUAN, W.; MATTSON, M. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. **Journal of Neurochemistry**, v. 82, p. 1367-75, 2002.
- LIN, L. et al. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. **Science**, v. 260, p. 1130-1132, 1993.
- LINDHOLM, D.; CARROLL, P.; TZIMAGIORGIS, H, T. Autocrine-paracrine regulation of hippocampal neuron survival by IGF-1 and the neurotrophins BDNF, NT-3 and NT-4. **European Journal of Neuroscience**, v. 8, p. 1452-60, 1996.
- LINDVALL, O. et al. Neurotrophins and brain insults. **Trends Neurosci.**, p. 490-496, 1994.
- LINNARSSON, S.; BJÖRKLUND, A.; ERNFORS, P. Learning deficit in BDNF mutant mice. **Eur J Neurosci**, v. 9, p. 2581-7, 1997.
- LOMMATZSCH, M. et al. The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. **Neurobiol Aging**, v. 26, p. 115-23, 2005.
- LOU, S. et al. Hippocampal neurogenesis and gene expression depend on exercise intensity in juvenile rats. **Brain Research**, v. 1210, p. 48-55, May 2008.
- LU, B.; PANG, P.; WOO, N. The yin and yang of neurotrophin action. **Nat. Rev. Neurosci**, v. 6, p. 603-614, 2005.
- LYONS, W. et al. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities. **Proceedings of the National Academy of United States of America**, v. 96, p. 15239-44., 1999.

- MARINI, A. et al. Preconditioning and neurotrophins: a model for brain adaptation to seizures, ischemia and other stressful stimuli. **Amino Acids**, v. 32, p. 299-304, Sep 2007.
- MATHERN, G. et al. The clinical-pathogenic mechanisms of hippocampal neuron loss and surgical outcomes in temporal lobe epilepsy. **Brain**, p. 105-18, 1995.
- MEISLER, M. et al. Identification of epilepsy genes in human and mouse. **Annu. Rev. Genet.**, v. 35, p. 567–588, 2001.
- MEISLER, M. et al. Identification of epilepsy genes in human and mouse. **Annu Rev Genet** **2001**, 35, 2001. 567-588.
- MERCADÉ-CERDÁ, J. et al. Prognosis in epilepsy: initiating long-term drug therapy. **Neurologia**, p. 367-74, Jul 2015.
- MORENO, R. A.; MORENO, D. H. Escalas de Avaliação para Depressão de Hamilton (HAM-D) e Montgomery-Asberg (MADRS). In: GORESTEIN, C.; LAURA, A.; WALDO, Z. A. **Escalas de Avaliação Clínica em Psiquiatria e Psicofarmacologia**. 1ª. ed. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. Cap. 9, p. 71-87.
- MURER, M.; YAN, Q.; RAISMAN-VOZARI, R. Brain-derived neurotrophic factor in the control human brain, and in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. **Prog Neurobiol**, v. 63, p. 71-124, Jan 2001.
- MURRAY, C. et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet**, v. 380, p. 2197-223, Dec 2012.
- NGUGI, A. et al. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. *Epilepsia*. 2010 May;51(5):883-90. **Epilepsia**, v. 51, p. 883-90, May 2010.
- NIBUYA, M.; MORINOBU, S.; DUMAN, R. S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. **J. Neurosci.**, p. 7539–7547, 1995.
- O'DELL, C. et al. Understanding the Basic Mechanisms Underlying Seizures in Mesial Temporal Lobe Epilepsy and Possible Therapeutic Targets: A Review. **Journal of Neuroscience Research**, v. 90, p. 913–924, 2012.
- OLIVEIRA, G. et al. Psychiatric disorders in temporal lobe epilepsy: An overview from a tertiary service in Brazil. **Seizure: European Journal of Epilepsy**, v. 19, p. 479-484, 2010.
- PALIMINI, A.; VIANA, E. Estratégias medicamentosas nas epilepsias parciais: papel dos diagnósticos. In: YACUBIAN, E. M. **Tratamento Medicamentoso das Epilepsias**. 2ª. ed. São Paulo: Leitura Médica, 2014. Cap. 6, p. 241-252.
- PANG, P. et al. Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity. **Science**, v. 306, p. 487-91, 2004.
- PARATCHA, G.; LEDDA, F.; IBÁÑEZ, C. The neural cell adhesion molecule NCAM is an alternative signaling receptor for GDNF family ligands. **Cell**, v. 113, p. 867-879, 2003.

- PATTABIRAMAN, P. et al. Neuronal activity regulates the developmental expression and subcellular localization of cortical BDNF mRNA isoforms in vivo. **Mol Cell Neurosci**, v. 28, p. 556-70, Mar 2005.
- PITKANEN, A.; ENGEL, J. J. Past and present definitions of epileptogenesis and its biomarkers. **Neurotherapeutics** , v. 11, p. 231–241., 2014.
- POO, M. Neurotrophins as synaptic modulators. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, p. 24-32, 2001.
- REICHARDT, L. Neurotrophin-regulated signaling pathways.. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 361, p. 1545-64, 2006.
- ROSENBLAD, C.; MARTINEZ-SERRANO, A.; BJÖRKLUND, A. Intrastratial glial cell line-derived neurotrophic factor promotes sprouting of spared nigrostriatal dopaminergic afferents and induces recovery of function in a rat model of Parkinson's disease. **Neuroscience**, v. 82, p. 129-37, Jan 1998.
- RUMAJOGEE, P. et al. Adaption of the serotonergic neuronal phenotype in the absence of 5-HT autoreceptors or the 5-HT transporter: involvement of BDNF and cAMP. **European Journal of Neuroscience**, v. 4, p. 937-44, Feb 2004.
- SARIOLA, H.; SAARM, M. Novel functions and signalling pathways for GDNF. **Journal of Neuroscience**, v. 116, p. 3855-3862, 2003.
- SARTORIUS, A. et al. Correlations and Discrepancies between Serum and Brain Tissue Levels of Neurotrophins after Electroconvulsive Treatment in Rats. **Pharmacopsychiatry** , v. 42, p. 270-276, 2009.
- SCHAAR, D. et al. Regional and cell-specific expression of GDNF in rat brain. **Exp Neurol**, v. 2, p. 368-71, 1993.
- SCHARFMAM, H. The Neurobiology of Epilepsy. **Curr Neurol Neurosci Rep.** , v. 4, p. 348-354, July 2007.
- SCHMIDT-KASTNER, R. et al. Glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF) mRNA upregulation in striatum and cortical areas after pilocarpine-induced status epilepticus in rats. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 21, p. 325-30, Oct 1994.
- SEMAH, F. et al. Is the underlying cause of epilepsy a major prognostic factor for recurrence? **Neurology**, v. 51, p. 1256-62, 1998.
- SHEFFER, I. et al. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, v. 58, p. 521-521, 2017.
- SHEN, N. et al. Role of BDNF Val66Met functional polymorphism in temporal lobe epilepsy. **Int. J. Neurosci**, p. 436-441, 2015.
- SHIMIZU, E. et al. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. **Biol Psychiatry**, v. 54, p. 70-7, Jul 2003.
- SKAPER, S. The Biology of Neurotrophins, Signalling Pathways, and Functional Peptide Mimetics of Neurotrophins and their Receptors. **CNS & Neurological Disorders**, v. 7, p. 46-63, 2008.

- SLOVITER, R. The neurobiology of temporal lobe epilepsy: too much information, not enough knowledge. **C. R. Biologies**, p. 143-153, Dec 2005.
- SOMJEN, G. Ion regulation in the brain: implications for pathophysiology. **Neuroscientist**, v. 8, p. 254-267, 2002.
- STAFSTROM, C.; CARMANT, L. Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists., v. 5, p. 1-18, Jun 2015.
- SZABADICS, J.; SOLTESZ, I. Functional specificity of mossy fiber innervation of GABAergic cells in the hippocampus. **J Neurosc**, p. 4239-51, 2009.
- TAKAHASHI, M. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 12, p. 361-373, 2001.
- TRUPP, M. et al. Peripheral expression and biological activities of GDNF, a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons..**J. Cell Biol.**, v. 130, p. 137-148, 1995.
- TRUPP, M. et al. Complementary and overlapping expression of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), c-ret proto-oncogene, and gdnf receptor-alpha indicates multiple mechanisms of trophic actions. **CNS. J. Neurosci.**, v. 17, p. 3554-3567, 1997.
- VALOTTA, V. A.; CABRAL, F. R. Ictogênese, epileptogênese e mecanismo de ação das drogas na profilaxia e tratamento da epilepsia. **J. epilepsy clin. neurophysiol. [online]**, v. 14 suppl 2, p. 39-45, 2008.
- VOS, T. et al. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseases and injuries 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet**, v. 380, n. 9859, p. 2163-96, Dec 2012.
- WALKER, M. Hippocampal sclerosis: causes and prevention. **Semin Neurol**, p. 193-200, 2015.
- WIEBE, S. et al. A randomized, controlled trial of surgery for temporal lobe epilepsy. **N Engl J Med**, p. 311-8, 2001.
- WIESER, H. ILAE Commission Report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **Epilepsia**, v. 45, p. 695-714, Jun 2004.
- WITTNER, L. et al. Synaptic reorganization of calbindin-positive neurons in the human hippocampal CA1 region in temporal lobe epilepsy. **Neuroscience**, p. 961-78, 2002.
- WYLLIE, E. **Wyllie's Treatment of Epilepsy: Principles and Practice**. 6^a. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2015.
- YACUBIAN, E. M. **Epilepsia Saindo das Sombras**. 1^a. ed. São Paulo: Casa Leitura Médica, 2012.
- YASUTAKE, C. et al. Serum BDNF, TNF-alpha and IL-1beta levels in dementia patients: comparison between Alzheimer's disease and vascular dementia. **Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci**, v. 256, p. 402-6, 2006.
- ZIEGENHORN, A. et al. Serum neurotrophins--a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. **Neurobiol Aging**, v. 28, p. 1436-45, 2007.

Anexos

ANEXO A- Entrevista Clínica

ROTEIRO DE AVALIAÇÃO

Nome do paciente: _____ N° do prontuário: _____
 Sexo:.....Estado Civil.....Data de Nascimento:..... Idade:
 Escolaridade:.....Profissão (estado previdenciário):.....
 Religião (Igreja) () Destro () Canhoto
 Altura (cm):.....Massa corporal (Kg):.....IMC:
 Naturalidade:.....Procedência:.....
 Telefones (mínimo 2, pelo menos 1 fixo):.....
 Data da Avaliação:.....Examinador:.....Hora da coleta do sangue:.....
 Indicação do VEEG (motivo):.....

Informações sobre a Epilepsia:

- 1) Síndrome epiléptica: _____
- 2) Semiologia das crises (tentar especificar número de crises/mês de cada tipo de crise):
- () Parcial simples _____
- () Parcial complexa _____
- () CPCx c/ generalização 2ária _____
- () Ausência _____
- () Mioclônica _____
- () Clônica _____
- () Tônica _____
- () Tônico-clônica _____
- () Atônica _____
- 3) a) Calendário das crises: _____
- b) Data da última crise: _____

- c) Crise nas últimas 24hs: () Sim () Não obs.: _____
- d) Crise nas últimas 72h () Sim () Não obs.: _____
- e) Crises nos últimos 6 meses: () Sim () Não obs.: _____

4) a) Idade de Início (anotar sobre crises febris, número, idade e sobre reinício das crises): _____

b) Tempo de doença (anos desde início das crises espontâneas): _____

c) Crises febris: () Sim () Não; idade (obs.): _____

d) Status epilepticus: () Sim () Não; idade/episódios (obs.): _____

5) História familiar:

5.1) Epilepsia: _____

5.2) Doenças clínicas: _____

5.3) Transtornos psiquiátricos: _____

6) Medicamentos em uso relacionados (anotar se aumento de dose recente/data)

6.1) Drogas Antiepilépticas (em uso e farmacorresistências)

Droga: _____

Efeitos Colaterais: () Sim () Não Início do uso: _____

Obs.: _____

Droga: _____

Efeitos Colaterais: () Sim () Não Início do uso: _____

Obs.: _____

Droga: _____

Efeitos Colaterais: () Sim () Não Início do uso: _____

Obs.: _____

Droga: _____

Efeitos Colaterais: () Sim () Não Início do uso: _____

Obs.: _____

6.2) Outros medicamentos (anotar se aumento de dose recente/data): () Sim ()

Não

Droga: _____

Efeitos Colaterais: () Sim () Não Início do uso: _____

Obs.: _____

Droga: _____

Efeitos Colaterais: () Sim () Não Início do uso: _____

Obs.: _____

7) Quadros clínicos relevantes (anotar dados sobre menopausa): (...) Sim (...) Não
() HAS () Diabetes () Cardiopatia () Hipotireoidismo

8) Quadros psiquiátricos relevantes: () Sim () Não

9) Exames complementares e de Imagem:

TC: _____

RM: _____

EEG: _____

Vídeo EEG: _____

Avaliação Neuropsicológica: _____

Critérios de exclusão:

Uso atual (últimas 4 semanas) de antibióticos, medicação imunossupressora, imunomoduladora, anti-inflamatórios não esteróides ou corticóides:

Presença de doença inflamatória, auto-imune ou processo infeccioso em atividade nas últimas 4 semanas ou neoplasia: _____

Crises epilépticas nas últimas 72 horas: _____

Histórico de outra doença neurológica (tais como demência ou acidente vascular encefálico), doença inflamatória, neoplasia maligna, cirurgia ou trauma extenso no último mês, insuficiência renal ou hepática, doença psiquiátrica grave, gravidez: _____

ANEXO B - Min-Exame do Estado Mental (MMSE)

Mini-mental

(Folstein, Folstein & McHugh, 1975)

Orientação

- | | | | |
|------------------------------|-----|--|-----|
| 1) Dia da Semana (1 ponto) | () | 6) Local específico (andar ou setor) (1 ponto) | () |
| 2) Dia do Mês (1 ponto) | () | 7) Instituição (residência, hospital, clínica) (1 ponto) | () |
| 3) Mês (1 ponto) | () | 8) Bairro ou rua próxima (1 ponto) | () |
| 4) Ano (1 ponto) | () | 9) Cidade (1 ponto) | () |
| 5) Hora aproximada (1 ponto) | () | 10) Estado (1 ponto) | () |

Memória Imediata

Fale 3 palavras não-relacionadas. Posteriormente pergunte ao paciente pelas 3 palavras. Dê 1 ponto para cada resposta correta. ()

Depois repita as palavras e certifique-se de que o paciente as aprendeu, pois mais adiante você irá perguntá-las novamente.

Atenção e Cálculo

(100-7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (93,86,79,72,65) (1 ponto por cálculo correto) ()

Evocação

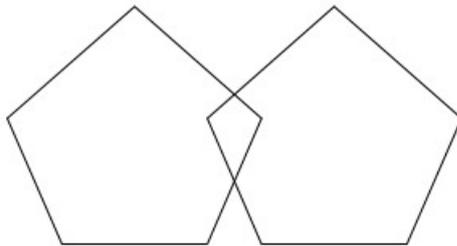
Pergunte pelas três palavras ditas anteriormente (1 ponto por palavra) ()

Linguagem

- | | | | |
|--|-----|---|-----|
| 1) Nomear um relógio e uma caneta (2 pontos) | () | 4) Ler e obedecer: "feche os olhos" (1 ponto) | () |
| 2) Repetir "nem aqui, nem ali, nem lá" (1 ponto) | () | 5) Escrever uma frase (1 ponto) | () |
| 3) Comando: "pegue este papel com a mão direita, dobre ao meio e coloque no chão" (3 pontos) | () | | |

Escreva uma frase**Praxia**

Copiar um desenho (1 ponto) ()

Copie o desenho

Score: (/ 30)

ANEXO C - Guia da entrevista estruturada para a escala de avaliação de depressão de Hamilton

Nome do paciente: _____
 Entrevistador: _____
 Data: ____/____/____

Introdução:

Gostaria de lhe fazer algumas perguntas sobre a última semana. Como você tem se sentido desde a última (dia da semana)? Se paciente ambulatorial: Você tem trabalhado? Se não: Especifique por que não?

1. Como tem estado seu humor na última semana?

Você tem se sentido para baixo ou deprimido?

Triste? Sem esperança?

Na última semana, com que frequência você se sentiu (utilize a palavra referida pelo paciente)?

Todos os dias? O dia inteiro?

Você tem chorado?

Humor depressivo (tristeza, desesperança, desamparo, inutilidade)

0- ausente

1- sentimentos relatados somente se perguntados

2- sentimentos relatados espontaneamente, com palavras

3- comunica os sentimentos não com palavras, mas com expressão facial, postura, voz e tendência ao choro

4- o paciente comunica quase que exclusivamente esses sentimentos, tanto em seu relato verbal como na comunicação não-verbal

Se pontuou de 1 a 4, pergunte: ***Há quanto tempo você tem se sentido desta maneira?***

2. Você tem se sentido especialmente autocrítico nesta última semana, sentindo que fez coisas erradas ou decepcionou outras pessoas?

SE SIM: quais foram esses pensamentos?

Você tem se sentido culpado em relação a coisas que fez ou não fez?

Você tem pensado que, de alguma forma, você é responsável pela sua depressão?

Você sente que está sendo punido ficando doente?

Sentimentos de culpa:

0- ausente

1- auto-recriminação, acha que decepcionou outras pessoas

2- idéias de culpa ou ruminções de erros ou ações pecaminosas (más) no passado

3- paciente acha que a doença atual é uma punição (castigo). Delírio de culpa

4- ouve vozes que o acusam ou denunciam e/ou tem alucinações visuais ameaçadoras

3. Nessa última semana, você teve pensamentos de que não vale a pena viver ou que você estaria melhor morto? ou pensamentos de se machucar ou até de se matar?

SE SIM: o que você tem pensado sobre isso? Você já se machucou?

Suicídio:

0- ausente

1- acha que não vale a pena viver

2- deseja estar morto ou pensa em uma possível morte para si

3- idéias ou atitudes suicidas

4- tentativas de suicídio

4. Como tem sido seu sono na última semana?

Você teve alguma dificuldade em iniciar o sono? Após se deitar, quanto tempo leva para conseguir dormir?

Em quantas noites nesta última semana você teve problemas para iniciar o sono?

Insônia inicial:

- 0- sem dificuldades para iniciar o sono
- 1- queixa de dificuldade ocasional para iniciar o sono, ou seja, mais que meia hora
- 2- queixa de dificuldade para iniciar o sono todas as noites

5. Durante essa última semana, você tem acordado no meio da noite?
 SE SIM: você sai da cama? o que você faz? (somente vai ao banheiro?)
 Quando volta para a cama, você volta a dormir logo?
 Você sente que seu sono é agitado ou perturbado em algumas noites?

Insônia intermediária:

- 0- sem dificuldade
- 1- queixa de agitação e perturbação durante a noite
- 2- acorda durante a noite – qualquer saída da cama (exceto por motivos de necessidade fisiológica)

6. A que horas você tem acordado pela manhã na última semana?
 Se cedo: acorda com despertador ou sozinho? A que horas você normalmente acordava (ou seja, antes de ficar deprimido)?

Insônia tardia:

- 0- sem dificuldade
- 1- acorda durante a madrugada, mas volta a dormir
- 2- não consegue voltar a dormir se levantar da cama durante a noite

7. Como você tem passado seu tempo na última semana (quando não está no trabalho)?
 Você se sente interessado em fazer (essas atividades) ou você tem de se forçar?
 Você parou de fazer atividades que costumava fazer? SE SIM: Por quê?
 Há alguma coisa que você aguarda ansiosamente?
 (no seguimento): Seu interesse voltou ao normal?

Trabalho e atividades:

- 0- sem dificuldades
- 1- pensamentos e sentimentos de incapacidade, fadiga ou fraqueza, relacionados a atividades, trabalho ou passatempos
- 2- perda de interesse em atividades, passatempos ou trabalho, quer relatado diretamente pelo paciente, quer indiretamente por desatenção, indecisão ou vacilação (sente que precisa se esforçar para o trabalho ou outras atividades)
- 3- diminuição no tempo gasto em atividades ou queda de produtividade. No hospital, o paciente ocupa-se por menos de três horas por dia em atividades (trabalho hospitalar ou passatempos) com exceção das tarefas rotineiras da enfermaria
- 4- parou de trabalhar devido à doença atual. No hospital, sem atividades, com exceção das tarefas rotineiras da enfermaria, ou se não consegue realizá-las sem ajuda

8. Avaliação baseada na observação durante a entrevista:

Retardo (lentificação do pensamento e da fala, dificuldade de concentração, diminuição da atividade motora):

- 0 pensamentos e fala normais
- 1 lentificação discreta à entrevista
- 2 lentificação óbvia durante à entrevista
- 3 entrevista difícil
- 4 estupor completo

9. Avaliação baseada na observação durante a entrevista:

Agitação:

- 0 nenhuma
- 1 inquietação
- 2 mexe as mãos, cabelos etc.

- 3 movimentar-se bastante, não consegue permanecer sentado durante a entrevista
 4 retorce as mãos, rói as unhas, puxa os cabelos, morde os lábios

10. Você tem se sentido especialmente tenso ou irritado nesta última semana?

Você tem estado preocupado com coisas pouco importantes com as quais normalmente não se preocuparia? SE SIM: Como com o quê, por exemplo?

Ansiedade psíquica:

- 0 sem dificuldade
 1 tensão e irritabilidade subjetivas
 2 preocupa-se com trivialidades
 3 atitude apreensiva aparente no rosto ou na fala
 4 paciente expressa medo sem ser perguntado

11. Na última semana, você sofreu de alguns dos seguintes sintomas físicos?

Leia a lista, parando após cada sintoma para resposta.

O quanto esses sintomas o incomodaram na última semana? Quão intensos foram? Quanto tempo ou com que frequência os teve?

Nota: não considerar se claramente relacionados à medicação (por exemplo, boca seca e imipramina)

Ansiedade - somática:

Concomitantes fisiológicos da ansiedade, como:

GI: boca seca, flatulência, indigestão, diarreias, cólicas, eructações

CV: palpitação, cefaléias

Respiratórios: hiperventilação, suspiros

Ter de urinar frequentemente

Sudorese

0 ausente

1 duvidoso ou trivial: sintomas menores, relatados quando questionados

2 leve: paciente descreve espontaneamente os sintomas, que não são acentuados ou incapacitantes

3 moderado: mais do que 2 sintomas e com maior frequência. São acompanhados de estresse subjetivo e prejudicam o funcionamento normal

4 grave: numerosos sintomas, persistentes e incapacitantes na maior parte do tempo, ou ataques de pânico quase diariamente

12. Como tem estado seu apetite nesta última semana? (Como se compara ao seu apetite habitual?)

Você tem tido que se força a comer?

As outras pessoas têm insistir para você comer?

Sintomas gastrointestinais – somáticos:

0 nenhum

1 perda de apetite, mas come sem necessidade de insistência

2 dificuldade para comer se não insistirem

13. Como tem estado sua "energia" nesta última semana?

Você se sente cansado o tempo todo?

Nesta última semana, você teve dor nas costas, dor de cabeça ou dor muscular?

Nesta última semana, você tem sentido um peso nos membros, nas costas ou na cabeça?

Sintomas somáticos gerais:

0 nenhum

1 peso em membros, costas ou cabeça; dor nas costas, na cabeça ou nos músculos. Perda de energia e fadigabilidade

2 qualquer sintoma bem caracterizado e nítido

14. Como tem estado seu interesse por sexo nesta semana? (não estou lhe perguntando sobre seu desempenho, mas sobre seu interesse por sexo- o quanto você tem pensado nisso?)

Houve alguma mudança em seu interesse por sexo (em relação à época em que você não estava deprimido)?

Isso é algo em que você tem pensado muito? Se não: isso é pouco habitual para você?

Sintomas Genitais – (como perda de libido, distúrbios menstruais):

0 ausentes

1 leves ou infreqüentes: perda de libido, desempenho sexual prejudicado

2 óbvio e graves: perda completa do interesse sexual

15. Na última semana, o quanto seus pensamentos têm focalizado na sua saúde física ou no funcionamento de seu corpo (comparado ao seu pensamento habitual)

Você se queixa muito de sintomas físicos?

Você tem-se deparado com situações em que você pede ajuda para fazer coisas que poderia fazer sozinho?

SE SIM: Como o quê, por exemplo? Com que freqüência isso tem ocorrido?

Hipocondria:

0 ausente

1 auto-observação aumentada (com relação ao corpo)

2 preocupação com a saúde

3 queixas freqüentes, pedidos de ajuda etc.

4 delírios hipocondríacos

16. Você perdeu algum peso desde que essa (DEPRESSÃO) começou? SE SIM: Quanto?

SE INCERTO: Você acha que suas roupas estão mais folgadas?

No Seguimento: Você voltou a ganhar peso?

Perda de Peso (desde o início da doença ou da última avaliação)

0 sem perda de peso ou perda de peso NÃO causada pela doença atual

1 perda de peso provavelmente causada pela doença atual. Perda de menos de meio quilo

2 perda de peso definitivamente causada pela doença atual. Perda de meio quilo ou mais

17. Avaliação baseada na observação

Crítica (Conseqüência da doença):

0 reconhece estar deprimido e doente OU não estar deprimido no momento

1 reconhece estar, mas atribui a causa à má alimentação, ao clima, ao excesso de trabalho, a um vírus, à necessidade de descanso etc.

2 nega estar doente

Escore total HAM-D – 17 itens

18. Nesta última semana você se sentiu melhor ou pior em algum período específico do dia – manhã ou noite?

SE VARIAÇÃO: Quanto pior você se sente (de MANHÃ OU de NOITE)?

SE INDECISO: Um pouco pior ou muito pior?

Variação Diurna:

A. Anote se os sintomas são piores de manhã ou à noite. SE NÃO HOUVER variação diurna, marque nenhuma:

Sem variação ou não deprimido no momento

pior pela manhã

pior a tarde/à noite

B. Quando presente, anote a gravidade da variação:

0 nenhuma

- 1 leve
- 2 grave

Nota: Caso haja variação diurna, só a contagem referente à sua gravidade (1 ou 2 pontos no item 18 B) é que deve ser incluída na contagem final. O item 18 A não deve ser computado.

19. Na última semana você teve subitamente a sensação de que tudo é irreal, ou que você está em um sonho, ou separado do contato com as outras pessoas de uma maneira estranha?

Alguma sensação de flutuação?

SE SIM: Quão ruim isso tem sido? Quantas vezes isso aconteceu nesta ; última semana?

Despersonalização e Desrealização (como sensação de irrealidade a idéias nilistas)

- 0- ausentes
- 1 leves
- 2 moderadas
- 3 graves
- 4 incapacitantes

20. Na última semana você sentiu que alguém tentou o prejudicar ou machucar?

SE NÃO: e sobre alguém falando de você pelas costas?

SE SIM: fale mais sobre isso

Sintomas Paranóides:

- 0 nenhum
- 1 desconfiado
- 2 idéias de referência
- 3 delírios de referência e perseguição

21. Na última semana, você teve fazer alguma coisa várias vezes? Houve algo que você teve de fazer e refazer várias vezes, como checar se as portas estavam fechadas?

SE SIM: você pode me dar um exemplo?

Você teve algum pensamento que não faz sentido para você, mas que fica voltando à sua cabeça sempre sem parar?

SE SIM: você pode me dar um exemplo?

Sintomas Obsessivos e Compulsivos:

- 0 nenhum
- 1 leves
- 2 graves

Escore total HAM-D – 21 ítems

ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PERFIL INFLAMATÓRIO E NEUROPSIQUIÁTRICO NAS EPILEPSIAS E EM CRISES NÃO EPILÉPTICAS PSICOGÊNICAS: AVALIAÇÃO PRÉ E POSICTAL DA LIBERAÇÃO DE CITOCINAS

Introdução: Você está sendo convidado a participar desta pesquisa clínica. É muito importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos antes de aceitar participar da mesma. Esta declaração descreve o objetivo, procedimentos, benefícios e riscos do estudo, e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre o resultado do estudo. Estas informações estão sendo dadas para esclarecer quaisquer dúvidas sobre a pesquisa proposta, antes de obter o seu consentimento. Se ainda assim persistirem dúvidas a respeito do estudo, pergunte ao pesquisador responsável.

Objetivo: O objetivo deste estudo é avaliar os níveis de determinadas moléculas/substâncias no plasma (citocinas/quimiocinas) e nos leucócitos/glóbulos brancos do sangue de pacientes com crises epiléticas e crises não-epiléticas. Esse estudo buscará identificar variações na quantidade de expressão dessas moléculas entre os pacientes e indivíduos controles, o que poderá contribuir para a sua diferenciação e para o maior entendimento das epilepsias e crises não-epiléticas psicogênicas.

Resumo: A epilepsia é uma das desordens neurológicas mais comuns. A epilepsia é uma síndrome neurológica caracterizada pela recorrência de crises convulsivas não provocadas. A epilepsia é uma doença bastante complexa e resultante da combinação de fatores genéticos, ambientais e infecciosos. Recentemente, discute-se a possível contribuição de mecanismos inflamatórios nas epilepsias. Já nas crises não-epiléticas psicogênicas não há descargas neuronais epileptiformes, mas existe associação com processos cognitivos e emocionais disfuncionais.

Procedimentos: Este estudo irá consistir de uma avaliação clínica padronizada realizada por profissional capacitado. Este profissional aplicará alguns questionários e testes para investigar a presença de alterações cognitivas e do comportamento. Posteriormente, será realizada coleta de 20 mL de sangue com material descartável apropriado. Esse sangue será encaminhado para o estudo laboratorial. A coleta de sangue venoso implica em risco mínimo de acidente de punção, caracterizado por extravasamento sangüíneo para o tecido debaixo da pele, provocando uma pequena “mancha roxa” no local. Para minimizar este risco, a coleta de sangue será realizada por profissional treinado, com capacidade técnica e experiência que estará atento e tomará todas as providências necessárias.

Crítérios de inclusão: Serão incluídos pacientes de ambos os sexos com o diagnóstico estabelecido de epilepsia do lobo temporal ou epilepsia extratemporal ou crises não-epiléticas psicogênicas que pretendam participar do estudo.

Benefícios: Não haverá compensação financeira pela sua participação, nem remuneração

financeira do pesquisador, cujo interesse é apenas científico. O participante não terá nenhum benefício direto além de estar contribuindo para o desenvolvimento científico e a melhor compreensão das epilepsias. A participação no estudo também não implicará em ônus financeiro (despesas) para você.

Confidencialidade: Os registros de sua participação neste estudo serão mantidos confidencialmente até onde é permitido por lei e todas as informações estarão restritas à equipe responsável pelo projeto. No entanto, o pesquisador e, sob certas circunstâncias, o Comitê de Ética em Pesquisa/Hospital Felício Rocho, poderão verificar e ter acesso aos dados confidenciais que o identificam pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer seus registros médicos para o Comitê de Ética em Pesquisa/Hospital Felício Rocho, além da divulgação dos dados desta para o meio científico desde que não haja quebra de confidencialidade.

Desligamento: A sua participação neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento do estudo não envolverá penalidades ou perda de benefícios aos quais você tem direito. Você poderá cessar sua participação a qualquer momento sem afetar seu acompanhamento médico em andamento.

Emergência / contato com a Comissão de Ética: É garantido seu direito a respostas a eventuais dúvidas que surgirem durante o estudo. Assim, se você tiver qualquer dúvida ou apresentar qualquer problema médico,

Contate o Dr. Guilherme Nogueira Mendes de Oliveira pelo telefone (31) 91270110 ou o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/Hospital Felício Rocho) no telefone (31) 3514-7000. O CEP/Hospital Felício Rocho localiza-se na Av. do Contorno, 9530 Barro Preto, Belo Horizonte - MG.

Consentimento: Li e entendi as informações precedentes. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando o meu consentimento para participar do estudo, até que eu decida o contrário.

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que, após convenientemente esclarecido (a) pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, autorizo a coleta de 20 ml de sangue para ser utilizado na pesquisa descrita acima.

Nome do voluntário participante: _____

Data: ____/____/____

Assinatura do voluntário participante: _____

Nome médico responsável: _____

Data: ____/____/____

Assinatura do médico responsável: _____