

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Josi Arend

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA Ala16ValMnSOD E DOS PARÂMETROS  
BIOQUÍMICOS NO DÉFICIT COGNITIVO NA EPILEPSIA**

Santa Maria, RS  
2020

Josi Arend

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA Ala16ValMnSOD E DOS PARÂMETROS  
BIOQUÍMICOS NO DÉFICIT COGNITIVO NA EPILEPSIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Farmacologia**.

Orientadora: Profa. Dra. Michele Rechia Figuera

Santa Maria, RS  
2020

Arend, Josi  
AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA Ala16ValMnSOD E DOS  
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS NO DÉFICIT COGNITIVO NA EPILEPSIA  
/ Josi Arend.- 2022.  
117 p.; 30 cm

Orientadora: Michele Rechia Fighera  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós  
Graduação em Farmacologia, RS, 2022

1. Testes neurocognitivos 2. Polimorfismo da MnSOD  
Ala16Val 3. Epilepsia 4. Dano ao DNA 5. Marcadores  
oxidativos I. Rechia Fighera, Michele II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, JOSI AREND, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Josi Arend

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA Ala16ValMnSOD E DOS  
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS NO DÉFICIT COGNITIVO NA EPILEPSIA**

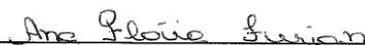
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Farmacologia**.

Aprovado em 09 de março de 2020

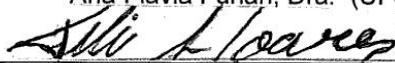


Michele Rechia Figuera, Dra. (UFSM)

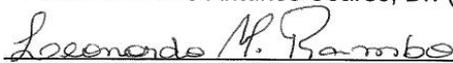
(Presidente/Orientadora)



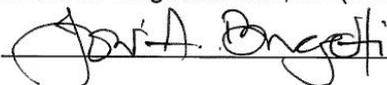
Ana Flávia Furian, Dra. (UFSM)



Félix Alexandre Antunes Soares, Dr. (UFSM)



Leonardo Magno Rambo, Dr. (UNIPAMPA) - Parecer



José Augusto Bragatti, Dr. (UFRGS) - Parecer

Santa Maria, RS/20

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer a minha família, que sempre me apoiou, muitas vezes acreditou em mim mais do que eu mesma e nunca mediu forças para que hoje eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu esposo, Cleiton, que muito me ajudou nesta caminhada.

À minha orientadora, Michele, pela oportunidade que me proporcionou, meus eternos agradecimentos! Agradeço pela paciência, pela compreensão dos erros e pelos conhecimentos passados.

Às pessoas as quais eu conheci ao longo dessa caminhada, Aline, Eduardo, que muito contribuíram e estiveram comigo.

À minha amiga de ensino fundamental, Patrícia, que me ensinou o quanto somos capazes se acreditarmos em um sonho. Obrigada pelas horas em que me escutou sem julgar.

À querida Ana, pessoa que Deus colocou em meu caminho como um “anjo” que me ajudou até o final desta caminhada, me socorrendo nos momentos mais difíceis. Tenho profunda admiração pelo seu caráter e determinação com que busca seus sonhos. Minha eterna gratidão.

Agradeço a DEUS, pois sem ele não teria chegado até aqui.

Muito obrigada!

*Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes.*

*(Marthin Luther King)*

## RESUMO

### **AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DA Ala16ValMnSOD E DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS NO DÉFICIT COGNITIVO NA EPILEPSIA**

AUTORA: Josi Arend

ORIENTADORA: Michele Rechia Fighera

A epilepsia é uma condição neurológica crônica, caracterizada por crises epiléticas recorrentes que podem ocasionar alterações neuroquímicas, cognitivas e psicológicas. Os mecanismos de ação associados à epilepsia podem envolver vários fatores, entre eles, os inflamatórios, oxidativos e genéticos. Estudos mostram que mutações genéticas, como o polimorfismo do nucleotídeo único da superóxido dismutase manganês (MnSOD Ala16Val SNP), estão associadas a algumas doenças neurológicas, assim como com a modulação das vias inflamatórias e oxidativas. Além disso, estudos relatam o envolvimento da MnSOD Ala16Val SNP em doenças metabólicas, como a obesidade e a dislipidemia. Entretanto, pouco se sabe sobre a relação do polimorfismo da MnSOD Ala16Val com a epilepsia, bem como a influência da mutação genética nos parâmetros cognitivos, inflamatórios, de estresse oxidativo e glicolipídico. Inicialmente, pacientes com epilepsia e indivíduos saudáveis foram recrutados para participar deste estudo. A avaliação neuropsicológica foi realizada em ambos os grupos por meio de testes cognitivos. Em um primeiro momento, os marcadores inflamatórios, apoptóticos e dano do DNA foram medidos em amostras de sangue. Também foram analisados os parâmetros glicolipídicos, como níveis séricos de colesterol total (CHO), LDL, HDL, triglicerídeos (TG) e glicose (GLU). Os dados descritos neste trabalho revelaram que os pacientes com epilepsia, quando avaliados quanto às funções cognitivas, apresentaram prejuízo na orientação têmporo-espacial, memória, atenção, linguagem e funções executivas em relação ao grupo controle. Além disso, observou-se uma correlação significativa da duração das crises epiléticas com a linguagem oral e resolução de problemas. Foi observado ainda um aumento nos escores de depressão entre os pacientes com epilepsia em relação aos controles. Uma correlação negativa da depressão e a função de orientação têmporo-espacial foi encontrada nos pacientes. Os pacientes também apresentaram elevados níveis de TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$  e AChE, tal como um aumento nos níveis da caspase 3 (CASP-3) e dano ao DNA (Picogreen), sugerindo a participação das vias inflamatórias e apoptóticas na epilepsia. Os níveis de CHO, LDL, TG e GLU foram significativamente mais elevados nos pacientes com epilepsia do que o grupo controle, enquanto que nos níveis de HDL não foram encontradas diferenças entre os grupos testados. A análise estatística mostrou que houve uma correlação negativa entre os níveis de CHO total vs. linguagem total; TG vs. memória verbal semântica; TG vs. memória prospectiva; TG vs. memória total; e GLU vs. atenção total. As correlações de CHO, LDL, TG, GLU, HDL com outras tarefas do teste neuropsicológico não apresentaram correlações. Em relação aos resultados do segundo manuscrito, foi avaliada a relação do polimorfismo da Ala16ValMnSOD com os testes neuropsicológicos, do mesmo modo que com os parâmetros glicolipídicos, oxidativos e inflamatórios de pacientes com epilepsia comparando com controles

saudáveis. As análises estatísticas mostraram a associação do polimorfismo MnSOD Ala16Val com o déficit cognitivo, incluindo apraxias, percepção, atenção, linguagem, funções executivas, memórias semântica de longo prazo, visual de curto prazo, prospectiva e total em pacientes com epilepsia com genótipo VV em comparação ao grupo controle. Comparados aos controles e pacientes com genótipo AA e AV, os pacientes com genótipo VV exibiram níveis mais altos de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e maior ativação das CASP -1 e -3 e dano ao DNA. Os presentes achados também mostraram uma maior atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e acetilcolinesterase (AChE) nos pacientes com genótipo VV. Não foram encontradas alterações no perfil glicolipídico ou correlação entre os marcadores testados com os testes cognitivos quando comparados ao polimorfismo da Ala16ValMnSOD. Este estudo evidencia um perfil neuropsicológico distinto entre pacientes com epilepsia e indivíduos saudáveis. Além disso, os achados sugerem que as alterações neuropsiquiátricas podem estar relacionadas com as vias inflamatórias, apoptóticas e ao perfil glicolipídico. Os resultados também sugerem que o polimorfismo na MnSOD Ala16Val pode ter uma relação com a piora no desempenho dos testes cognitivos, bem como com a piora no perfil inflamatório e oxidativo, sugerindo a influência dos fatores genéticos na fisiopatologia da epilepsia.

**Palavras-chave:** Testes neurocognitivos. Polimorfismo da MnSOD Ala16Val. Epilepsia. Marcadores oxidativos. Dano ao DNA.

## ABSTRACT

### EVALUATION OF Ala16ValMnSOD POLYMORPHISM AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN COGNITIVE DEFICIT IN EPILEPSY

AUTHOR: Josi Arend  
ADVISOR: Michele Rechia Fighera

Epilepsy is a chronic neurological condition, characterized by recurrent epileptic seizures that can cause neurochemical, cognitive and psychological changes. The mechanisms of action associated with epilepsy can involve several factors, including inflammatory, oxidative and genetic factors. Studies show that genetic mutations, such as the single nucleotide polymorphism of manganese superoxide dismutase (MnSOD Ala16Val SNP) are associated with some neurological diseases, as well as with the modulation of inflammatory and oxidative pathways. In addition, studies report the involvement of MnSOD Ala16Val SNP in metabolic diseases, such as obesity and dyslipidemia. However, little is known about the relationship between MnSOD Ala16Val polymorphism and epilepsy, as well as the influence of genetic mutation on cognitive, inflammatory, oxidative and glycolipidic parameters. Initially, patients with epilepsy and healthy individuals were recruited to participate in this study. Neuropsychological assessment was performed in both groups using cognitive tests. At first, inflammatory, apoptotic markers and DNA damage were measured in blood samples. Glycolipid parameters were also analyzed, such as serum levels of total cholesterol (CHO), LDL, HDL, triglycerides (TG) and glucose (GLU). The data described in this study revealed that patients with epilepsy, when assessed for cognitive functions, showed impairment in the temporal-spatial orientation, memory, attention, language and executive functions in relation to the control group. In addition, we observed a significant correlation between the duration of epileptic seizures and oral language and problem solving. An increase in depression scores was observed among patients with epilepsy compared to controls. A negative correlation between depression and the temporal-spatial orientation function was found in the patients. Patients also had high levels of TNF- $\alpha$ , IL1 $\beta$  and AChE, as well as an increase in caspase 3 levels (CASP-3) and DNA damage (Picogreen), suggesting the participation of inflammatory and apoptotic pathways in epilepsy. The levels of CHO, LDL, TG and GLU were significantly higher in patients with epilepsy than the control group, whereas in HDL levels, no differences were found between the groups tested. The statistical analysis showed that there was a negative correlation between the levels of total CHO vs. total language; TG vs. semantic verbal memory; TG vs. prospective memory; TG vs. total memory; GLU vs. total attention. Correlations of CHO, LDL, TG, GLU, HDL with other tasks of the neuropsychological test showed no correlations. Regarding the results of the second manuscript, the relationship between the polymorphism of Ala16ValMnSOD with neuropsychological tests was evaluated, as well as with the metabolic, oxidative and inflammatory parameters of patients with epilepsy, compared with healthy controls. Statistical analyzes showed the association of the MnSOD Ala16Val polymorphism with the cognitive deficit, including apraxias, perception, attention, language, executive functions, long-term semantic memories, short-term visual, prospective and total memory in patients with epilepsy with VV genotype in comparison to the control group. Compared to controls and patients with AA and AV

genotype, patients with the VV genotype exhibited higher levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 and greater activation of CASP -1 and -3 and DNA damage. Our findings also showed a greater activity of the superoxide dismutase (SOD) and acetylcholinesterase (AChE) enzymes in patients with the VV genotype. This study shows a distinct neuropsychological profile between patients with epilepsy and healthy individuals. In addition, the findings suggest that neuropsychiatry alterations can be related to inflammatory, apoptotic pathways and the glycolipid profile. Our results also suggest that the MnSOD Ala16Val polymorphism may be related to the worsening performance of cognitive tests, as well as to the worsening of the inflammatory and oxidative profile, suggesting the influence of genetic factors on the pathophysiology of epilepsy.

**Keywords:** Neurocognitive tests. MnSOD Ala16Val Polymorphism. Epilepsy. Oxidative markers. DNA damage.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Epileptogênese .....	22
Figura 2 - Classificação operacional da ILAE 2017 para os tipos de crises epiléticas .....	23
Figura 3 - Esquema diagnóstico para a classificação das epilepsias. Os tipos de crises denotam o início das crises epiléticas .....	25
Figura 4 - Neuroinflamação desencadeada pela epilepsia.....	28
Figura 5 - Envolvimento de citocinas no processo inflamatório.....	30
Figura 6 - Produção da IL-6 através de diferentes células cerebrais .....	32
Figura 7 - Sinapse colinérgica .....	33
Figura 8 - Eficiência do transporte da MnSOD na mitocôndria de acordo com o genótipo Ala16ValMnSOD.....	41
Figura 9 - Vias extrínseca e intrínseca de apoptose .....	44
Figura 10 - Principais categorias qualitativas da memória humana .....	48

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais anticonvulsivantes e mecanismos de ação.....	26
Quadro 2 - Estruturas e características dos genótipos do Polimorfismo Ala16Val Mn-SOD .....	39
Quadro 3 - Prejuízos cognitivos frequentemente relatados por pessoas com epilepsia .....	47
Quadro 4 - Tipos de apraxias frequentemente encontradas .....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A	Alanina
AA	Alanina/Alanina
Ach	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase
DA	Doença de Alzheimer
AIF	Fator Indutor de Apoptose
APA	Associação Psiquiátrica Americana
ATP	Trifosfato de Adenosina
AV	Alanina/Valina
BDNF	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro
CAD	Caspase
CAT	Catalase
CE	Crises Epilépticas
CHO	Colesterol Total
Cis	Cisteína
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
CT	Colesterol Total
CuZnSOD	SOD citosólica dependente de cobre e zinco
Da	Daltons
DAEs	Drogas Antiepilépticas
DCF	Diclorofluorosceína
DCFDA	Diacetato de Diclorofluorosceína
DCFH	Diclodihidrofluorosceína
DCFH-DA	Diacetato Dediclorofluoresceína
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DSM-V	Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais
EEG	Eletroencefalograma
ELF	Epilepsia Lobo Frontal
ELT	Epilepsia Lobo Temporal
EMIC	Espessura Média-Intimal Carotídea
ER	Espécies Reativas
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FE	Funções Executivas
GABA	Ácido Gama-Amino Butírico
GABA-T	GABA-transaminase
GEA	Grupo Epilepsia Ausência
GER	Grupo Epilepsia Rolândica
His	Histidina
HUSM	Hospital Universitário de Santa Maria
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de Hidrogênio
IBE	Internacional Bureau de Epilepsia
ILAE	Liga Internacional Contra Epilepsia
IL-1 $\beta$	Interleucina 1-beta
IL-6	Interleucina-6
IL-6R	Receptor de IL-6

IL- 10	Interleucina-10
INF- $\gamma$	Interferon-gama
kDa	Quilodaltons
Lis	Lisina
MDA	Malondialdeído
MnSOD	Superóxido Dismutase Manganês
MSLP	Memória Semântica de Longo Prazo
MT	Memória de Trabalho
MTS	Sequência alvo mitocondrial
MVCP	Memória Visual de Curto Prazo
MVLP	Memória Verbal de Longo Prazo
nAChR	Receptores Nicotínicos
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
NOx	Nitrito/nitrato
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
ox-LDL	Colesterol LDL oxidado
ERD	Enzima Reparadora de DNA
DP	Doença de Parkinson
PG	Picogreen
RC	Razão de Chance
RM	Ressonância Magnética
RNA <sub>m</sub>	RNA mensageiro
SE	Status Epilepticus
SM	Síndrome Metabólica
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
SODs	Superóxido Dismutases
TBARS	Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TD	Transtornos Depressivos
TDM	Transtorno Depressivo Maior
TG	Triglicerídios
tmTNF	TNF transmembranar
TNCs	Transtornos Neurocognitivos
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral
TNFR1	Receptor TNF-1
TNFR2	Receptor TNF-2
SOD	Superóxido Dismutase
solTNF	TNF solúvel
V	Valina
VACHT	Transportador de Acetilcolina Vesicular
AVE	Acidente Vascular Encefálico
WHO	Organização Mundial da Saúde

## SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1 OBJETIVOS.....	18
<b>1.1.1 Objetivo geral</b> .....	<b>18</b>
<b>1.1.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>18</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>20</b>
2.1 VISÃO GERAL.....	20
2.2 CONCEITOS E DEFINIÇÕES.....	21
2.3 EPIDEMIOLOGIA .....	21
2.4 EPILEPTOGÊNESE .....	21
2.5 TIPOS DE CRISES EPILEPTICAS .....	23
2.6 TRATAMENTO DA EPILEPSIA .....	25
2.7 MECANISMO DE AÇÃO ENVOLVENDO A NEUROTRANSMISSÃO GABA E GLUTAMATO .....	26
2.8 INFLAMAÇÃO NA EPILEPSIA.....	27
2.9 FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF-A) .....	28
2.10 INTERLEUCINA-1 BETA (IL-1B).....	29
2.11 INTERLEUCINA-6 (IL-6) .....	31
2.12 SISTEMA COLINÉRGICO NEURONAL.....	32
2.13 ESPÉCIES REATIVAS .....	35
2.14 POLIMORFISMO DO GENE DA SUPERÓXIDO DISMUTASE DEPENDENTE DE MANGANÊS MNSOD (ALA16VALMNSOD) .....	38
2.15 MORTE CELULAR E APOPTOSE .....	42
2.16 EPILEPSIA: INFLAMAÇÃO E MEMÓRIA .....	45
2.17 EPILEPSIA E FUNÇÕES NEUROCOGNITIVAS .....	46
2.18 ORIENTAÇÃO TÊMPORO-ESPACIAL.....	47
2.19 MEMÓRIA.....	48
2.20 ATENÇÃO .....	50
2.21 PERCEPÇÃO .....	50
2.22 LINGUAGEM .....	51
2.23 FUNÇÕES EXECUTIVAS.....	52
2.24 PRAXIAS .....	53
2.25 EPILEPSIA E DISLIPIDEMIA.....	53
2.26 MEMÓRIA E DISLIPIDEMIA .....	55
2.27 DEPRESSÃO E EPILEPSIA .....	56
<b>3 ARTIGOS CIENTÍFICOS</b> .....	<b>58</b>
3.1 ARTIGO 1 .....	59
3.2 ARTIGO 2 .....	68
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>77</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>83</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>84</b>
<b>ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	<b>104</b>
<b>ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS CONTROLES QUE PARTICIPARAM DA PESQUISA</b> .....	<b>107</b>
<b>ANEXO C - TERMO DE CONFIDENCIALIDADE</b> .....	<b>110</b>
<b>ANEXO D - QUESTIONÁRIO CLÍNICO</b> .....	<b>111</b>

## APRESENTAÇÃO

No item **INTRODUÇÃO**, está descrita a revisão de literatura sobre os temas abordados nesta tese.

Os resultados que fazem parte deste trabalho estão sob a forma de artigos científicos, os quais se encontram no item **ARTIGO 1** e **MANUSCRITO 1**. As seções Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências encontram-se nos respectivos artigos e manuscritos e representam a íntegra deste trabalho.

Os itens **DISCUSSÃO** e **CONCLUSÃO** da tese apresentam interpretações e comentários gerais sobre os manuscritos científicos contidos neste trabalho.

O item **REFERÊNCIAS** refere-se somente às referências dos autores citados nos itens **INTRODUÇÃO**, **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** e **DISCUSSÃO** desta tese.

O item **ANEXOS** referem-se ao questionário clínico utilizado neste estudo, aos testes neuropsicológicos aplicados, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e o Termo de Confidencialidade.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os países do terceiro mundo apresentaram um crescimento na expectativa de vida, principalmente devido a uma melhora nas condições econômicas (GARRITANO *et al.*, 2012). Entretanto, observa-se um progressivo aumento de pacientes com doenças crônicas, causando um impacto importante sobre o sistema de saúde e previdenciário (GARRITANO *et al.*, 2012). Dessa forma, as doenças crônicas tornaram-se um problema para os sistemas de saúde, devido aos altos custos investidos no cuidado terapêutico dessa população e por serem uma das principais causas de incapacidade (BELDA-LOIS *et al.*, 2011).

Uma dessas doenças crônicas é a epilepsia, uma doença neurológica caracterizada por uma predisposição persistente do cérebro em gerar crises epiléticas e consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais (FISHER, 2015). A epilepsia é considerada uma condição clínica que envolve crises epiléticas recorrentes, que também causam distúrbios comportamentais ou perceptuais episódicos devido à atividade elétrica neuronal excessiva, periódica e hipersincrônica dos neurônios (ANTONIUK, 2011). Um processo epileptogênico contínuo pode prejudicar irreversivelmente o cérebro, causando mudanças cognitivas persistentes e déficits intelectuais globais (HERMANN *et al.*, 2010). Os déficits de memória, atenção e linguagem são algumas das queixas cognitivas mais relatadas em pacientes com epilepsia (VAN RIJCKEVORSEL, 2010), enquanto a depressão é a comorbidade psiquiátrica mais frequente (HERMANN; SEIDENBERG; BELL, 2000). Além das alterações cognitivas e psiquiátricas, evidências sugerem o envolvimento da via inflamatória na fisiopatologia da epilepsia (VEZZANI *et al.*, 2011). As citocinas, como o TNF- $\alpha$  e a IL-1 $\beta$ , são produzidas durante a atividade epilética (CHOI, 1988), e podem contribuir para a morte neuronal e a apoptose (VEZZANI *et al.*, 2008). Além da inflamação, os níveis elevados de lipídeos e glicídeos também parecem estar envolvidos no comprometimento cognitivo na epilepsia e na população em geral (HERMANN *et al.*, 2017). De fato, os estudos mostram que a modificação do estilo de vida e a terapia com estatinas reduziram o processo aterosclerótico e, conseqüentemente, o risco vascular em pacientes epiléticos (SIERRA-MARCOS *et al.*, 2015; STONE *et al.*, 2014).

Em relação às espécies reativas, o cérebro é mais susceptível ao dano oxidativo, dado que é rico em ácidos graxos poliinsaturados sensíveis à oxidação e

possui alto consumo de  $O_2$ , assim como é relativamente pobre em defesas antioxidantes. Dessa forma, durante as crises epiléticas, pode ocorrer um aumento na produção e liberação de espécies reativas e uma redução nas defesas antioxidantes, resultando no comprometimento da permeabilidade neuronal e dano celular (FRANTSEVA *et al.*, 2000). Uma das principais defesas celulares ao dano oxidativo é um grupo de oxiredutases conhecido como superóxido dismutases (SODs), que catalizam a dismutação do  $O_2^-$  em  $O_2$  e  $H_2O_2$  (FUKAI; USHIO-FUKAI, 2011).

Existem 3 isoformas de SODs, entre elas é possível citar a SOD mitocondrial dependente de manganês (MnSOD). Essa enzima contém um gene com 5 éxons e está localizada no cromossoma 6q25 (ROY *et al.*, 2006). Um dos mais comuns polimorfismos da MnSOD é devido à substituição da alanina 16 (GCT) com a valina (GTT), resultando no polimorfismo Ala16Val. Essa mutação pode refletir em uma redução funcional da enzima a nível mitocondrial, o que implicaria em uma eficiência diminuída da MnSOD (DUARTE *et al.*, 2010).

Um estudo realizado por Sutton *et al.* (2005) mostrou que a Ala-MnSOD teve uma maior efetividade (30%-40%) em relação à mutação Val-MnSOD no controle da geração de  $O_2^-$  mitocondrial. Dessa forma, a mutação poderia interferir na funcionalidade da enzima em controlar o estado redox da célula e, assim, afetar o funcionamento cerebral (KEATING *et al.*, 2006), contribuindo para algumas doenças neurológicas, como a epilepsia.

Embora alguns estudos descrevam a relação do estresse oxidativo e inflamação com as crises epiléticas, escassos trabalhos enfatizaram seus estudos em investigações a respeito da associação do polimorfismo genético da MnSOD Ala16Val na epilepsia. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi (1) avaliar o perfil neurocognitivo e depressivo na epilepsia e sua relação com os parâmetros glicolipídicos, apoptóticos e inflamatórios; (2) correlacionar esses marcadores com o resultado dos testes neurocognitivos; (3) investigar a relação do polimorfismo da Ala16ValMnSOD com os testes neurocognitivos nos pacientes; (4) investigar o papel do polimorfismo Ala16ValMnSOD e sua associação com marcadores oxidativos e inflamatórios em pacientes com epilepsia; e (5) correlacionar esses marcadores e o perfil cognitivo com o polimorfismo Ala16ValMnSOD nos participantes com epilepsia.

A intenção é compreender melhor os mecanismos dessa doença e agregar conhecimento para que, no futuro, novas maneiras de diagnóstico e tratamento possam ser consideradas.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a relação do polimorfismo da Ala16ValMnSOD com as funções neuropsicológicas, parâmetros inflamatórios, apoptóticos e estresse oxidativo, bem como do metabolismo glicolípídico e dano ao DNA em pacientes com epilepsia do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM).

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) descrever as características da população em estudo em relação à idade, sexo e fatores associados e frequência de crises;
- b) investigar as funções cognitivas (memória, orientação têmporo-espaical, atenção, percepção, linguagem, praxias e funções executivas) através do teste Neupsilin em pacientes com epilepsia e em indivíduos saudáveis;
- c) avaliar o potencial intelectual dos pacientes com epilepsia através do teste Matrizes Progressivas Escala Geral (A, B, C, D e E) e em indivíduos saudáveis;
- d) avaliar os sintomas depressivos em pacientes com epilepsia e em indivíduos saudáveis através da Escala de Hamilton;
- e) analisar os marcadores metabólicos colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos e glicemia de jejum em pacientes com epilepsia e em indivíduos saudáveis;
- f) analisar se existe relação na alteração das funções cognitivas com o genótipo da Ala16ValMnSOD;
- g) investigar o envolvimento do polimorfismo Ala16Val MnSOD em pacientes com epilepsia e em indivíduos saudáveis, assim como a relação desse polimorfismo com os marcadores:
  - inflamatórios: TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , Interferon-gama (INF- $\gamma$ );
  - acetilcolinesterase (AChE);
  - apoptóticos: caspases 1- 8 - 3;

- dano ao DNA (teste picogreen);
- estresse oxidativo: proteína carboníl, TBARS e atividade da superóxido dismutase;
- metabólicos: colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos, glicemia de jejum.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 VISÃO GERAL

A epilepsia é definida como um conjunto de disfunções neurológicas caracterizadas pela predisposição duradoura em gerar crises epiléticas. Suas consequências são neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais (FISHER *et al.*, 2005; FISHER *et al.*, 2014). Em média, 65 milhões de pessoas em todo o mundo são diagnosticadas com epilepsia, sendo que 80% dessas vivem nos países em desenvolvimento (NGUGI *et al.*, 2010; THURMAN *et al.*, 2011). Estima-se que, globalmente, 2,4 milhões de pessoas são diagnosticadas com epilepsia a cada ano (WHO, 2015).

Clinicamente, as crises epiléticas são altamente variáveis na forma de apresentação: alteração da consciência, transtornos motores, sensitivos, psíquicos ou autonômicos, ou de comportamento inapropriado, podendo ser resultado dos processos que culminam na hiperexcitabilidade neuronal. A variabilidade de manifestações clínicas justifica-se pelas diferentes regiões cerebrais envolvidas e a atual classificação baseia-se em achados clínicos, de imagem e eletroencefalográficos (BERG *et al.*, 2010).

Segundo a literatura, a epilepsia do lobo temporal (TLE) é o tipo de epilepsia focal mais prevalente em adultos, além de ser também a de maior índice de refratariedade ao tratamento farmacológico (ENGEL JR., 2001). Além disso, muitos pacientes com TLE sofrem com comorbidades cognitivas e comportamentais, tais como ansiedade, depressão e déficits de memória, que podem ser consequências das alterações morfológicas e funcionais no lobo temporal decorrentes das crises epiléticas (MARCANGELO; OVSIEW, 2007).

Além das comorbidades cognitivas, a epilepsia também apresenta consequências econômicas uma vez que a produtividade no trabalho é diretamente afetada (ALLERS *et al.*, 2015). No período de 1980 a 2003, foram registrados 32.655 óbitos decorrentes de epilepsia no Brasil (FERREIRA; SILVA, 2009). Além disso, as pessoas com epilepsia são, muitas vezes, sujeitas à discriminação, uma vez que a falta de informações leva a atitudes negativas acerca da doença (HICKS; HICKS, 2005).

## 2.2 CONCEITOS E DEFINIÇÕES

A epilepsia é uma doença caracterizada pela predisposição duradoura em gerar crises epiléticas. A crise epilética é definida como uma ocorrência transitória de sinais e/ou sintomas devido à atividade neuronal excessiva e anormal no cérebro. Fenômenos anormais súbitos e transitórios, tais como alterações da consciência ou eventos motores, sensitivos/sensoriais, autonômicos ou psíquicos involuntários, fazem parte desses sinais e/ou sintomas (FISHER *et al.*, 2005).

Para configurar-se o quadro de *status epilepticus* (SE), as crises epiléticas apresentam-se como crises contínuas, de aproximadamente 5 minutos ou mais, de atividade convulsiva clínica ou eletroencefalográfica, ou da repetida atividade convulsiva sem recuperação entre as crises. O SE é considerado uma emergência médica e está associado com uma alta morbidade, mortalidade e risco significativo de déficit cognitivo (BROPHY *et al.*, 2012; YACUBIAN; KOCHEN, 2002).

## 2.3 EPIDEMIOLOGIA

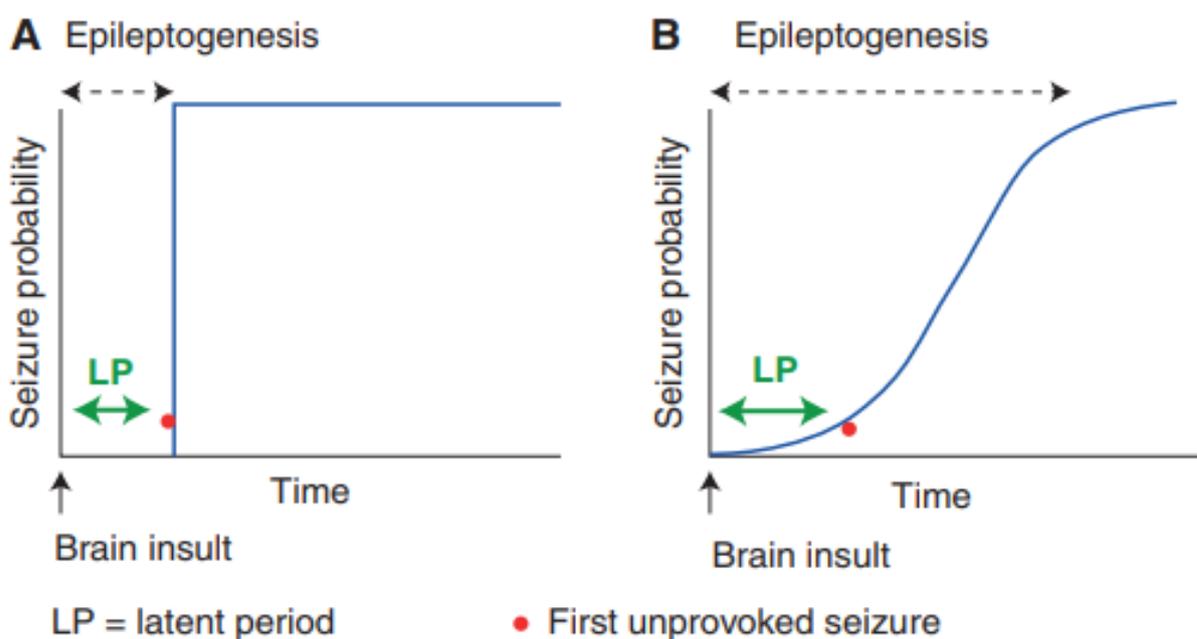
A epilepsia é uma alteração neurológica prevalente, compreendendo diferentes síndromes e condições, abrangendo 0,6-1,5% da população mundial (BELL; NELIGAN; SANDER, 2014). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo são portadoras de epilepsia e cerca de 80% dos indivíduos acometidos encontram-se em países de baixa e média renda (LABOISSIÈRE, 2017). No mundo, há cerca de 2,4 milhões de novos pacientes epiléticos a cada ano, dos quais pelo menos 50% começam na infância e adolescência (TUTANC *et al.*, 2015). No Brasil, os estudos epidemiológicos sobre epilepsia são limitados. Isso pode estar relacionado à dificuldade inerente de classificação das crises epiléticas, bem como ao acesso da maioria da população mais carente ao diagnóstico e tratamento (SANDER, 2003). Apesar disso, estima-se que a prevalência brasileira da doença seja de 1,4% da população em geral (FERREIRA; SILVA, 2009).

## 2.4 EPILEPTOGÊNESE

O processo de epileptogênese ocorre quando há um desequilíbrio entre os mecanismos de excitação e inibição sináptica, com consequente produção de um

estado de hiperexcitabilidade e hipersincronia (Figura 1) (PITKÄNEN *et al.*, 2015). Eventos iniciais, tais como predisposição genética, traumas e infecções, poderiam levar ao início da epileptogênese, envolvendo alterações estruturais e funcionais, favorecendo a geração de crises espontâneas recorrentes (PITKÄNEN; LUKASIUK, 2011). Esse processo conduz a um desequilíbrio entre a excitação e inibição neuronal, resultando em hiperexcitabilidade de uma população específica de neurônios cerebrais (DELORENZO; SUN; DESHPANDE, 2005). Embora a epileptogênese concentre diferentes características, como morte neuronal e inflamação, seus mecanismos não estão completamente elucidados (CHANG; LOWESTEIN, 2003).

Figura 1 - Epileptogênese



Fonte: Pitkänen *et al.* (2015).

Nesse interim, define-se epileptogênese da seguinte forma:

- previamente, a epileptogênese era considerada como a representação do período latente, o qual era definido como o tempo entre o insulto e a ocorrência da primeira crise não-provocada;
- mais recentemente, com base em várias observações experimentais e clínicas, considera-se que a epileptogênese se estende além do período latente, que ainda é definido como o tempo da lesão precipitante e a primeira crise clínica. No entanto, as observações de que crises subconvulsivas

podem ter ocorrido antes da primeira convulsão clínica e que a frequência e a gravidade das crises aumentam progressivamente ao longo do tempo indicam que a epileptogênese pode continuar indefinidamente.

## 2.5 TIPOS DE CRISES EPILÉPTICAS

Em todas as revisões terminológicas realizadas até o presente pelas Comissões da *International League Against Epilepsy* (ILAE), presumia-se que a classificação deveria ser constantemente revisada para refletir, de forma clara, todos os avanços obtidos na pesquisa básica e clínica em epilepsia, permitindo, assim, sua incorporação na prática clínica. Desse modo, em paralelo ao avanço das pesquisas na área da epileptologia, a Comissão da ILAE de Classificação e Terminologia 2013-2017, recentemente revisou a classificação e desenvolveu uma nova proposta para a classificação das crises epiléticas. A nova proposta tem como objetivo tornar mais fácil e preciso o diagnóstico e a classificação das crises, e espera-se que essa nova versão seja mais completa (FISHER *et al.*, 2017).

De acordo com a nova proposta, a reclassificação das crises baseia-se em três características principais: o local de origem das crises, o nível de “consciência” durante uma crise e, por fim, em outras características da crise (como os sintomas e os movimentos) (FISHER *et al.*, 2017).

Em relação à etiologia, a epilepsia dividia-se em três categorias: a epilepsia genética, em que um defeito genético contribui diretamente para a epilepsia, o melhor exemplo são as canalopatias; a epilepsia estrutural/metabólica, a qual é o resultado secundário de uma condição causada por distúrbio estrutural e/ou metabólico cerebral, como a malformação cerebral, infecção, tumor, acidente vascular cerebral, trauma, entre outros; e a epilepsia com etiologia desconhecida, onde a natureza do fator etiológico não é reconhecido e identificado até o momento (BERG *et al.*, 2010; SCHEFFER *et al.*, 2013) (Figura 2).

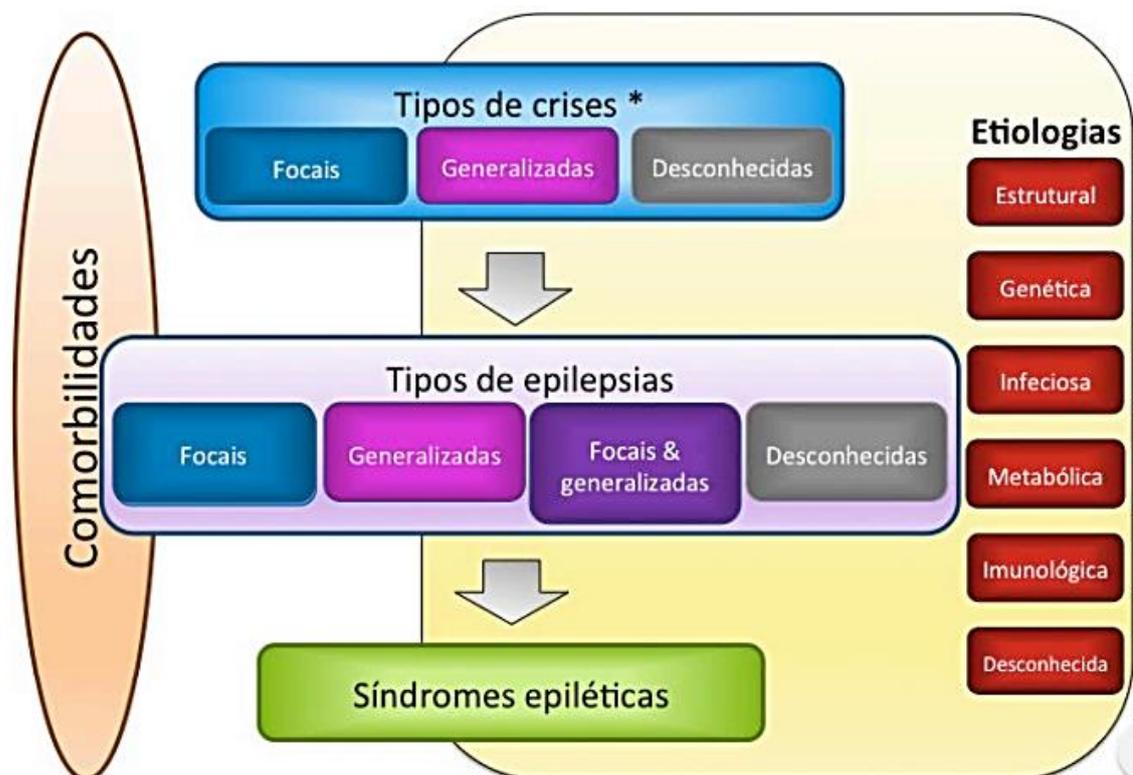
Figura 2 - Classificação operacional da ILAE 2017 para os tipos de crises epiléticas



Fonte: Fisher *et al.* (2017).

Todavia, diversas críticas surgiram na literatura ante a proposta de classificação de 2010. Ainda em 2013, foi lançado um novo relatório da Comissão da ILAE sobre classificação e terminologia das epilepsias (SCHEFFER *et al.*, 2013), que foi revisado em 2017 (Figura 3) (SCHEFFER *et al.*, 2017). Nesse documento, alguns termos foram revisados ou mais bem definidos e a epilepsia passou a ser classificada em: genética (a epilepsia que é diretamente resultante de um defeito genético conhecido ou presumido), estrutural (epilepsia em que uma lesão estrutural é visível na neuroimagem e concordante com os achados eletroclínicos, sugerindo uma relação direta entre a lesão e a epilepsia), metabólica (defeito metabólico com sintomas sistêmicos que levam também ao desenvolvimento de epilepsia), imunológica (epilepsia em que há evidência de um processo autoimune ocasionando inflamação do sistema nervoso central), infecciosa (epilepsia desencadeada por um processo infeccioso, como neurocisticercose, toxoplasmose, HIV) e desconhecida (a causa da epilepsia não pode ser determinada) (SCHEFFER *et al.*, 2017)

Figura 3 - Esquema diagnóstico para a classificação das epilepsias. Os tipos de crises denotam o início das crises epiléticas



Fonte: Scheffer *et al.* (2017).

## 2.6 TRATAMENTO DA EPILEPSIA

Nos últimos anos, houve um desenvolvimento nos estudos a respeito da fisiopatologia, características e prognóstico da epilepsia (TRINKA; KÄLVIÄINEN, 2017). O tratamento inicial da doença é o medicamentoso (Quadro 1) (PUTIGNANO *et al.*, 2017), sendo a estratégia mais utilizada para o controle de grande parte dos diferentes tipos de crises epiléticas (PERUCCA; TOMSON, 2011). Os principais mecanismos de ação das drogas antiepiléticas são o bloqueio dos canais de sódio ou cálcio voltagem-dependente, redução da atividade glutamatérgica e aumento da inibição mediada pelo GABA (WHITE; SMITH; WILCOX, 2007). Estudos indicam que aproximadamente 70% dos pacientes obtêm sucesso no tratamento. No entanto, na faixa de 25-30% dos pacientes são refratários, ou seja, continuam a ter crises apesar do tratamento com medicamentos anticonvulsivantes (ASHRAFI *et al.*, 2017).

Quadro 1 - Principais anticonvulsivantes e mecanismos de ação

Principais anticonvulsivantes	Mecanismo de ação
Carbamazepina	Bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependente
Clobazam	Liga-se aos receptores GABA-A
Etossuximida	Bloqueio dos canais de cálcio
Fenitoína	Bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependente
Fenobarbital	Prolongamento da abertura dos canais de cloreto e receptores GABA-A
Gabapentina	Ligação à canal Ca <sup>2a</sup>
Primidona	Efeito atribuído à biotransformação hepática de suas moléculas em fenobarbital
Topiramato	Bloqueio dos canais de sódio voltagem-dependente, modulação negativa dos canais de cálcio tipo-L, ativação da condutância do potássio, potencialização da ação inibitória GABAérgica, além de antagonismo a receptores glutamatérgicos
Lamotrigina	Inibe dos canais de sódio voltagem-dependentes
Vigabatrina	Inibe irreversivelmente a GABA-transaminase (GABA-T)
Levetiracetam	Se liga a um local específico no tecido cerebral dos roedores: a proteína 2A da vesícula sináptica, o que diminuiria a liberação de neurotransmissores excitatórios

Fonte: Dados extraídos de Brasil (2013).

## 2.7 MECANISMO DE AÇÃO ENVOLVENDO A NEUROTRANSMISSÃO GABA E GLUTAMATO

Estudos sugerem o envolvimento do sistema glutamatérgico (KHAN *et al.*, 2000) e sistema gabaérgico (GABA) (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2002) na manutenção e/ou propagação da epilepsia.

A neurotransmissão sináptica excitatória no sistema nervoso central é mediada principalmente pelo neurotransmissor glutamato, o qual é armazenado em vesículas sinápticas e liberado por exocitose cálcio-dependente (HERTZ *et al.*, 1999). O glutamato desempenha sua ação através da ativação dos receptores glutamatérgicos, os quais estão localizados nas membranas pré-sinápticas e pós-sinápticas. Os receptores glutamatérgicos podem ser ionotrópicos (ativados por NMDA, AMPA ou cainato) ou metabotrópicos (acoplados à proteína G). Em um processo patológico, como é o estado epiléptico, ocorre a liberação de glutamato, ativando os receptores de NMDA, levando à necrose neuronal (MELDRUM; GARTHWAITE, 1990).

O sistema gabaérgico tem como principal neurotransmissor inibitório o GABA. Assim como o glutamato, o GABA é armazenado em vesículas sinápticas e liberado para o meio extracelular de modo cálcio-dependente, onde ativa seus receptores. Os

receptores gabaérgicos são divididos em três tipos, conforme as propriedades farmacológicas, bioquímicas e eletrofisiológicas: GABA-A e GABA-C são ionotrópicos; e o GABA-B metabotrópico (COOPER *et al.*, 1991). Os receptores GABA-A possuem sítios de ligação para barbitúricos e benzodiazepínicos, entre outros, atuando, dessa forma, como agonistas na transmissão inibitória, sendo que alguns desses fármacos são utilizados na clínica durante processos convulsivos (COSTA-LOTUFO *et al.*, 2002).

## 2.8 INFLAMAÇÃO NA EPILEPSIA

A inflamação na epilepsia é desencadeada por alterações da homeostase do organismo, como lesão, infecção, exposição a contaminantes e estímulos nocivos, que por sua vez são responsáveis pela liberação e síntese de mediadores inflamatórios e citocinas (ASHLEY; WEIL; NELSON, 2012).

Com o objetivo de remover o estímulo nocivo e de reparar o tecido, leucócitos se infiltram no tecido danificado onde a inflamação aguda é uma resposta imediata à lesão tecidual ou infecção. Todavia, a inflamação crônica é um processo de resposta inflamatória, a qual causará prejuízo ao organismo ao destruir tecidos e promover resposta em excesso no que diz respeito ao reparo tecidual. A longa duração da inflamação contribui para o desenvolvimento de doenças em diferentes tecidos (MEDZHITOV, 2008).

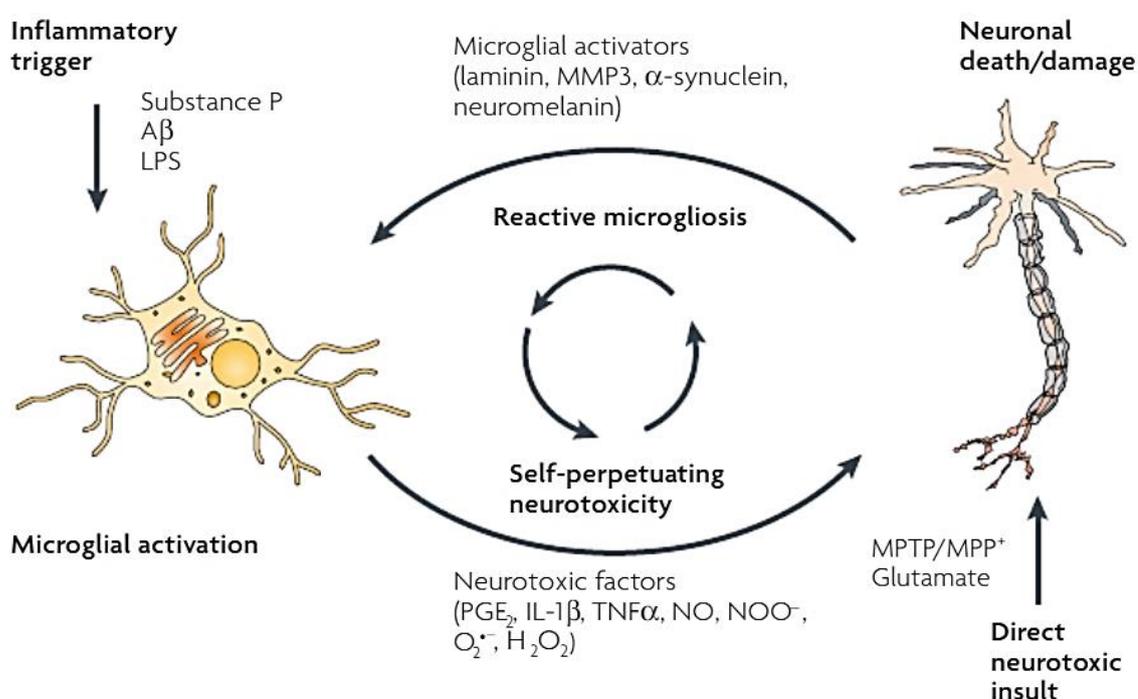
O processo inflamatório no tecido nervoso, conhecido como a neuroinflamação, permite compreender a relação entre o sistema nervoso central (SNC) e o sistema imune. Trata-se de uma resposta molecular e celular complexa a diferentes tipos de lesões desencadeadas por patógeno, ou proteínas intracelulares, em função da exposição a um ambiente com complicações, entre elas: neurotoxicidade, hipóxia, estresse oxidativo, baixo suporte energético, etc. (GLASS *et al.*, 2010).

Existem divergências na inflamação e na neuroinflamação quanto à sinalização, ou seja, de tipos de celulares atuantes e de alterações histomorfológicas, de transcriptoma (regulação de genes) (FILIOU *et al.*, 2014). Na neuroinflamação, células gliais, como astrócitos e a micróglia (O'CALLAGHAN; SRIRAM; MILLER, 2008), são consideradas células de resposta imune inata que promovem resposta de morte celular ou sobrevivência no SNC. Essas células são responsáveis por produzir e secretar citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleucina-6 (IL-

6) e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), e anti-inflamatórias, como interleucina-10 (IL-10). Por outro lado, na inflamação, atuam leucócitos, como monócitos, macrófagos e neutrófilos (CARSON; THRASH; WALTER, 2006; LÚ *et al.*, 2014).

Nos estudos das doenças neurodegenerativas, a pesquisa acerca da neuroinflamação é uma área crescente (Figura 4). Contudo, ainda não é uma área bem esclarecida, dada a dificuldade em classificar a neuroinflamação como causa ou consequência no desenvolvimento de doenças neurológicas (ELLWARDT; ZIPP, 2014; O'CALLAGHAN; SRIRAM; MILLER, 2008).

Figura 4 - Neuroinflamação desencadeada pela epilepsia



Fonte: Adaptado de Block, Zecca e Hong (2007).

## 2.9 FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF- $\alpha$ )

O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória que se liga em dois receptores, o TNFR-1 e o TNFR-2, que, além de diferirem no peso molecular, variam na afinidade, estrutura molecular e expressão. O receptor TNF-1 (TNFR1) é expresso na maioria dos tipos celulares e é ativado por TNF solúvel (solTNF) ou TNF transmembranar (tmTNF). Enquanto que o receptor TNF-2 (TNFR2) é expresso principalmente por

microglia e células endoteliais, sendo preferencialmente ativado por tmTNF (IDRISS; NAISMITH, 2000; MCCOY; TANSEY, 2008).

O TNF- $\alpha$  é liberado e sintetizado pela micróglia, sendo que no SNC ambas formas de TNF- $\alpha$  são biologicamente ativas. Os astrócitos e neurônios também são capazes de produzir esta citocina pró-inflamatória (IDRISS; NAISMITH, 2000). A elevação da forma solúvel de TNF- $\alpha$  é considerada um marcador de lesão aguda e crônica, ou seja, um indicativo da neuroinflamação na fisiopatologia das doenças neurodegenerativas, como doença de Parkinson (PD), doença de Alzheimer (AD), esclerose lateral amiotrófica e acidente vascular cerebral isquêmico (MCCOY; TANSEY, 2008).

O TNF- $\alpha$  também desencadeia um desequilíbrio na neurotransmissão excitatória e inibitória ao alterar a expressão de receptores glutamatérgicos e GABAérgicos. O TNF- $\alpha$  diminui a expressão de receptores GABA A e aumenta a expressão de receptores AMPA na membrana plasmática ao promover a sua endocitose (MCCOY; TANSEY, 2008). A morte neuronal ocorre quando os aumentos de níveis de TNF- $\alpha$  induzem excitotoxicidade glutamatérgica (ZHU *et al.*, 2010).

Além de estimular a produção de diferentes mediadores inflamatórios, o TNF- $\alpha$  pode também formar espécies reativas de oxigênio (CHU *et al.*, 2013). Estudos demonstram que, assim como a IL-1 $\beta$ , o TNF- $\alpha$  possui propriedades neuromoduladoras, sendo, dessa maneira, capaz de aumentar a excitabilidade neuronal através de diferentes efeitos na neurotransmissão mediada por TNFR1. Além disso, de acordo com Plata-Salamán *et al.* (2000) e Godlevsky *et al.* (2002), a presença das crises epiléticas pode acarretar na elevação de RNA mensageiro (RNAm) para essa citocina em diferentes regiões cerebrais: hipocampo, amígdala, córtex piriforme, pré-frontal e parietal. As consequências da ação do TNF- $\alpha$ , nas crises epiléticas e processos inflamatórios através da neurodegeneração/neuroproteção, parece depender de seus níveis no cérebro e também de qual tipo de receptor está predominantemente ativado (DARDIOTIS *et al.*, 2012). Contudo, enquanto o TNFR1 é descrito como um fator pró-ictogênico, o TNFR2 desempenha um papel anti-ictogênico (BALOSSO *et al.*, 2013).

## 2.10 INTERLEUCINA-1 BETA (IL-1 $\beta$ )

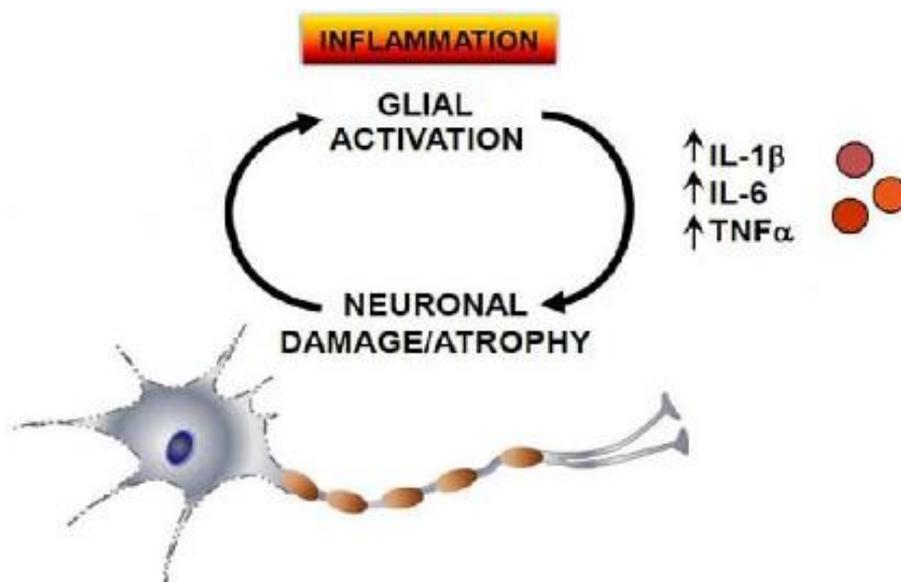
A IL-1 $\beta$  é uma das citocinas pró-inflamatórias mais estudadas e está relacionada com resposta autoimune e de diversas doenças de inflamação local e sistêmica (DINARELLO, 1997; DINARELLO, 2009). É capaz de ativar a transcrição de genes relacionados à resposta inflamatória, como ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e fosfolipase A2. O trabalho da IL-1 $\beta$  ocorre na maioria das células e de forma sinérgica com outra citocina pró-inflamatória, geralmente o TNF- $\alpha$  (DINARELLO, 2009).

A síntese de IL-1 $\beta$  ocorre na presença de moléculas relacionadas a patógenos e moléculas associadas ao dano celular. Sua produção é a partir da síntese de um precursor que é processado à molécula ativa através da enzima caspase-1. A microglia é a principal origem de IL-1 $\beta$  em ambiente nocivo no SNC, porém, astrócitos e macrófagos infiltrantes também são capazes de sintetizar e secretar essa citocina (MABUCHI *et al.*, 2000; PEARSON; ROTHWELL; TOULMOND, 1999).

O desenvolvimento de doenças neurodegenerativas agudas e crônicas ocorre a partir da contribuição da IL-1 $\beta$ , que promove a excitotoxicidade, lesão neuronal causada por hemorragia, hipóxia/isquemia e crises epilépticas ou acúmulo extracelular de  $\beta$ -amiloide, que ativa a microglia a produzir IL-1 $\beta$  (SIMI *et al.*, 2007).

Na epilepsia, observa-se o papel da IL-1 $\beta$  na epileptogênese, sendo essa um alvo farmacológico no tratamento da epilepsia (DE SIMONI *et al.*, 2000; DUBÉ *et al.*, 2004). A IL-1 $\beta$  é considerada um mediador central, não apenas por sua habilidade em regular outras citocinas inflamatórias, tais como IL-6 e TNF- $\alpha$ , mas também por ser a primeira citocina a ser liberada sob condições patológicas (Figura 5) (BOUTIN *et al.*, 2003).

Uma forte ativação do complexo IL-1 $\beta$ /IL-1RI em células gliais e neuronais foi observada em análise de amostras cerebrais de pacientes com epilepsia do lobo temporal com esclerose hipocampal (RAVIZZA; VEZZANI, 2006). Além disso, com relação aos efeitos da IL-1 $\beta$ , na transmissão sináptica, houve um aumento da excitabilidade neuronal e um decréscimo no limiar das crises epilépticas no hipocampo e também em regiões susceptíveis às crises (VEZZANI *et al.*, 1999). Dessa maneira, a IL-1 $\beta$  é classificada como uma molécula pró-convulsiva, sendo que inibidores dessa via podem vir a tornarem-se anticonvulsivantes de grande valor terapêutico (VEZZANI *et al.*, 2011).



Fonte: Adaptado de Jurgens e Johnson (2012).

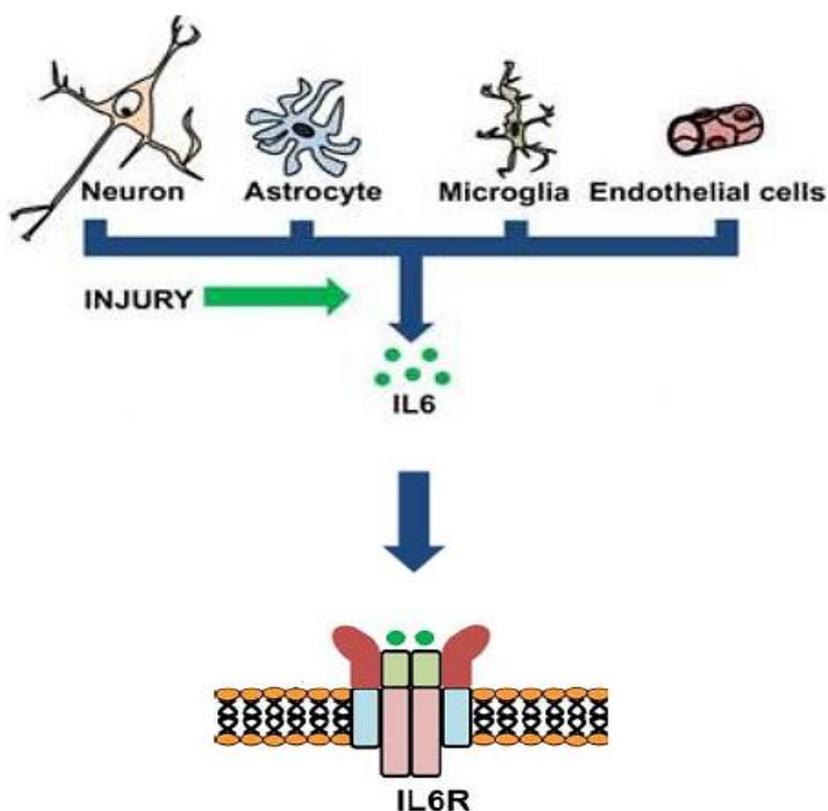
## 2.11 INTERLEUCINA-6 (IL-6)

A interleucina-6 (IL-6) é descrita como uma proteína-chave no sistema nervoso central, devido a evidências não somente na neuroinflamação, mas em diversas outras patologias do sistema nervoso (SPOOREN *et al.*, 2011). Possui um importante papel regulatório sobre as imunidades inata e adaptativa, sendo sintetizada principalmente através de células dendríticas, astrócitos, células microgliais, células endoteliais, entre outros (NAVA-CASTRO *et al.*, 2018). A função biológica da IL-6 ocorre através da ligação a seu receptor IL-6R, contudo, é necessário um recrutamento adicional de outros receptores de proteínas para induzir as vias de sinalização (ERTA; QUINTANA; HIDALGO, 2012).

Da mesma forma que IL-1β e TNF-α, a IL-6 é rapidamente produzida pelas células gliais durante a crise epiléptica (Figura 6) (VEZZANI *et al.*, 2008). Além disso, a presença dessas crises induz a um rápido aumento de RNAm de IL-6 em diferentes regiões do hipocampo, consequentemente aumentando também a produção de RNAm para o receptor de IL-6 (IL-6R) na região hipocampal. Em modelos experimentais utilizando-se o ácido caínico e indução por estímulos elétricos, observou-se uma elevação na expressão da citocina IL-6 e seu receptor (IL-6R) em células gliais (KALUEFF *et al.*, 2004; VEZZANI *et al.*, 2002). Essa observação experimental demonstra que a IL-6 é capaz de contribuir para o início das crises

epilépticas, bem como é estabelecido o efeito neurotóxico e pró-convulsivante dessa citocina (CAMPBELL *et al.*, 1993; JONAKAIT, 2007; KALUEFF *et al.*, 2004; SAMLAND *et al.*, 2003).

Figura 6 - Produção da IL-6 através de diferentes células cerebrais



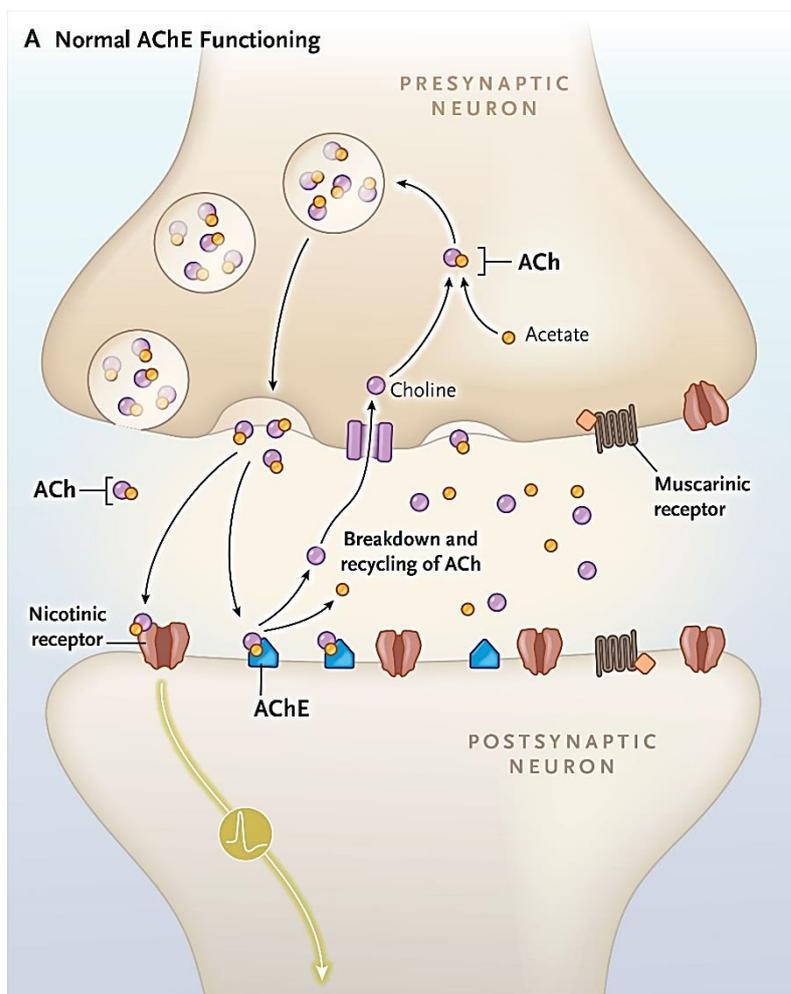
Fonte: Adaptado de Erta, Quintana e Hidalgo (2012).

## 2.12 SISTEMA COLINÉRGICO NEURONAL

Uma nova via de controle da síntese de citocinas pró-inflamatórias, a qual é regulada pelo sistema nervoso autônomo (SNA), foi chamada de via colinérgica anti-inflamatória (Figura 7). A ação do neurotransmissor acetilcolina (ACh) se dá em função do sistema colinérgico ser o responsável pela propagação do impulso nervoso em sinapses neuronais e neuromusculares (KAWASHIMA; FUJII, 2003; TRACEY, 2007). No neurônio pré-sináptico, a ACh é sintetizada a partir de colina e aceti-coenzima A, sob a ação da enzima colina acetiltransferase (SOREQ; SEIDMAN, 2001). O armazenamento da ACh ocorre em vesículas sinápticas pelo transportador vesicular

de ACh (*VAChT* - *vesicular acetylcholine transporter*), sendo um importante neurotransmissor excitatório no cérebro. A hidrólise da ACh é desempenhada pela enzima acetilcolinesterase (AChE) (PRADO *et al.*, 2002), enquanto o trajeto da colina do meio extracelular para dentro da célula é desempenhado pelo transportador de colina (KAWASHIMA; FUJII, 2003).

Figura 7 - Sinapse colinérgica



Fonte: Henretig, Kirk e McKay (2019).  
 Legenda: ACh: *acetylcholine*; AChE: *acetylcholinesterase*.

Os receptores de ACh podem ser divididos em dois tipos: nicotínicos e muscarínicos. Os receptores nicotínicos (nAChR) são canais iônicos ativados por ligantes, formando estruturas homo e heteropentaméricas a partir de subunidades  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  e/ou  $\epsilon$ . Os associados às proteínas do tipo G são denominados receptores muscarínicos (mAChR) (SOREQ; SEIDMAN, 2001).

O mecanismo de resposta do SNC à presença de estímulos inflamatórios pode ser representado pela via colinérgica, que, por sua vez, é mediado pela ação do nervo vago (TRACEY, 2007), sendo o maior constituinte da divisão parassimpática do sistema nervoso autônomo (PAVLOV *et al.*, 2007). O nervo vago contém fibras que possuem componentes sensoriais (aférentes) e motores (eferentes) responsáveis pelo controle das funções dos órgãos. Tal nervo origina-se no tronco cerebral, percorrendo o pescoço, o tórax e o abdômen, dirigindo-se para os órgãos viscerais (TRACEY, 2005, 2007). Segundo pesquisas realizadas, o nervo vago eferente,

quando ativado, diminui os níveis de TNF- $\alpha$  sistêmico e também de outras citocinas pró-inflamatórias, inibindo, então, a resposta inflamatória (PAVLOV; TRACEY, 2006; ROSAS-BALLINA *et al.*, 2008).

Os ativadores das fibras aferentes do nervo vago, como a IL-1 $\beta$  ou o LPS, servem como uma espécie de sensor para a inflamação (GWILT; DONNELLY; ROGERS, 2007; PAVLOV; TRACEY, 2006). A informação que é transmitida ao sistema nervoso central estimula o nervo vago eferente a produzir ACh (GWILT; DONNELLY; ROGERS, 2007). Assim sendo, a indução à inibição da síntese e a liberação de citocinas pró-inflamatórias por macrófagos e outras células produtoras de citocinas é realizada pela ACh. Um importante papel desse receptor tem sido demonstrado em estudos para os efeitos anti-inflamatórios do nervo vago. A estimulação desse nervo torna-se ineficiente na supressão dos níveis de TNF- $\alpha$  em camundongos *knockout* para o gene codificante para o receptor, enquanto que, em camundongos controle, essa resposta não é observada (PAVLOV; TRACEY, 2006).

### 2.13 ESPÉCIES REATIVAS

As lesões ocasionadas pelos radicais livres e/ou espécies reativas de oxigênio (EROs) também podem induzir a morte celular por apoptose. Os radicais livres são moléculas altamente instáveis e reativas que contêm um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. Como a maioria dos radicais livres são derivados do metabolismo do oxigênio, usa-se o termo “Espécies Reativas de Oxigênio” para denominá-los (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Essas EROs são formadas durante o metabolismo normal por processos enzimáticos e não enzimáticos e, quando há um aumento na sua produção, causam danos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos celulares (HALLIWEL; GUTTERIDGE, 1989). As enzimas e as proteínas podem ser atacadas pelos EROs gerados nos diversos processos metabólicos. As EROs podem atacar os resíduos de aminoácidos (especialmente prolina, arginina, lisina e treonina) para produzir grupos carbonila (DEAN *et al.*, 1997; MAISONNEUVE *et al.*, 2009), os quais podem ser quantificados por espectrofotometria (LEVINE *et al.*, 1990). Um dos marcadores de oxidação proteica é a determinação do conteúdo de proteína carbonilada (MAISONNEUVE *et al.*, 2009).

As alterações provocadas pelas EROs modificam a atividade biológica das macromoléculas, especialmente das enzimas, podendo alterar a sua atividade

catalítica devido à desorganização estrutural. As células que apresentarem as membranas danificadas ficam sujeitas à citólise, apoptose e prejuízo no transporte ativo de substâncias (PILKA *et al.*, 2009).

A proteína carbonilada pode ser gerada também através da clivagem oxidativa das proteínas por um sistema de  $\alpha$ -amidação ou por oxidação das cadeias laterais de glutamato. Também, os grupos carbonilados podem ser introduzidos nas proteínas por uma reação secundária das cadeias laterais nucleofílicas de cisteína (Cis), histidina (His) e lisina (Lis) com aldeídos produzidos durante a peroxidação lipídica (como o malondialdeído, entre outros). Além disso, derivados carbonilados reativos (cetoaminas, cetoaldeídos) gerados como uma consequência da reação de açúcares redutores, ou seus produtos de oxidação com resíduos de Lis das proteínas (reações de glicação ou glicooxidação) com a eventual formação de produtos finais de glicação-lipoxidação avançados, podem levar a formação de grupos carbonilados (DALLE-DONNE *et al.*, 2003; PILKA *et al.*, 2009; STADTMAN, 2004). O mecanismo da carbonilação ainda não está totalmente esclarecido, porém, os mais aceitos são um aumento no número de espécies oxidantes; um decréscimo nos *scavengers* dessas espécies (GALVANI *et al.*, 2008); um aumento na susceptibilidade dessas proteínas à oxidação; e um decréscimo na remoção das espécies oxidadas (DAVIES, 2000).

A modificação oxidativa das proteínas por EROs implica na progressão de várias patologias humanas, como as doenças cardíacas (CORRÊA *et al.*, 2008), neoplasias (BATTISTI *et al.*, 2008) e epilepsia (FREITAS, 2009). Após episódios convulsivos, o dano tecidual é capaz de gerar espécies reativas (ER), podendo ocasionar a morte neuronal (ERAKOVIC *et al.*, 2001; KANEKO *et al.*, 2002; LIANG; HO; PATEL, 2000) e, com o fato de o cérebro possuir uma alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados, essas ER são capazes de afetar a expressão de proteínas funcionais de membrana e receptores (LIANG; HO; PATEL, 2000; MAES *et al.*, 1999). Além disso, sob estímulos apoptóticos, o ligante TNF- $\alpha$  é capaz de elevar a concentração intracelular de EROs (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007; KUMAR *et al.*, 2008), contribuindo para a ativação da cascata apoptótica.

As células humanas apresentam um mecanismo de defesa celular para combater a intensa produção das EROs provenientes de diversas fontes. Esse mecanismo é denominado sistema de defesa antioxidante e atua na prevenção e no reparo físico e químico dos diversos sistemas orgânicos (VALKO *et al.*, 2007). Esse sistema é composto principalmente pela ação cooperativa de três principais enzimas

antioxidantes: a SOD, o sistema glutathiona GSHPx/GSHR e catalase (CAT), além de um sistema de antioxidantes não-enzimáticos (vitaminas A, C, E e D, e glutathiona reduzida) (HALLIWELL, 1999).

Em relação à localização dessas enzimas antioxidantes, a SOD é encontrada no citosol ou no meio extracelular (Cu/ZnSOD) e na mitocôndria (MnSOD), enquanto o sistema glutathiona GSHPx/GSHR e CAT estão presentes no citosol e peroxissomos, respectivamente (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

A CAT (EC1.11.1.6) é uma enzima tetramérica, formada por quatro subunidades idênticas de 60.000 Da, contendo um único grupo ferroprotoporfirina por unidade, e tem uma massa molecular de aproximadamente 240.000 daltons (Da) (MATÉS, 2000). Encontra-se enclausurada no peroxissoma que é a principal organela responsável pela desintoxicação celular e pela oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, fonte inesgotável de peróxidos orgânicos, produtos carbonílicos e oxigênio. Participa da conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, sendo que os dois caminhos mais utilizados para estudo de sua atividade referem-se à medida do decaimento na concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e da geração do oxigênio (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

A SOD (EC1.15.1.1) é uma metaloenzima que desempenha importante papel, já que catalisa a dismutação do radical superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio molecular. O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, por sua vez, é degradado pela CAT ou GSHPx, resultando em água e O<sub>2</sub>. Existem três classes de SOD, dependendo de sua localização e do metal componente: SOD1, SOD2 e SOD3. A SOD1 é uma enzima citosólica dependente de cobre e zinco (CuZnSOD) e é encontrada no citoplasma, compartimentos nucleares e lisossomos de células de mamíferos (ZELKO; MARIANI; FOLZ, 2002).

Já a SOD2 é uma enzima mitocondrial dependente de manganês (MnSOD) e é encontrada somente em mitocôndrias de células aeróbicas (SEIZI, 2003; GAŁECKA *et al.*, 2008). Vários estudos têm demonstrado a relevância da MnSOD como agente protetor da doença cardiovascular. A atividade da MnSOD é diretamente induzida pela presença de colesterol LDL oxidado (ox-LDL), EROs e fumo, o qual contém várias substâncias oxidantes em sua composição (KINSCHERF *et al.*, 1997; MARAGON *et al.*, 1997). Além disso, existem evidências indicando que a superexpressão da MnSOD inibe, *in vitro*, a oxidação da LDL pelas células endoteliais humanas (FANG *et al.*, 1998). Nagara *et al.* (2001) realizaram estudos com compostos miméticos da

MnSOD e demonstram que essa enzima impede a ativação e agregação plaquetária, que é também estimulada pela hiperglicemia e hipercolesterolemia.

E a SOD3 é uma enzima extracelular dependente de cobre e zinco: é a mais recente descoberta dessa família de enzimas, possui um peso molecular de 135.000 Da e uma das suas características é a alta afinidade pela heparina. Além disso, a SOD3 foi primeiramente detectada em plasma humano, linfa, ascites e fluido cerebrospinal e o padrão de expressão dessa enzima é altamente restrito a células e tecidos específicos, em que a sua atividade pode exceder a da SOD1 e MnSOD (ZELKO; MARIANI, T. J.; FOLZ, 2002).

A lesão do DNA mitocondrial, causada pelo estresse oxidativo, merece destaque pelo fato da mitocôndria ser a principal fonte de espécies reativas (ERs). Por essa razão, o DNA está exposto a altos níveis de ERs, promovendo mutações nos genes das próprias enzimas antioxidantes. Em resposta à hipercolesterolemia, macrófagos, linfócitos e células musculares lisas liberam citocinas à circulação sistêmica, induzindo a ativação da cascata inflamatória que promove dano oxidativo intracelular e mutação gênica, especialmente da MnSOD (DEDOUSSIS *et al.*, 2008; FORTUNATO; TARANTO, 2007).

#### 2.14 POLIMORFISMO DO GENE DA SUPERÓXIDO DISMUTASE DEPENDENTE DE MANGANÊS MnSOD (Ala16ValMnSOD)

Embora alguns estudos descrevam a relação do estresse oxidativo e inflamação com AVE, escassos trabalhos enfatizaram seus estudos em investigações a respeito da associação do polimorfismo genético da MnSOD Ala16Val na doença neurovascular. A MnSOD é uma molécula homotetramétrica composta por tetrâmeros de aproximadamente 23 quilodaltons (kDa) por subunidade. É uma enzima antioxidante considerada como primeira linha de defesa codificada por um gene nuclear e é encontrada na sua forma ativa na matriz mitocondrial (BRESCIANI *et al.*, 2013; FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

O gene da MnSOD está localizado no cromossomo 6q25, possui 5 éxons e 4 íntrons (existe apenas uma cópia desse gene) e a sua proteína é sintetizada no citosol e modificada pós-transcricionalmente dentro da mitocôndria (SHIMODA-MATSUBAYASHI *et al.*, 1997; WISPÉ *et al.*, 1989). Por ser produzida no citosol, tal enzima precisa ser carregada para o interior da mitocôndria. Esse processo é

coordenado por uma sequência peptídica sintetizada e presente no início da proteína MnSOD, ainda inativa, conhecida como *Mitochondrial Target Sequence* (MTS). Quando a MnSOD entra na mitocôndria, a região MTS é clivada por lisossomas tornando-se ativa e funcional.

Um dos polimorfismos mais estudados do gene da MnSOD ocorre nessa sequência. Esse é genericamente denominado Ala16Val, que se origina por uma mutação estrutural na região gênica que codifica a sequência MTS, foi detectado um polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP, *single nucleotide polymorphism*). Essa mutação provoca a substituição de uma citosina por uma timina na sequência codificadora, convertendo o códon GCT (alanina) para GTT (valina) (WISPÉ *et al.*, 1989; ZELKO; MARIANI; FOLZ, 2002). Três genótipos são descritos no polimorfismo da MnSOD: AA, AV e VV (ROSENBLUM; GILULA; LERNER, 1996).

A substituição da Alanina por Valina (polimorfismo Ala16Val) mostra que o alelo Val (V) afeta a conformação da sequência da proteína imatura da MnSOD, a qual é sintetizada e está presente no citosol, dificultando o transporte e a entrada da mesma para o interior da mitocôndria, onde a enzima será cortada e se tornará ativa. Essas dificuldades fazem com que indivíduos portadores do alelo V tenham uma menor eficiência enzimática da MnSOD do que os que possuem o alelo Ala (A), (SHIMODA-MATSUBAYASHI *et al.*, 1997).

O alelo Ala apresenta uma estrutura proteica do tipo  $\alpha$ -hélice, que permite o seu eficiente transporte do citosol para a mitocôndria (Quadro 2). A valina variante (Ala/Val ou Val/Val) parece apresentar uma estrutura  $\beta$ -hélice pregueada, dificultando, assim, o seu transporte para o espaço mitocondrial e, dessa forma, reduzindo a sua atividade antioxidante (BOHNI; DAUM; SCHATZ, 1983). Estima-se que o alelo A-MnSOD Ala16Val é capaz de gerar uma enzima 30-40% mais eficiente que o alelo V-MnSOD Ala16Val e essa diferença na eficiência enzimática pode levar a riscos de disfunções e doenças associadas ao estresse oxidativo (BRESCIANI *et al.*, 2013; ASCENCIO-MONTIEL *et al.*, 2013).

Quadro 2 - Estruturas e características dos genótipos do Polimorfismo Ala16Val Mn-SOD

Alelo	Genótipo	Aminoácido	Estrutura da proteína	Eficiência enzimática
A	AA	Alanina	Alfa-Hélice	40% maior
A/V	AV	Alanina/Valina	Helicoidal	Intermediária
V	VV	Valina	Beta-Lâmina	Baixa

Fonte: Da autora (2020).

Estudos prévios sugerem que esse polimorfismo da MnSOD está associado a patologias cuja etiologia é induzida por dano oxidativo, como a aterosclerose (HIROI *et al.*, 1996). Kakko *et al.* (2003) investigaram a associação entre o genótipo VV ao espessamento da carótida. A capacidade antioxidante de portadores VV poderia estar diminuída, levando por consequência ao aumento no estresse oxidativo.

Essa mutação pode refletir em uma redução funcional da enzima em nível mitocondrial, o que implicaria em uma eficiência diminuída da MnSOD (COLLINSON *et al.*, 2006), sendo que, segundo Peacock e Morris (2006), a Ala-MnSOD demonstrou uma maior efetividade no controle da geração de  $O_2^-$  mitocondrial em relação à mutação Val-MnSOD.

Corroborando com esses achados, Gottlieb *et al.* (2005) observaram que indivíduos com DM2 apresentavam uma maior frequência do alelo V da MnSOD, bem como maiores níveis de ox-LDL. Fujimoto *et al.* (2008) encontraram uma associação com o genótipo AA no aumento da atividade mitocondrial da MnSOD, protegendo os macrófagos da apoptose induzida pelo ox-LDL, diminuindo o processo inflamatório e reduzindo os riscos de infarto agudo do miocárdio e das doenças vasculares.

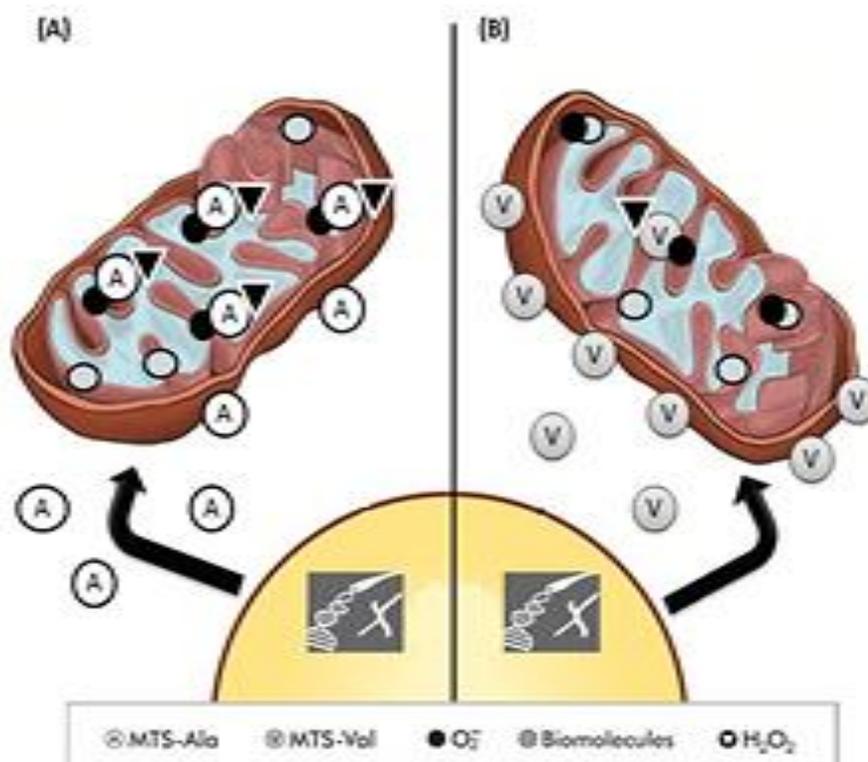
Dedoussis *et al.* (2008), em seus estudos, verificaram que homens de meia idade com genótipo VV apresentavam elevados níveis de ox-LDL quando comparados com os outros genótipos (AA e AV). Ainda, Montano *et al.* (2009) encontraram uma maior frequência do genótipo VV em indivíduos obesos. Os autores estimaram uma razão de chance 1,5 vezes maior de indivíduos VV serem obesos do que indivíduos AA e AV (RC= 1,551, 95% IC: 1.010-2.380). Também, Isbir *et al.* (2008) demonstraram que pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com o genótipo VV apresentaram menores níveis pré e pós-operatórios da atividade da MnSOD e maior liberação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6.

Ademais, Duarte *et al.* (2010) verificaram que indivíduos VV apresentavam um maior nível de marcadores de estresse oxidativo e redução na atividade das enzimas antioxidantes em pacientes hipercolesterolêmicos. Corroborando com os dados, Bica *et al.* (2010) também demonstraram uma associação do genótipo VV com a hipercolesterolemia e câncer de mama com maior potencial metastático. Enquanto que Montano *et al.* (2009) encontraram em indivíduos obesos uma maior frequência do genótipo VV, mostrando a razão de chance (RC) para obesidade. Esses resultados

sugeriram que um aumento dos níveis do ânion  $O_2^{\bullet-}$ , devido a baixa eficiência do genótipo V-SOD2, pode afetar as vias metabólicas contribuindo para obesidade.

O genótipo VV também está associado às complicações cardíacas e microvasculares, como na diabetes e indicadores bioquímicos associados ao risco cardiometabólico (JONES *et al.*, 2010; TIAN *et al.*, 2011). Montano *et al.* (2012) observaram em linfócitos de pacientes portadores do genótipo VV a prevalência de níveis elevados na produção de citocinas inflamatórias (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ), quando comparados com os linfócitos dos demais genótipos (AA e AV). Bairova *et al.* (2014) observaram fatores de risco relacionados à hipertensão e às diferenças étnicas entre caucasianos e mongóis e demonstraram que os adolescentes caucasianos apresentavam elevados níveis de malondialdeído (MDA) para A-MnSOD Ala16Val SNP, enquanto que os adolescentes mongóis apresentavam níveis reduzidos de antioxidantes totais para V-MnSOD Ala16Val (Figura 8).

Figura 8 - Eficiência do transporte da MnSOD na mitocôndria de acordo com o genótipo Ala16ValMnSOD



Fonte: Bresciani *et al.* (2013).

Há diferença da disponibilidade da MnSOD na mitocôndria de acordo com o genótipo homozigoto Ala16Val. O alelo Ala apresenta uma estrutura proteica que permite o seu eficiente transporte do citosol para a mitocôndria aumentando a dismutação do O<sub>2</sub> – em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (A). O alelo Val afeta a conformação na sequência da proteína imatura da MnSOD, sintetizada no citosol, dificulta o transporte da mesma para o interior da mitocôndria, tornando a enzima menos eficiente e diminuindo as defesas antioxidantes (B) (criado por PASCOTINI *et al.*, 2018).

## 2.15 MORTE CELULAR E APOPTOSE

O processo que abrange uma sucessão de eventos a partir da ação de agentes lesivos denomina-se morte celular (KUMAR *et al.*, 2008). A célula em apoptose é fragmentada e sofre o processo de endocitose por células vizinhas e especializadas. Todavia, antes desse processo ocorrer, algumas alterações morfológicas ocorrem, como é o caso da cromatina, que se torna condensada, enquanto o citoplasma torna-se mais denso (BOLETI *et al.*, 2008; WYLLIE; BEATTIE; HARGREAVES, 1981). Sua classificação vai de acordo com as diferenças de critérios, como: aspectos enzimáticos (com ou sem ação de nucleases ou proteases, como caspases,

catepsinas e outras); características imunológicas (imunogênica ou não imunogênica); aspectos funcionais (fisiológica ou patológica, programada ou acidental); ou características morfológicas (autofagia, necrose e apoptose) (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007; KROEMER *et al.*, 2009; KUMAR *et al.*, 2008).

Como a apoptose é uma modalidade de morte celular comum aos estados patológicos e fisiológicos, em condições patológicas, a apoptose possui a função de eliminar células danificadas geneticamente ou células com lesões irreparáveis; enquanto que, em situações fisiológicas, elimina células que já cumpriram sua função e também contribuem para manutenção do número de células nos tecidos (KUMAR *et al.*, 2008).

A apoptose pode ser desencadeada por estímulos exógenos agindo em receptores de membranas ou endógenos gerados após diferentes agressões. As características do processo a indução de modificações funcionais e morfológicas são induzidas pelas proteases, dentre as quais são encontradas as caspases. Essas enzimas possuem um resíduo de cisteína no sítio ativo e clivam substratos que possuem resíduos de ácido aspártico em sequências específicas (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007).

Em relação à divisão das caspases, as mesmas se dividem em dois grupos funcionais: as que participam diretamente da apoptose (caspases 2, 3, 6, 7, 8, 9 e 10) e as que estão envolvidas na indução da inflamação (caspases 1, 4, 5, 11, 12 e 14), sendo as mesmas ativadas através de duas principais vias: via extrínseca ou via de morte mediada por receptor e via intrínseca ou mitocondrial (CHEN *et al.*, 1998). Além disso, as caspases envolvidas na apoptose são divididas de acordo com a estrutura e função de seus pró-domínios. As caspases efetadoras ou executoras possuem pró-domínios pequenos ou inexistentes, sendo responsáveis pela clivagem de substratos. enquanto que as caspases ativadoras ou iniciadoras (caspases 8, 9 e 10) possuem um pró-domínio funcional grande e ativo (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007; KUMAR *et al.*, 2008).

De fato, pesquisas mostram um aumento da expressão da caspase 3 no neocórtex de pacientes com epilepsia do lobo temporal (ELT), sugerindo o envolvimento da via apoptótica nessa doença (HENSHALL; CHEN, J.; SIMON, 2000). Sabe-se que o papel da mitocôndria é essencial na ativação da via apoptótica e na morte celular, bem como uma fonte de proteínas pró e anti-apoptótica (SUGAWARA *et al.*, 2004). Além de promover a ativação da cascata de caspases, a caspase 3 cliva

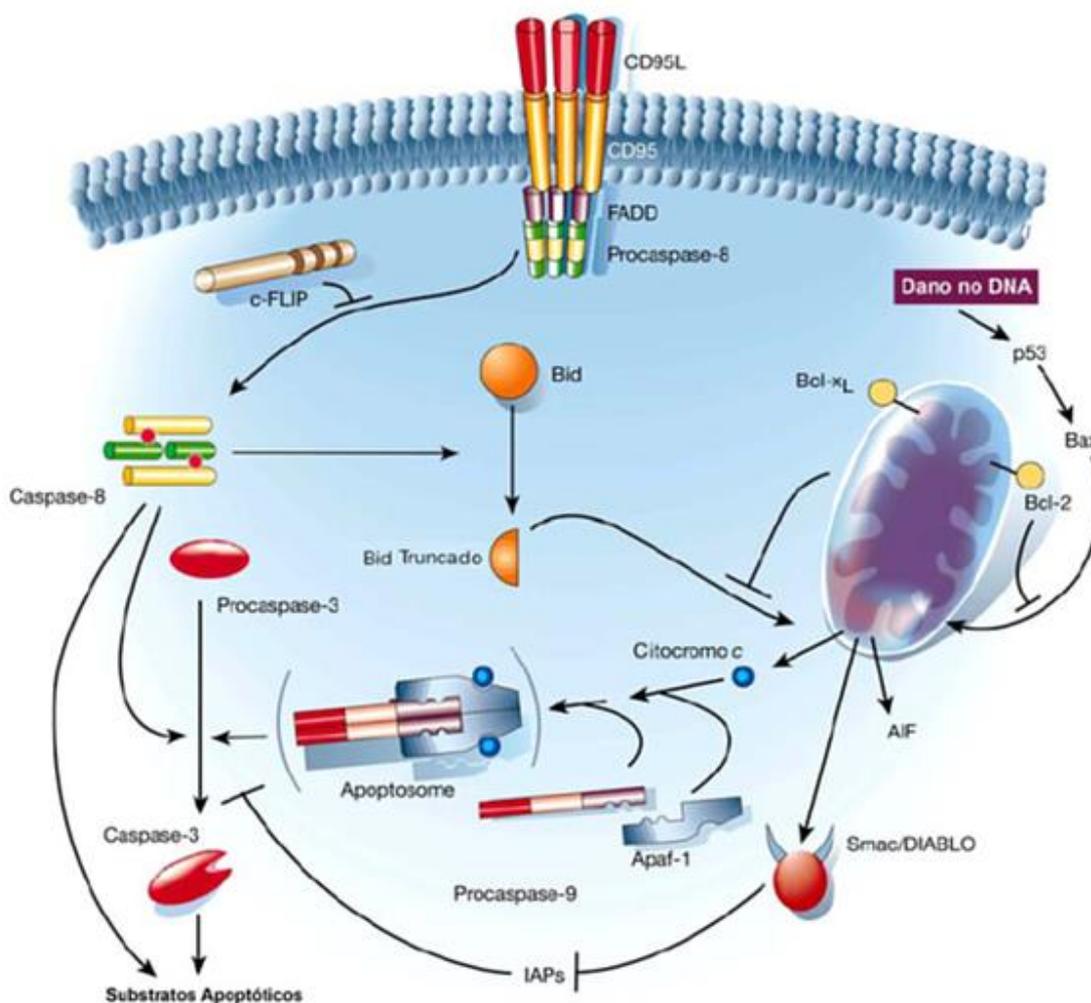
o inibidor de endonuclease ICAD, promovendo a liberação do DNA (se ativada por caspase (CAD), ou inativa a enzima reparadora de DNA (PARP). Desse modo, a caspase 3 acarreta a quebra do DNA e, conseqüentemente, impede a sobrevivência celular (SUGAWARA *et al.*, 2004).

Além de ativar diretamente a caspase, o fator indutor de apoptose (AIF) é ativador de endonucleases (enzimas que possuem a capacidade de clivar o DNA). Quando liberado no citoplasma, o AIF e as endonucleases podem migrar diretamente para o núcleo, induzindo a fragmentação do DNA (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007). Análises quantitativas da caspase 8 (iniciadora) e caspase 3 (executora) podem ser importantes indicativos de morte celular na epilepsia (HENSHALL; CHEN, J.; SIMON, 2000). Em razão dos processos fisiológicos e patológicos, o tecido celular sofre mudanças e essas mudanças são, geralmente, estimadas através da mensuração do conteúdo de DNA (HUNZIKER, 1992).

Existem diversos métodos, porém poucos são específicos para DNA dupla fita, como o picogreen (PG) (VITZTHUM *et al.*, 1999). Esse método de quantificação apenas emite fluorescência quando se liga com o DNA dupla fita, diferenciando-se da maioria de outros ensaios onde a afinidade pelo DNA e RNA diminuem suas especificidades (HÁ *et al.*, 2011).

A via extrínseca é ativada por moléculas, tais como CD95L, que se ligam aos seus receptores de morte na superfície celular e, por meio de moléculas adaptadoras FADD, irá recrutar moléculas pró-caspase 8, resultando na sua ativação. A via intrínseca é ativada por sinais intracelulares que convergem na mitocôndria e, por meio de membros da família Bcl-2, modifica a permeabilidade da membrana mitocondrial, fazendo com que essa organela libere moléculas, tais como citocromo c e Smac/DIABLO. Na Figura 9, o citocromo c irá se associar à proteína adaptadora Apaf-1 e ativar moléculas pró-caspase 9. As duas vias de ativação irão culminar em uma rota comum de execução de apoptose, por meio da ativação de pró-caspase 3, finalmente ativando a caspase 3.

Figura 9 - Vias extrínseca e intrínseca de apoptose



Fonte: Hengartner (2000).

## 2.16 EPILEPSIA: INFLAMAÇÃO E MEMÓRIA

Distúrbios de memória e inflamação em pacientes com epilepsia são bastante frequentes na literatura. Um número expressivo de indivíduos que sofreram lesões adquiridas do tecido cerebral, como acidente vascular ou traumatismo, desenvolverá epilepsia após certo período de tempo. Nesses casos, admite-se que a lesão induz uma reorganização dos circuitos cerebrais que, com o tempo, transforma-se em um foco gerador de descargas epiléticas (SILVA; CABRAL, 2008).

A epileptogênese tem em comum a indução química ou elétrica de um sistema elétrico que perdura por várias horas. O desequilíbrio metabólico acompanhado da liberação maciça de substâncias excitatórias ocorre em função das crises prolongadas, resultando na lesão de estruturas cerebrais sensíveis, como, por exemplo, o hipocampo. Essa lesão é caracterizada pela morte celular. A fase

chamada latente é o período variável de recuperação, as redes neuronais tornam-se epileptogênicas, isto é, capazes de gerar crises (PITKÄNEN *et al.*, 2006).

Todo esse processo da epileptogênese pode estar diretamente ligado a déficits cognitivos como na memória. Em um estudo realizado com 100 pacientes com ELT refratária, ficou comprovado que 70% a 80% destes apresentavam comprometimentos mnésticos verbal ou visual. Os déficits de memória episódica, neste estudo (sistema que permite o resgate de eventos com rótulo temporal), foram os mais evidentes (HELMSTAEDTER *et al.*, 2003). Para Blume (2003), a presença de prejuízos da memória é comum nos indivíduos com ELT, principalmente quando a zona epiléptica se encontra em ambos os lados temporais ou quando se localiza no lobo temporal para a linguagem.

## 2.17 EPILEPSIA E FUNÇÕES NEUROCOGNITIVAS

Nas áreas científicas, clínica e aplicada, a neuropsicologia estuda a organização cerebral dos processos cognitivos-comportamentais e de suas alterações na presença de lesão ou disfunção cerebral (ARDILA; ROSSELI, 2007). Na área científica, tem como principal objetivo a análise e a investigação da organização cerebral, além da inclusão de pesquisas com o objetivo de aprimoramento das técnicas de avaliação neuropsicológica. Na área clínica, sua função é avaliar e diagnosticar indivíduos com danos cerebrais, levando em consideração a relação do comportamento, dos pensamentos humanos das emoções com o cérebro. (BARBIZET; DUIZABO, 1985; GIL, 2002; HEBBEN; MILBERG, 2002).

Na área aplicada, trabalha com reabilitação em casos de patologias do sistema nervoso. As áreas clínica e aplicada incluem os processos de avaliação e reabilitação neuropsicológica (LABOS *et al.*, 2008). A aplicação de testes específicos para mensuração dos resultados e análise qualitativa do desempenho do paciente, a fim de relacionar os prejuízos observados no funcionamento cognitivo com possíveis disfunções cerebrais, é conhecida como avaliação neuropsicológica (LEZAK, 2005). Sua função é o diagnóstico, tratamento e prognóstico das síndromes epiléticas, visto que pacientes com epilepsia, frequentemente, apresentam queixas cognitivas (HOMMET *et al.*, 2006).

De acordo com Dodson (1991), pacientes com epilepsia apresentam um risco três vezes maior de apresentar prejuízos cognitivos quando comparados a indivíduos

sem problemas neurológicos. Algumas das queixas cognitivas comumente relatadas por pessoas com epilepsia estão descritas no Quadro 3.

Quadro 3 - Prejuízos cognitivos frequentemente relatados por pessoas com epilepsia

<b>PREJUÍZOS COGNITIVOS</b>
Esquecimento do caminho em lugares conhecidos
Dificuldades na realização de cálculos mentais
Esquecimento do nome de pessoas próximas
Dificuldades para fixar um número de telefone
Dificuldade em prestar atenção em um discurso ou noticiário
Dificuldade para compreender algo que escutou ou leu
Dificuldade para aprender algo novo
Pensamento lentificado
Dificuldade no seguimento de instruções
Esquecer aniversários, compromissos e datas

Fonte: Adaptado de Baker, Taylor e Hermann (2009).

## 2.18 ORIENTAÇÃO TÊMPORO-ESPACIAL

Geralmente as avaliações neuropsicológicas se iniciam com tarefas de orientação têmporo-espacial operacionalizadas por perguntas que verificam se o paciente tem noção da data e do dia em que se encontra. Isso porque sua perda pode indicar um prejuízo cognitivo genérico e complexo. Em lesões focais, a perda de orientação têmporo-espacial pode estar associada a um distúrbio visuo-espacial, mas também a um estado semicomatoso (coma), que ocasiona um quadro confusional. Nos quadros degenerativos, essa perda está associada a um declínio cognitivo geral ou com predominância em uma função, tal como a memória (FONSECA *et al.*, 2009).

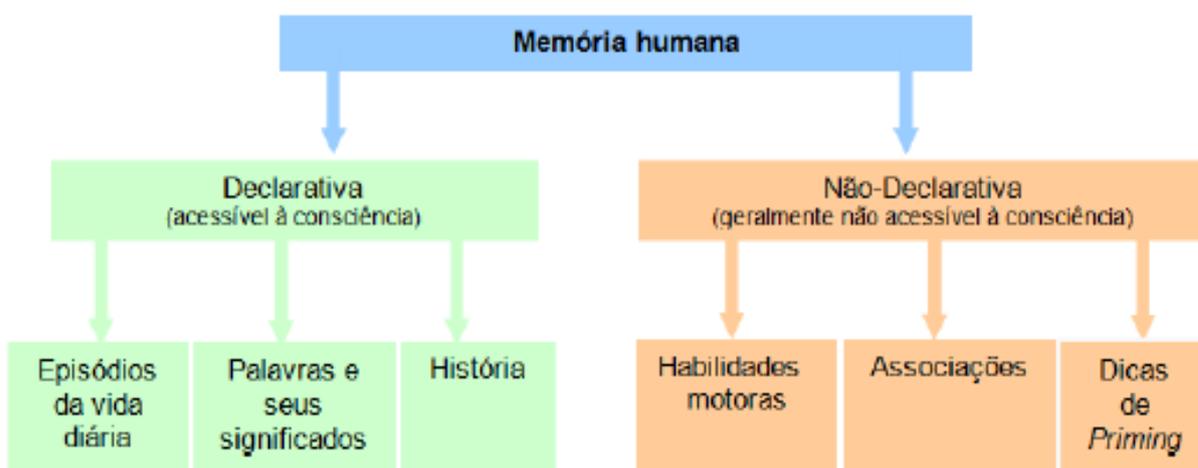
Mesmo sem ser um distúrbio que ocorre isoladamente, é um bom índice de quadro demencial. Pode ser também uma prova que contribui para dissociar quadros focais, tal como o derrame, daqueles degenerativos e a demência, do tipo Alzheimer. Por exemplo, um paciente com dificuldades em reconhecer caminhos, mas sem nenhuma dificuldade em saber onde vive, provavelmente tem um distúrbio específico mais frequente em lesões focais. Já quando ambas as dificuldades são simultâneas, é importante realizar uma avaliação neuropsicológica mais detalhada e demorada, acompanhada por exames neurológicos para descartar ou comprovar um quadro degenerativo (FONSECA *et al.*, 2009). Assim, a orientação têmporo-espacial não constitui um sistema neural simples e independente dos demais, mas requer recursos atencionais visuais, de raciocínio e memória (FONSECA *et al.*, 2009).

## 2.19 MEMÓRIA

Funções cognitivas importantes como a memória estão relacionadas ao lobo temporal. A memória pode ser definida como a aquisição, a formação, conservação e a evocação de informações (IZQUIERDO, 2011).

É possível considerar, nos seres humanos, dois sistemas qualitativamente diferentes de armazenamento da informação, que são normalmente designados como memória declarativa ou explícita e não-declarativa ou implícita, conforme esquematizado na Figura 10 (PURVES, 2005).

Figura 10 - Principais categorias qualitativas da memória humana



Fonte: Adaptada de Purves (2005).

A memória declarativa refere-se ao armazenamento do material que está disponível à consciência, podendo ser verbalizado (expresso mediante a linguagem), enquanto que a memória não-declarativa se refere àquela memória não disponível à percepção consciente, pelo menos não de forma detalhada, estando associada a comportamentos, hábitos e habilidades (KANDEL *et al.*, 2000).

A memória declarativa ou explícita (ou ainda consciente) é a memória para eventos, fatos e/ou músicas, todos os vários fragmentos do conhecimento que se adquire durante uma vida de experiência e aprendizado (BUENO; OLIVEIRA, 2004). Estes são fáceis de formar e de esquecer, sendo o “registro explícito” de uma experiência prévia individual (GIL, 2002). Aquelas relacionadas a eventos dos quais

se participa ou a que se assiste são denominadas episódicas, enquanto que as de conhecimentos gerais são denominadas semânticas (IZQUIERDO, 2002).

A memória não-declarativa ou implícita é o tipo de memória evidenciável apenas através do desempenho em tarefas diárias e apresenta acesso não-consciente ao seu conteúdo. Está associada aos comportamentos, hábitos e habilidades (KANDEL *et al.*, 2000).

A melhora da capacidade de detectar ou identificar palavras ou objetos pouco depois de ter contato com eles chama-se de ativação (*priming*). As dicas de *priming* estão incluídas, ainda, nesse tipo de memória. Pesquisas mostraram que ativação é um fenômeno de memória distinto e inconsciente, cuja função é aprimorar a percepção de estímulos recentes, sem que se tenha, necessariamente, consciência da melhora da velocidade ou eficácia da percepção (SQUIRE; KANDEL, 2006).

Embora ainda seja bastante debatido por neuropsicólogos e neurobiólogos, a memória declarativa ou memória explícita pode ser subdividida de acordo com o tempo de armazenamento das informações em memória imediata, memória de curto prazo e memória de longo prazo. No *priming*, assim como na memória de procedimentos, não se distingue uma memória de curto prazo (IZQUIERDO, 2002).

Pode-se falar de memórias declarativas de acordo com suas subdivisões em:

- a) memória imediata (registro sensorial): consiste na capacidade de manter na consciência uma informação ou experiências em andamento, durante poucos segundos (LUNDY-EKMAN, 2004);
- b) memória de curto prazo: é a capacidade de reter uma informação por segundos, minutos ou poucas horas, ou seja, refere-se ao sistema de memória com capacidade de poucos itens e que decai rapidamente com o tempo (BUENO; OLIVEIRA, 2004);
- c) memória de longo prazo: permite a conservação durável das informações, podendo durar horas, meses, décadas ou pela vida inteira, possibilitando o aprendizado e a consolidação das informações (MAGILA, 2004). Em relação à epilepsia, está reconhecido na literatura que distúrbios da memória se relacionam às alterações anatômicas ou funcionais de regiões do cérebro associadas à memória ou, então, são decorrentes de distúrbios da ansiedade, depressão e atenção (MAGILA, 2004).

## 2.20 ATENÇÃO

Entre todas as funções, a atenção constitui aspecto central na avaliação neuropsicológica, dado que ela influencia de maneira determinante todos os outros domínios cognitivos, inclusive a função executiva (MESULAM, 2000).

Os componentes mais aceitos para definir a atenção são: a atenção dividida, a atenção alternada, a atenção sustentada e a atenção seletiva (STRAUSS *et al.*, 2006). A atenção pode ser dividida para o desempenho de duas atividades. Também pode ocorrer a alternância do foco atencional, ou seja, desengajar o foco do estímulo para engajar em outro e assim sucessivamente. A atenção sustentada é referida como a capacidade de manter o foco atencional em determinado estímulo ou sequência de estímulos durante o período de tempo necessário para o desempenho de atividades. Na atenção seletiva, determinados estímulos são privilegiados em detrimento de outros estímulos que são distratores na execução da tarefa (LEZAK *et al.*, 2004; LIMA, 2005).

Os diferentes componentes são importantes para a função executiva, visto que organizam e selecionam a percepção para a ação em situações que estão fora de rotina, além de conduzirem comportamentos complexos, não automáticos e direcionados a uma meta (MESULAM, 1981, 1990).

As funções descritas acima são consideradas cognitivas, pois estão envolvidas na percepção da informação, processamento e expressão da ação, diferindo das funções executivas que são funções de níveis superior responsáveis para o controle metacognitivo e direção da experiência mental (LEZAK *et al.*, 2004).

## 2.21 PERCEPÇÃO

Percepção é a capacidade de associar as informações captadas pelo sistema sensorial à memória e à cognição a fim de construir uma representação interna do mundo externo e orientar o comportamento (LENT, 2004). A avaliação das funções perceptivas engloba atividades de discriminação, capacidade de síntese visual, reconhecimento, reprodução de figura e orientação. A primeira atividade envolve a discriminação entre estímulos simples, como formas geométricas, ângulos, cores, faces ou objetos familiares.

A capacidade de síntese visual é avaliada através da apresentação de objetos familiares fragmentados. O reconhecimento de estímulos visuais familiares é avaliado por atividades que requerem a nomeação de objetos reais ou identificação de objetos em forma distorcida ou oculta (HOWIESON; LEZAK, 1992). O córtex humano possui três sistemas perceptuais bem desenvolvidos: o visual, o auditivo-visual e o somestésico. Um sistema muito importante para o homem é o de reconhecimento de faces, isso porque, sendo o homem um animal essencialmente social, reconhecer a face de seu interlocutor é o primeiro passo para a comunicação, ou, no caso de uma face que identifica um estranho ou um inimigo, a não comunicação e a fuga (FONSECA *et al.*, 2009).

## 2.22 LINGUAGEM

A linguagem, seja ela verbal, escrita ou gestual como função cortical superior é uma forma de transmissão de informações entre interlocutores, que favorece a adaptação do indivíduo ao ambiente. Sua capacidade é de simbolizar pensamentos, sendo eles simples ou complexos, concretos ou abstratos (KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 1997; KIRSHNER, 2002; LENT, 2001; MARRONI; PORTUGUEZ, 2002).

O hemisfério cerebral esquerdo é dominante para a linguagem na maioria dos seres humanos, pois neles estão presentes áreas específicas para articulação e compreensão da linguagem, o giro frontal inferior (área da Broca) e o giro temporal superior (área de Wernicke) (KANDEL; SCHWARTZ; JESSEL, 1997).

Os aspectos da linguagem situados no hemisfério esquerdo envolvem mecanismos de compreensão auditiva, escrita e ainda um sistema léxico semântico. Já o hemisfério cerebral direito está envolvido na orientação para o contexto não linguístico e prosódia. Caracteriza-se pelo rápido reconhecimento de padrões visuais pela facilitação da leitura e auxílio na integração das frases durante o discurso (LENT, 2001). Distúrbios da linguagem, como as afasias, podem comprometer as capacidades de expressão, repetição, nomeação e compreensão da linguagem (HOWIESON; LEZAK, 1992).

No contexto das epilepsias, a esfera mais investigada na linguagem é a capacidade de nomeação. Distúrbios de linguagem em pacientes com epilepsia do lobo temporal são muito frequentes e as crises têm origem no hemisfério dominante para a linguagem (HARLEY, 2008; SPRINGER; DEUTSCH, 1993)

Segundo estudo de Oyegbile *et al.* (2004), prejuízos da linguagem, especificamente a capacidade de nomeação, são mais comumente observados em pacientes com ELT à esquerda do que nos pacientes ELT à direita. No entanto, a associação da lateralização do foco epileptogênico com distúrbios da linguagem, mais especificamente a nomeação, ainda não está totalmente esclarecida.

De acordo com pesquisadores, pacientes com ELT à esquerda com linguagem dominante à esquerda apresentam piores escores em tarefas que envolvem capacidade de nomeação. Entretanto, existem estudos que apontam para uma indiferenciação da capacidade de nomeação em função da lateralização da zona epileptogênica (MAYEUX *et al.*, 1980; RASPALL *et al.*, 2005; SCHEFT *et al.*, 2003).

## 2.23 FUNÇÕES EXECUTIVAS

O conceito de funções executivas (FE) é amplo e com muitas definições na literatura. Dois aspectos centrais e não excludentes são comumente encontrados e enfatizados. Um deles refere-se à definição das FE envolvendo o controle de um conjunto de funções cognitivas superiores. O segundo aspecto traz a idéia de controle da execução de tarefas durante certo período para alcançar objetivos futuros (ROYALL *et al.*, 2002).

Quando se tem um objetivo, seja ele simples ou complexo, são planejadas ações e esse plano de ação envolve uma linha de tempo que é representada por uma hierarquia de sub-objetivos os quais requerem cada um diferentes ações. Conforme Gazzaniga *et al.* (2008), são essenciais para um plano de ação de três componentes:

- a) identificar o objetivo e desenvolver subobjetivos sensatos;
- b) analisar as consequências ao se optar por uma ou outra ação;
- c) determinar o que é necessário para atingir os subobjetivos.

Pacientes com disfunções executivas geralmente convivem com falhas no comportamento voltado a um objetivo. Em resumo, atingir uma meta requer flexibilidade e coerência na tomada de decisão e monitoramento constante dos subobjetivos (GAZZANIGA *et al.*, 2008).

Indivíduos com lesões ou disfunções do lobo frontal podem ter comprometimento da habilidade de planejar uma sequência coerente de ações que visa consequências futuras e no controle de impulsos espontâneos que permita atingir objetivos (CAPILLA *et al.*, 2004).

## 2.24 PRAXIAS

Praxias são as habilidades dirigidas à execução gestual. Diferentes movimentos compõem um gesto, de forma que a práxis se refere a um processo de execução de um ou uma série de movimentos. As dificuldades gestuais são denominadas apraxias. Os pacientes com apraxia podem não apresentar dificuldades motoras, mas, ao realizar uma ação, como pegar uma xícara de chá ou se vestir, podem ter muita dificuldade (FONSECA *et al.*, 2009).

Lesões do sistema nervoso central, dependendo da área acometida, podem acarretar alterações motoras, sensitivas e alterações práxicas, entre outras. A interferência, em qualquer uma das etapas para a realização dos movimentos, pode levar a vários tipos de apraxia, o que poderá ter déficits desde a iniciativa para o ato motor até o planejamento e execução do mesmo (FONTANARI, 1989; PLATZ; MAURITZ, 1995; VAN HEUGTEN *et al.*, 1998). Segundo as características, as apraxias podem ser classificadas em vários tipos, conforme descritas no Quadro 4.

Quadro 4 - Tipos de apraxias frequentemente encontradas

<p><b>Dinâmica</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• realização de três gestos</li> <li>• bater na mesa com a palma e com o dorso da mão</li> </ul> <p><b>Ideomotora</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• cumprimento militar</li> <li>• dar adeus</li> </ul> <p><b>Ideatória</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• simular escovar os dentes</li> <li>• simular acender a vela</li> </ul> <p><b>Construtiva</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• desenho espontâneo</li> <li>• desenho com molde</li> </ul>	<p><b>Mielocinética</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• imitar pregar um prego</li> <li>• imitar cortar um papel</li> </ul> <p><b>Da marcha</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• marcha</li> <li>• subir escadas</li> </ul> <p><b>De vestir</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• reconhecimento do próprio corpo com ordem simples</li> <li>• teste das luvas e dos anéis</li> </ul> <p><b>Agnóstica</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• reconhecimento de objetos familiares</li> <li>• reconhecimento de objetos pelo seu formato</li> </ul>
--	--

Fonte: Adaptado de Vaz, Fontes e Fukujima (1999).

## 2.25 EPILEPSIA E DISLIPIDEMIA

As crises epilépticas são decorrentes da descarga excessiva e sincronizada da rede neural. Sua forma de surgimento pode ser espontaneamente ou desencadeadas por situações como: alterações vasculares, distúrbio eletrolítico, entre outras (SCORZA *et al.*, 2006).

As manifestações clínicas dependem das regiões envolvidas, podendo o paciente apresentar crises motoras generalizadas até um simples sinal motor focal (SCORZA *et al.*, 2006; BLUME *et al.*, 2001). Para Wasterlain e Treinam (1989), as crises podem ser observadas em muitas doenças que, direta ou indiretamente, envolvem o sistema nervoso, incluindo as desordens do metabolismo, carboidratos, aminoácidos, lipídios, desequilíbrios iônicos e eletrolíticos, intoxicações, tumores ou traumas encefálicos ou ainda da elevação da temperatura corporal. Estudos sugerem que pacientes em tratamento com determinadas drogas antiepilépticas apresentam um risco maior de desenvolver dislipidemia (MANTEL-TEEUWISSE *et al.*, 2001). Nesse sentido, as dislipidemias são classificadas de acordo com os dados laboratoriais (níveis séricos de colesterol e triglicerídeos) e conforme a etiologia.

Na classificação laboratorial, pode-se classificar a dislipidemia como: hipercolesterolemia isolada, ou seja, o colesterol total (CT) acima de 240 mg/dL e/ou do LDL para níveis maiores que 160 mg/dL; hipertrigliceridemia isolada - aumento dos níveis de triglicerídeos (TG) acima de 200 mg/dL; hiperlipidemia mista - aumento dos níveis de CT associado ao aumento dos níveis de TG, à diminuição isolada do colesterol HDL abaixo de 40 mg/dL, ou, por fim, à associação desses fatores. A classificação etiológica subdivide-se em dislipidemias primárias, que têm origem genética, e as secundárias, que podem ser causadas por outras doenças ou utilização de medicamentos (XAVIER *et al.*, 2013).

Níveis elevados de triglicerídeos e colesterol, por exemplo, podem ser responsáveis pela disfunção endotelial, a qual aumenta a permeabilidade da camada íntima à lipoproteínas plasmáticas, favorecendo a retenção das mesmas no espaço subendotelial. Essa retenção induz a oxidação das partículas de LDL, formando o LDL oxidado (LDL<sub>ox</sub>), o qual é nocivo ao endotélio e colabora para a produção de espécies reativas (SKILTON *et al.*, 2007).

Os macrófagos são células endoteliais ou células musculares lisas responsáveis pelas espécies reativas de nitrogênio e oxigênio. Sua responsabilidade é a oxidação do colesterol LDL, formando o LDL<sub>ox</sub> (ALBERTINI; MORATTI; DE LUCA, 2002; GAUTIER; JAKUBZICK; RANDOLPH, 2009). O LDL<sub>ox</sub> provoca a expressão de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial e essas são responsáveis pela atração de monócitos e linfócitos para a parede arterial (LEVITAN; VOLKOV; SUBBAIAH, 2010). O espaço subendotelial é ocupado pela migração dos monócitos, onde se diferenciam em macrófagos, que por sua vez captam o LDL<sub>ox</sub> através de

receptores específicos, ativando os linfócitos T e promovendo a secreção de citocinas pró-inflamatórias que causam uma maior ativação de macrófagos, ativação vascular e inflamação, estimulam a proliferação das células musculares lisas e a síntese de colágeno, as quais se agregam às células espumosas, completando a formação da placa aterosclerótica (BERG *et al.*, 2009; CHARAKIDA *et al.*, 2009).

## 2.26 MEMÓRIA E DISLIPIDEMIA

Doenças cardiovasculares ou seus fatores de risco podem predispor a doenças cerebrovasculares e, conseqüentemente, declínio cognitivo por compartilharem a mesma fisiopatologia. Isso se deve ao fato de que o cérebro é um dos principais órgãos afetados devido a sua extrema dependência do sistema cardiovascular, tanto pela necessidade de eliminação do calor e eliminação de seus produtos metabólicos, da mesma maneira que pelo suprimento de energia constante, necessária para seu bom funcionamento (COHEN; GUNSTAD, 2010).

A base do desenvolvimento de demências, segundo alguns estudos epidemiológicos, evidenciam os fatores vasculares como um risco em função de reduzir a perfusão cerebral e, assim, comprometer a eliminação dos produtos metabólicos e o suprimento de oxigênio e glicose. Conseqüentemente, as demências, entre elas, a doença de Alzheimer, podem estar associadas à hemodinâmica microvascular do cérebro (DE LA TORRE, 2002). Em seu estudo, Harrison *et al.* (2014) encontraram associação entre os modelos de risco cardiovasculares e medidas globais cognitivas de memória, funções executivas, raciocínio, linguagem, velocidade de processamento da informação e habilidade viso construtora, sugerindo que qualquer redução dos fatores de risco vasculares pode diminuir o risco de declínio cognitivo ou demência na terceira idade. No estudo de Dregan, Stewart e Gulliford (2012), esses autores associaram os fatores de risco cardiovascular com uma piora das funções cognitivas, entre elas, a memória. Em outro estudo realizado por Dregan *et al.* (2013), os autores associaram o risco cardiovascular e o declínio cognitivo em adultos acima de 50 anos.

Em seus estudos, Crichton *et al.* (2014) e Reis *et al.* (2013) demonstraram associação entre os componentes ideais de saúde cardiovascular e desempenho nos testes neuropsicológicos. Quanto mais indicadores de saúde cardiovascular eram atingidos, melhores os resultados das avaliações da cognição. Assim sendo, a

combinação entre fatores de risco cardiovascular, estilo de vida e fatores genéticos podem ser preditores de risco de demência, independente do modelo de risco cardiovascular utilizado (ROSSETTI *et al.*, 2015).

## 2.27 DEPRESSÃO E EPILEPSIA

Segundo o Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais (DSM-V), vários transtornos estão incluídos na categoria dos transtornos depressivos (TD), cujos sintomas em comum são humor triste e irritável, acompanhado de alterações somáticas e cognitivas (APA, 2015).

Cerca de 50 milhões de pessoas no mundo são afetadas pelos transtornos depressivos. Em doze meses, nos Estados Unidos, a prevalência de TD é de aproximadamente 7%, com diferenças nas faixas etárias, sendo 3 vezes mais frequente nas mulheres (APA, 2015).

Dentre os transtornos depressivos, o transtorno depressivo maior (TDM) é o mais representativo, seus sintomas incluem humor deprimido, alteração do sono e apetite, acentuada diminuição do interesse, sentimentos de inutilidade, pensamentos recorrentes de morte, agitação ou retardo psicomotor e capacidade cognitiva diminuída (APA, 2015). O transtorno depressivo (TD), de acordo com o ponto de vista psicológico, tem relação com perdas (pessoa, emprego, etc.) (DALGALARRONDO, 2000).

Os transtornos neurocognitivos (TNCs), também incluídos no DSM-V, manifestam sua principal característica: a relação do déficit primário com a função cognitiva. Doenças como Parkinson e Alzheimer são exemplos de doença que levam aos TNC (APA, 2014).

Dentro dos transtornos psiquiátricos, os transtornos de humor são os mais comuns nos pacientes com epilepsia (GAITATZIS *et al.*, 2004), com prevalência de 17,4%, em comparação a 10,7% da população em geral (TELLES-ZENTENO *et al.*, 2007). Epilepsia e depressão têm alta associação, maior que em outras doenças crônicas; além disso, tem pior resposta farmacológica às drogas antiepilépticas, pior prognóstico ao tratamento cirúrgico assim como mais efeitos colaterais, existindo ainda uma associação do aumento do risco de suicídio - em comparação com os indivíduos com epilepsia sem depressão (CRAMER *et al.*, 2004).

Um estudo populacional descreveu que existe 3,7 vezes mais história de depressão entre pacientes com epilepsia precedendo a primeira crise epiléptica (CE), o que leva a crer que existe um mecanismo fisiopatológico comum entre epilepsia e depressão, de forma que uma doença potencializaria o desenvolvimento da outra (KANNER, 2003).

Embora evidências crescentes sugerem que variações genéticas ou polimorfismos na MnSOD podem afetar significativamente as respostas individuais em várias patologias, até o momento, poucos estudos sobre esse polimorfismo foram realizados na epilepsia (BRESCIANI *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2008; JONES *et al.*, 2010). Devido às evidências que envolvem o polimorfismo MnSOD em diferentes tipos de doenças, seria de grande importância investigar se o polimorfismo Ala16ValMnSOD está relacionado à epilepsia e às alterações neuropsiquiátricas.

### 3 ARTIGOS CIENTÍFICOS

O artigo 1, intitulado “*Depressive, inflammatory, and metabolic factors associated with cognitive impairment with epilepsy*” foi publicado na revista *Epilepsy & Behavior* e encontra-se ajustado de acordo com as normas da revista.

O artigo 2, intitulado “*MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with oxidative and inflammatory markers*” foi publicado na revista *Life Sciences* e encontra-se formatado de acordo com as normas da MDT.

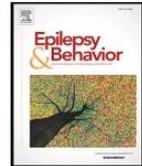
## 3.1 ARTIGO 1

Epilepsy &amp; Behavior 86 (2018) 49–57



Contents lists available at ScienceDirect

Epilepsy &amp; Behavior

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/yebeh](http://www.elsevier.com/locate/yebeh)

## Depressive, inflammatory, and metabolic factors associated with cognitive impairment in patients with epilepsy☆



Josi Arend<sup>a,d</sup>, Aline Kegler<sup>a,b</sup>, Ana Letícia Fornari Caprara<sup>a</sup>, Camila Almeida<sup>a</sup>, Patricia Gabbi<sup>a,d</sup>, Eduardo T. Pascotini<sup>a,b</sup>, Lori Ane Vargas de Freitas<sup>a</sup>, Cinara Miraglia<sup>a</sup>, Taíse Leitemperger Bertazzo<sup>a</sup>, Raphael Palma<sup>a</sup>, Patrícia Arceno<sup>a</sup>, Marta M.M.F. Duarte<sup>d</sup>, Ana Flavia Furian<sup>d</sup>, Mauro Schneider Oliveira<sup>d</sup>, Luiz Fernando Freire Royes<sup>b,c,d</sup>, Gary W. Mathern<sup>e</sup>, Michele Rechia Figuera<sup>a,b,c,d,\*</sup>

<sup>a</sup> Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Neuropsiquiatria, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

<sup>b</sup> Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

<sup>c</sup> Centro de Educação Física e Desportos, Departamento de Métodos e Técnicas Desportivas, Laboratório de Bioquímica do Exercício (BIOEX), Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

<sup>d</sup> Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

<sup>e</sup> UCLA, School of Medicine, Los Angeles, CA, United States

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 4 March 2018

Revised 5 July 2018

Accepted 5 July 2018

Available online xxxx

#### Keywords:

Caspase

DNA damage

Epilepsy

Inflammation

Neuropsychological profile

Glucose

Lipids

Depression

### ABSTRACT

**Purpose:** The purpose of this study was to examine the cognitive function and depressive traits most frequently associated with the clinical assessment of patients with epilepsy and if these clinical parameters are linked to glycolipid levels and inflammatory and apoptotic markers.

**Methods:** Patients with epilepsy ( $n = 32$ ) and healthy subjects ( $n = 41$ ) were recruited to participate in this study. Neuropsychological evaluation was performed in both groups through a battery of cognitive tests. Inflammatory markers, apoptotic factors, and deoxyribonucleic acid (DNA) damage were measured in blood samples. Additionally, the metabolic markers total cholesterol (CHO), low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL), triglyceride (TG), and glucose (GLU) levels were analyzed.

**Results:** Statistical analyses showed that patients with epilepsy presented decreased scores in memory, attention, language, and executive function tests compared with the control group. Analysis revealed that there was negative correlation in epilepsy for seizure duration vs. oral language ( $R = -0.4484$ ,  $p < 0.05$ ) and seizure duration vs. problem solving (executive functions) ( $R = -0.3995$ ,  $p < 0.05$ ). This was also observed when comparing depression with temporal-spatial orientation (TSO) ( $R = -0.39$ ,  $p < 0.05$ ). Furthermore, we observed a higher depression score in patients with epilepsy than in the healthy ones. Statistical analyses showed higher acetylcholinesterase (AChE) ( $p < 0.05$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ,  $p < 0.001$ ), and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) ( $p < 0.001$ ) levels compared with those in the control group. Moreover, patients with epilepsy had significantly higher serum levels of caspase 3 (CASP 3) ( $p < 0.001$ ) and Picogreen ( $p < 0.001$ ) compared with the control subjects. Regarding the metabolic markers, higher glycolipid levels were observed in the patients with epilepsy (CHO  $< 0.05^*$ , LDL  $< 0.0001^*$ , TG  $< 0.05^*$ , GLU  $p < 0.05$ ). High-density lipoprotein levels were not significant. The patients with epilepsy had significant correlation when comparing total language with TNF- $\alpha$  ( $R = -0.4$ ,  $p < 0.05$ ), praxes with CASP 3 ( $R = -0.52$ ,  $p < 0.01$ ), total CHO with total language ( $R = -0.48$ ,  $p < 0.05$ ), TG with semantic memory ( $R = -0.54$ ,  $p < 0.05$ ), TG with prospective memory ( $R = -0.2165$ ,  $p < 0.02$ ), TG with total memory ( $R = -0.53$ ,  $p < 0.02$ ), and GLU with total attention ( $R = -0.62$ ,  $p < 0.002$ ).

**Conclusion:** This study supports the evidence of a distinct neuropsychological profile between patients with epilepsy and healthy subjects. Furthermore, our findings suggest that inflammatory pathway, glycolipid profile, and depressive factors may be associated with cognitive dysfunction in patients with epilepsy.

© 2018 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

Epilepsy is a clinical condition that involves recurrent epileptic seizures. Epileptic seizures cause episodic behavioral or perceptual disturbances because of excessive periodic and hypersynchronous electrical activity of neurons located predominantly in the cerebral cortex.

☆ Work supported by CNPq, CAPES, PROIC HUSM, and FAPERGS.

\* Corresponding author at: Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Neuropsiquiatria, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil.

E-mail address: [mrfiguera@yahoo.com.br](mailto:mrfiguera@yahoo.com.br) (M.R. Figuera).

These episodes can also occur because of the absence of toxic-metabolic conditions or fever [1]. The understanding of epilepsy involves the study of the possible cognitive functions affected and associated factors. Nevertheless, many studies have reported cognitive alterations despite still differing in several points [2].

A continuous epileptogenic process can irreversibly damage the brain, causing persistent cognitive changes and global intellectual deficits [3]. Memory, attention, and language deficits are some of the most reported cognitive complaints in adult patients with epilepsy [4], while depression is the most frequent psychiatric comorbidity [5]. In addition to cognitive and psychiatric deficiencies, evidence suggests the involvement of the inflammatory pathway in the pathophysiology of epilepsies [6,7]. Cytokines, such as tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), are produced during epileptic activity [7], thus contributing to neuronal death and apoptosis [8]. In addition to inflammation, metabolic markers also appear to be involved in cognitive impairment in epilepsies. Several inflammatory and metabolic parameters have shown to be associated with cognitive impairment and dementia in the general population [9]. In fact, studies have shown that changes in lifestyle and statin therapy reduce the atherosclerotic process and, consequently, vascular risk in patients with epilepsy [10–12]. Unfortunately, the association of these factors is rarely examined in relation to cognition in epilepsy and is generally viewed as potentially modifiable risk factors for cognitive impairment and dementia. Therefore, our objectives were to (1) evaluate the neurocognitive profile of patients with epilepsy compared with healthy subjects and its relation to depression scores, (2) investigate the neuropsychological status in patients with epilepsy and its association to inflammatory and apoptosis markers as well as glycolipid levels that have been related to abnormal cognitive function in the general population, and (3) correlate these markers with cognitive status in the participants with epilepsy.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study population

Seventy-three subjects were selected and divided into two groups: the group with epilepsy ( $n = 32$ ) and the control group ( $n = 41$ ). All patients and controls were evaluated using a questionnaire to determine clinical history. We prospectively recruited 32 patients diagnosed as having epilepsy from June 2013 to July 2015 at our institution. Forty-one healthy, sex-matched volunteers were included as healthy controls. Neurologists with experience in epilepsy revised the diagnostic criteria. Afterwards, the patients and healthy subjects received a protocol number as well as neuropsychological evaluation through a battery of cognitive tests. Blood samples were identified with the protocol number of each individual. Inflammatory markers, apoptotic factors, deoxyribonucleic acid (DNA) damage, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , acetylcholinesterase (AChE) activity, caspase 3 (CASP 3), and Picogreen (PG) were measured in the blood samples. Furthermore, the metabolic markers total cholesterol (CHO), low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL), triglyceride (TG), and glucose (GLU) were also evaluated.

The local institutional review boards at the affiliated institutions of the authors approved the study protocol. Informed consent was obtained from all of the subjects and their legal surrogates. The work described was carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki).

### 2.2. Group with epilepsy

Among the 43 subjects with the disease, 32 (focal crises:  $n = 18$  and generalized crises:  $n = 14$ ) were selected through the following exclusion criteria: subjects under 12 years of age, history of autoimmune, liver, kidney, and inflammatory diseases, allergic response, immune deficiency disorders, diabetes, psychiatric illness, malignancy, severe cognitive impairment, or systemic or central nervous system (CNS)

infection 2 weeks prior to sample collection. Two experienced neurologists [13] diagnosed the epilepsy according to the 2010 International League Against Epilepsy (ILAE) Classification. All patients were evaluated for seizure frequency and duration using seizure diaries [14]. Seizure types were confirmed through interviews with patients and their relatives as well as electroencephalographic (EEG) analysis and tomography or magnetic resonance imaging (MRI). Data on seizure frequency and status of seizure control with medication were also obtained.

Twenty-nine of the 32 participants had normal background on routine EEG without generalized waves in both hemispheres after light stimulus. Three participants exhibited bursts of polyspikes and waves after sleep deprivation in the right temporal zone. All participants were treated with standard antiepileptic drugs (AEDs). Two participants took sodium valproate (VPA) monotherapy; six took carbamazepine (CBZ) monotherapy; two took phenytoin (PNT) monotherapy; and two took phenobarbital (PNB) monotherapy. Twenty took more than one AED. Seizures in thirty patients were well-controlled except for two patients who were diagnosed as having refractory epilepsy. All patients with epilepsy had normal neurological examinations except for one who presented tetraparesis secondary to spinal cord lesion. Thirty-one patients had normal 1.5 T MRI imaging; one patient had right and left hippocampal sclerosis.

The Standard Progressive Matrices sets A–E [15] were used to evaluate the intellectual capacity of the patients and the control group. Those who presented values below 25 were excluded from the study.

### 2.3. Control group

For comparison, 41 healthy subjects were recruited, with respect to the mean age and sex of the group with epilepsy.

### 2.4. Neuropsychological profile

In order to evaluate memory, executive functions, and attention, a neuropsychological evaluation was performed in the group with epilepsy and the control group through a battery of cognitive tests [16–19]. Additionally, the Hamilton Rating Scale [20] was used to evaluate the diagnosis of depression in both groups. Neuropsychological tests and the Hamilton Rating Scale were performed at least 7 days from the last seizure attack.

### 2.5. Laboratory analyses

Samples were collected at least 7 days from the last seizure attack. After 12 h of overnight fasting, blood samples were collected by venipuncture using purple, green, and red top Vacutainer® (BD Diagnostics, Plymouth, UK) tubes with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), heparin, or no anticoagulants, respectively. The specimens were routinely centrifuged within 1 h of collection for 15 min at 2500g. Aliquots of the serum samples and supernatant were saved and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  for subsequent laboratory analysis according to specific methods. Glucose levels were measured in plasma. Total CHO, LDL, HDL, and TGs were measured in serum. These samples were analyzed using standard enzymatic methods by Ortho-Clinical Diagnostics® reagents on the fully automated analyzer (Vitros 950® dry chemistry system; Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA).

### 2.6. AChE enzyme determination

The enzyme AChE concentration was measured in serum by standard enzymatic methods using Ortho-Clinical Diagnostics® reagents in an automated analyzer (Vitros 950® dry chemistry system; Johnson & Johnson, Rochester, NY).

**Table 1**  
Clinical characteristics of the group with epilepsy and the control group.

Characteristic	Epilepsy	Control
Sex (%)		
Male	15 (46.87%)	21 (51.21%)
Female	17 (53.13%)	20 (48.78%)
Mean age (years old)		
Male	31.4	20.17
Female	30.6	32.28
Mean duration of crisis (min)	6.2	0
AEDs use (%)		
None kind	0	41 (100%)
One kind	13 (40.62%)	0
≥ Two kinds	19 (59.38%)	0

AED = Antiepileptic drug. Data are expressed as percentage.

### 2.7. Cytokine determination

The concentrations of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  (eBIOSCIENCE, San Diego, USA) were measured in serum by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as instructed by the manufacturers. Data were expressed in pg/mL.

### 2.8. Caspase determination

Caspase 3 activity was determined in erythrocytes by Assay Kits, Fluorimetric (BioVision, Mountain View, CA). The fluorescence intensity (FI) of CASP 8 and CASP 3 were recorded at a wavelength of 400 nm for excitation and at a wavelength of 505 nm for emission. Caspase activity was calculated as FI/min/ml =  $\Delta FI / (t \times v)$  where  $\Delta FI$  = difference in FI between time zero and time t minutes, t = reaction time in min, and v = volume of sample in ml.

### 2.9. Picogreen analysis

Picogreen analysis was determined in plasma according to HÁ et al. [21].

### 2.10. Statistical analyses

Data were analyzed by unpaired *t*-test when appropriate and expressed as means and standard error of the mean (SEM). Statistical analyses were performed using the SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) software in a PC-compatible computer. Correlation analyses were carried out using Pearson's correlation coefficient. A value of *p* < 0.05 was considered significant.

## 3. Results

Seventy-three subjects were investigated in this study which consisted of 32 subjects with epilepsy and 41 controls. Baseline characteristics of the study population are described in Table 1.

### 3.1. Neuropsychological tests

#### 3.1.1. Memory tests

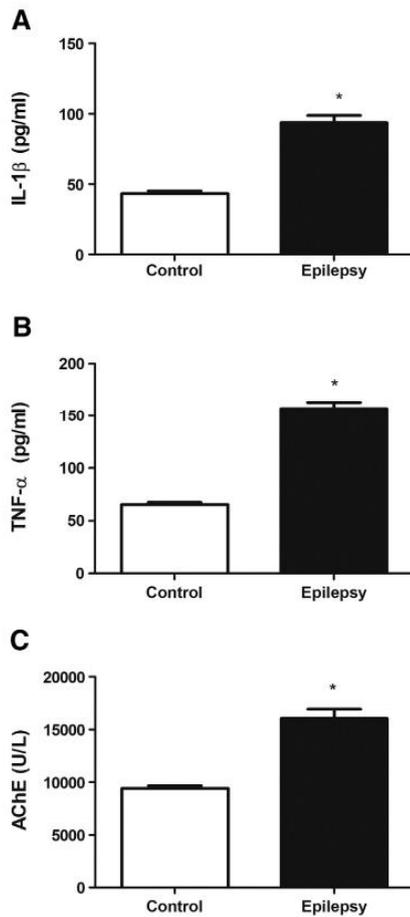
Statistical analysis revealed that patients with epilepsy presented decreased **working memory** ( $0.64 \pm 0.247$ ,  $t = 2.68$ ,  $p < 0.05$ ) vs. controls ( $1.31 \pm 0.109$ ), **verbal episodic memory** ( $-1.77 \pm 0.194$ ,  $t = 3.30$ ,  $p < 0.001$ ) vs. controls ( $0.030 \pm 0.455$ ), **long-term semantic memory** ( $-0.74 \pm 0.413$ ,  $t = 2.14$ ,  $p < 0.05$ ) vs. controls ( $0.101 \pm 0.128$ ), **short-term visual memory** ( $-0.37 \pm 0.242$ ,  $t = 2.80$ ,  $p < 0.05$ ) vs. controls ( $0.225 \pm 0.008$ ), **prospective memory** ( $-0.41 \pm 0.225$ ,  $t = 4.17$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. controls ( $0.454 \pm 0.054$ ), and **total memory** ( $-0.95 \pm 0.254$ ,  $t = 5.13$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. controls ( $0.447 \pm 0.137$ ) (Table 2).

**Table 2**  
Neuropsychological test, depression score, and metabolic parameters in the group with epilepsy and the control group.

Neuropsychological measure	Group with epilepsy	Control group	t-Value	p-Value
Memory tests				
Working memory	$0.6450 \pm 0.2472$	$1.3118 \pm 0.1088$	2.687	0.0090*
Verbal memory	$-1.772 \pm 0.1946$	$0.0292 \pm 0.4556$	3.309	0.0015*
Long-term semantic memory	$-0.7416 \pm 0.4137$	$0.1012 \pm 0.1281$	2.147	0.0352*
Short-term visual memory	$-0.3756 \pm 0.2427$	$0.2251 \pm 0.0081$	2.804	0.0065*
Prospective memory	$-0.4131 \pm 0.2250$	$0.4541 \pm 0.0544$	4.175	<0.0001*
Total memory	$-0.9544 \pm 0.2542$	$0.4473 \pm 0.1372$	5.138	<0.0001*
Temporal-spatial orientation	$1.723 \pm 0.5354$	$0.3968 \pm 0.1515$	2.640	0.0102*
Attention				
Inverse count	$-0.4425 \pm 0.3655$	$0.1824 \pm 0.005986$	1.939	0.0565
Digits repetition	$-0.05344 \pm 0.1840$	$0.8073 \pm 0.1115$	4.185	<0.0001*
Total attention	$-0.18 \pm 0.2$	$0.68 \pm 0.04$	4.48	<0.0001*
Perception	$-0.4378 \pm 0.2192$	$-0.2044 \pm 0.2502$	0.6801	0.4987
Language				
Oral language	$-0.7891 \pm 0.3058$	$0.4149 \pm 0.07876$	4.238	<0.0001*
Written language	$-0.6963 \pm 0.3474$	$0.1939 \pm 0.1347$	2.601	0.0113*
Total language	$-1.17 \pm 0.53$	$0.41 \pm 0.11$	3.4	<0.001*
Praxes	$2.056 \pm 1.979$	$1.060 \pm 0.09007$	0.5700	0.5705
Executive function				
Total verbal fluency	$-1.494 \pm 0.2650$	$-0.01512 \pm 0.1147$	5.532	<0.0001*
Problems resolution	$0.02031 \pm 0.1844$	$0.04000 \pm 0.1467$	0.2594	0.7961
Depression score				
Depression	$11.94 \pm 1.563$	$2.171 \pm 0.2899$	6.896	<0.0001*
Metabolic parameters				
Glucose	$93.76 \pm 2.8$	$84.85 \pm 1.41$	2.32	<0.05*
Triglycerides	$125.5 \pm 14.15$	$82.15 \pm 7.29$	2.43	<0.05*
Total cholesterol	$209.9 \pm 10.52$	$172.3 \pm 7.52$	2.36	<0.05*
LDL	$129.0 \pm 8.45$	$76.10 \pm 2.02$	6.7	<0.0001*
HDL	$54.11 \pm 3.10$	$51.45 \pm 2.28$	0.69	>0.05

Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of the mean (SEM). Significant values =  $p < 0.05$ .

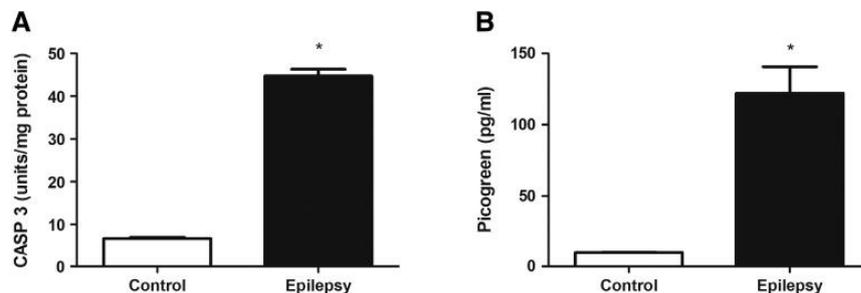
\* = significant values.



**Fig. 1.** IL-1 $\beta$  (A), TNF- $\alpha$  (B), and acetylcholinesterase (C) levels in the group with epilepsy and the control group. Increase serum IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and AChE in patients with epilepsy when compared with the control group. Data represent mean + SEM for  $n = 32$  (group with epilepsy);  $n = 41$  (control group). According to unpaired  $t$ -test, \* $p < 0.0001$  was considered significant.

### 3.1.2. Temporal-spatial orientation

Statistical analysis revealed that patients with epilepsy presented worse **temporal-spatial orientation** analysis ( $1.723 \pm 0.5354$ ,  $t = 2.640$ ,  $p < 0.05$ ) than the controls ( $0.3968 \pm 0.1515$ ). (Table 2).



**Fig. 2.** Caspase 3 (A) determination and Picogreen analysis (B) in the group with epilepsy and the control group. Increase of serum caspase 3 and Picogreen determination in patients with epilepsy when compared with the control group. Data represent mean + SEM for  $n = 32$  (group with epilepsy);  $n = 41$  (control group). According to unpaired  $t$ -test, \* $p < 0.001$  was considered significant.

### 3.1.3. Attention

Statistical analysis revealed that the group with epilepsy presented worse performance in the **digit repetition test** ( $-0.05344 \pm 0.184$ ,  $t = 4.185$ ,  $p < 0.0001$ ) and **total attention** ( $-0.16 \pm 0.2$ ,  $t = 4.085$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. the control group.

### 3.1.4. Perception

The **perception test** did not show any statistical difference between the group with epilepsy ( $-0.4378 \pm 0.2192$ ,  $t = 0.6801$ ,  $p > 0.05$ ) vs. the control group ( $-0.2044 \pm 0.2502$ ).

### 3.1.5. Language

Statistical analysis showed that the group with epilepsy was worse in the **oral language** ( $-0.7891 \pm 0.3058$ ,  $t = 4.238$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. the control group ( $0.4149 \pm 0.07876$ ) and **written language** ( $-0.6963 \pm 0.3474$ ,  $t = 2.601$ ,  $p < 0.05$ ) vs. the control group ( $0.1939 \pm 0.1347$ ). The group with epilepsy was worse in the **total language** ( $-1.17 \pm 0.53$ ,  $t = 3.4$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. the control group ( $0.41 \pm 0.11$ ).

### 3.1.6. Praxes

There was no statistical difference in the **praxes test** when comparing the group with epilepsy ( $2.056 \pm 1.979$ ,  $t = 0.5700$ ,  $p > 0.05$ ) with the control group ( $1.060 \pm 0.09007$ ).

### 3.1.7. Executive function

There was no statistical difference in **problem solving** when comparing the group with epilepsy ( $0.02031 \pm 0.1844$ ,  $t = 0.2594$ ,  $p > 0.05$ ) with the control group ( $-0.04000 \pm 0.1467$ ). Statistical analysis revealed that the group with epilepsy was worse in **total verbal fluency** ( $-1.494 \pm 0.2650$ ,  $t = 5.532$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. the control group ( $-0.01512 \pm 0.1147$ ).

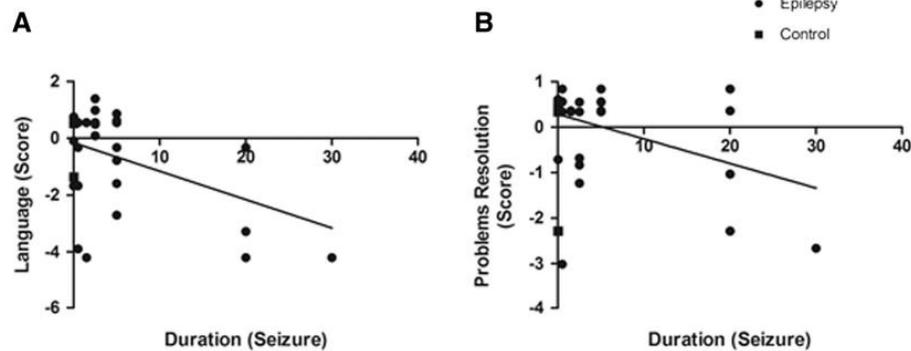
### 3.1.8. Depression score

Statistical analysis demonstrated that the patients with epilepsy presented higher **depression scores** ( $11.94 \pm 1.563$ ,  $t = 6.89$ ,  $p < 0.0001$ ) when compared with the controls ( $2.171 \pm 0.2899$ ).

## 3.2. Biochemistry analyses

### 3.2.1. Metabolism markers

The group with epilepsy presented increased levels of **CHO** ( $209 \pm 10.5$ ,  $t = 2.36$ ,  $p < 0.05$ ) vs. control ( $172 \pm 7.52$  mg/dL), **LDL** ( $129 \pm 8.45$ ,  $t = 6.7$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. the control group ( $76 \pm 2.02$  mg/dL), **TGs** ( $125.5 \pm 14.1$ ,  $t = 2.43$ ,  $p < 0.05$ ) vs. the control group ( $82.1 \pm 7.29$  mg/dL), and **GLU** ( $93.76 \pm 2.87$ ,  $t = 2.32$ ,  $p < 0.05$ ) vs. the control group ( $84.85 \pm 1.41$  mg/dL) (Table 2). We did not find significant results in **HDL** when comparing the group with epilepsy with the control group (data not shown).



**Fig. 3.** The correlation analysis of seizure duration with arithmetic abilities: oral language (A) and problem resolution (B) in the control group and the group with epilepsy. There was a positive correlation when analyzing seizure duration vs. arithmetic abilities: oral language (A) and seizure duration vs. problem resolution (B) in the patients with epilepsy as compared with the control group (Pearson's correlation coefficient). According to Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$  was considered significant.

### 3.2.2. Inflammatory markers

Patients with epilepsy had increased levels of IL-1 $\beta$  ( $93.64 \text{ pg/mL} \pm 5.21$ ,  $t = 9.19$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. control ( $43.15 \pm 1.96$ ), TNF- $\alpha$  ( $157.2 \text{ pg/mL} \pm 5.95$ ,  $t = 14.74$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. controls ( $65.38 \text{ pg/mL} \pm 2.14$ ), and AChE ( $16,050 \text{ U/L} \pm 878.5$ ,  $t = 7.419$ ,  $p < 0.0001$ ) vs. controls ( $9416 \pm 236.2$ ) (Fig. 1).

### 3.2.3. Apoptotic markers and DNA damage

Patients with epilepsy had significantly higher serum levels of CASP 3 ( $44.68 \text{ U/mg} \pm 1.5$ ,  $t = 23.79$ ,  $p < 0.0001$ ) protein than the healthy controls ( $6.77 \pm 0.30$ ). Picogreen ( $122.1 \text{ pg/mL} \pm 18.54$ ,  $t = 5.30$ ,  $p < 0.001$ ) vs. the control group ( $10.37 \pm 0.37$ ) (Fig. 2).

## 3.3. Correlation analyses

### 3.3.1. Correlation of seizure duration with Neupsilin tests

There was negative correlation when analyzing seizure duration vs. oral language ( $R = -0.4484$ ,  $p < 0.05$ ) and seizure duration vs. problem resolution (executive functions) ( $R = -0.3995$ ,  $p < 0.05$ ) (Fig. 3). However, for memory [working ( $R = -0.2752$ ,  $p > 0.05$ ), verbal ( $R = -0.2273$ ,  $p > 0.05$ ), semantic ( $R = -0.1449$ ,  $p > 0.05$ ), visual ( $R = -0.03533$ ,  $p > 0.05$ ), prospective ( $R = -0.1170$ ,  $p > 0.05$ ), and total ( $R = -0.3147$ ,  $p > 0.05$ )]; temporal-spatial orientation ( $R = 0.02037$ ,  $p > 0.05$ ); attention [inverse count ( $R = 0.08485$ ,  $p > 0.05$ ) and digit repetition ( $R = -0.1052$ ,  $p > 0.05$ )]; perception ( $R = -0.1015$ ,  $p > 0.05$ ); written language ( $R = -0.1839$ ,  $p > 0.05$ ) and total language ( $R = -0.1530$ ,  $p > 0.05$ ); praxes ( $R = 0.3218$ ,  $p > 0.05$ ); and executive function [total verbal fluency ( $R = -0.03380$ ,  $p > 0.05$ )], we did not find any correlation (data not shown).

### 3.3.2. Correlation of depression score with Neupsilin tests

The patients with epilepsy had significant correlation when comparing depression with temporal-spatial orientation ( $R = -0.3999$ ,  $p < 0.05$ ) (Fig. 4). However, for memory [working ( $R = -0.1399$ ,  $p > 0.05$ ), verbal ( $R = -0.1466$ ,  $p > 0.05$ ), semantic ( $R = -0.2197$ ,  $p > 0.05$ ), visual ( $R = -0.0179$ ,  $p > 0.05$ ), prospective ( $R = -0.2165$ ,  $p > 0.05$ ), and total ( $R = 0.02140$ ,  $p > 0.05$ )]; attention [inverse count ( $R = -0.2425$ ,  $p > 0.05$ ) and digit repetition ( $R = 0.1554$ ,  $p > 0.05$ )]; perception ( $R = -0.2636$ ,  $p > 0.05$ ); written language ( $R = -0.06552$ ,  $p > 0.05$ ) and total language ( $R = 0.1249$ ,  $p > 0.05$ ); problem resolution ( $R = -0.03663$ ,  $p > 0.05$ ); praxes ( $R = 0.1920$ ,  $p > 0.05$ ); and executive function [total verbal fluency ( $R = -0.03380$ ,  $p > 0.05$ )], we did not find any correlation (data not shown).

### 3.3.3. Correlation of metabolism markers with Neupsilin tests

The patients with epilepsy had significant correlation when comparing total CHO with total language ( $R = -0.48$ ,  $p < 0.05$ ), TG with semantic memory ( $R = -0.54$ ,  $p < 0.05$ ), TG with prospective memory ( $R = -0.2165$ ,  $p < 0.02$ ), TG with total memory ( $R = -0.53$ ,  $p < 0.02$ ), and GLU with total attention ( $R = -0.62$ ,  $p < 0.002$ ) (Fig. 5). Correlation of TG, CHO, LDL, HDL, and GLU with other Neupsilin tests did not present significant correlation (data not shown).

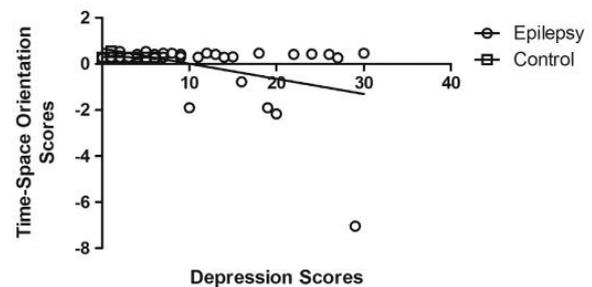
### 3.3.4. Correlation of inflammatory parameters with Neupsilin tests

The patients with epilepsy had significant correlation when comparing praxes with CASP 3 ( $R = -0.52$ ,  $p < 0.001$ ) and TNF- $\alpha$  with total language ( $R = -0.40$ ,  $p < 0.05$ ) (Fig. 6). Correlation of TNF- $\alpha$  with other Neupsilin tests did not present significant correlation, and IL-1 $\beta$  and AChE were not significant when correlated to Neupsilin tests (data not shown).

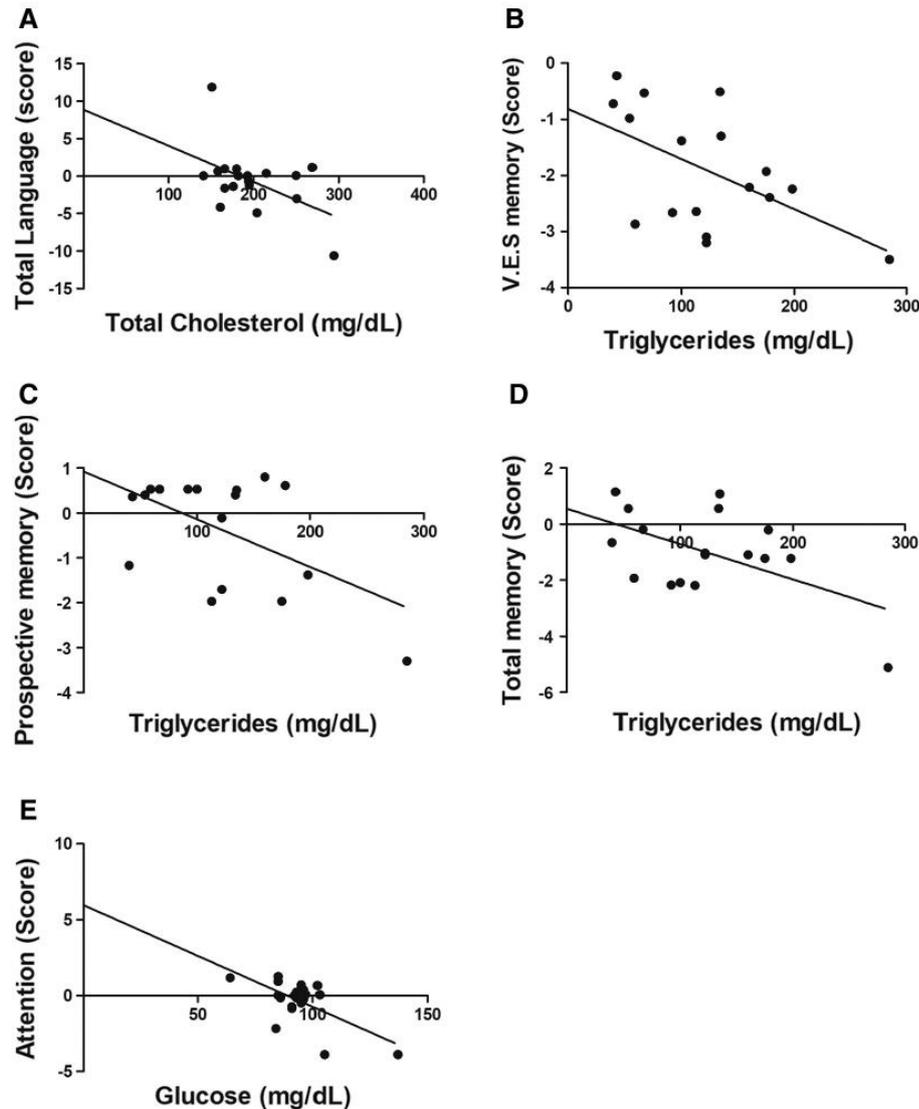
Furthermore, the results expressed no difference in memory tests and inflammatory and apoptotic parameters when comparing patients in monotherapy ( $p > 0.05$ ) and polytherapy ( $p > 0.05$ ) (data not shown). In this manner, we believe that these parameters are present in patients with epilepsy regardless of AED administration.

## 4. Discussion

The present study investigated the relationship of cognitive deficit in epilepsy with depression score, inflammatory markers, and glycolipid



**Fig. 4.** The correlation analysis of depression with Neupsilin test: temporal-spatial orientation. Correlation between depression and temporal-spatial orientation (TSO) in the control group and the group with epilepsy. The patients with epilepsy presented a significant correlation when comparing depression with temporal-spatial orientation (TSO) in the patients with epilepsy as compared with the control group (Pearson's correlation coefficient). According to Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$  was considered significant.



**Fig. 5.** The correlation analysis of metabolism markers with Neuropsychiatric tests. Correlation between metabolism markers with Neuropsychiatric tests in the group with epilepsy. The patients with epilepsy presented a significant correlation when comparing total CHO with total language (A), TG with semantic memory (B), TG with prospective memory (C), TG with total memory (D), and GLU with total attention (E). According to Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$  was considered significant.

profile. We found, for the first time, that the patients with epilepsy exhibited significant cognitive impairments including temporal-spatial orientation, attention, oral and written language, verbal fluency, working memory, verbal episodic memory, long-term semantic memory, short-term visual memory, prospective memory, and total memory (Table 2). In this sense, our data are in accordance with other studies that observed cognitive impairment in patients with epilepsy in both chronic and new-onset cohorts [22–24].

Our results are also similar regarding the cognitive dysfunction found in a study carried out between two groups with epilepsy aged between 16 and 50 years. They associated the early age of onset of seizures with visual memory deficits and the long duration of epilepsy and anticonvulsant medication with general and verbal memory deficits [25]. In addition, memory attention is another function that numerous studies

have sought to evaluate. Complaints of attention are very common in patients with epilepsy [26]. In this context, our study corroborates with the literature since the patients with epilepsy presented impaired attention. Changes in speech and language in patients with epilepsy are also another function that instigates investigation. Our patients presented lower language ability than the healthy individuals. According to what was previously mentioned, patients with epilepsy with focus in the temporal or frontal lobe of the dominant hemisphere may have subtle language changes [27]. Language problems may also interfere with learning new words and verbal memory in patients with seizures [27]. In fact, there is evidence that seizures cause cognitive dysfunction in patients and in experimental models of epilepsy [28,29].

Interestingly, we found a correlation between the duration of seizures with oral language and problem solving, a subtest of executive

functions. In fact, Holmes et al. [30] revealed that 35 patients with frequent intractable seizures over a 10-year period had lower visual memory, attention, problem solving, and perception tests whereas their intelligence quotient (IQ) did not change. Furthermore, patients with epilepsy presented higher depression scores when compared with healthy subjects. In this work, we cannot evaluate whether the pattern of cognitive impairment represented an unchanged cognitive profile or a progressive decline over time. However, the results indicate that cognitive abilities are affected in the patients with epilepsy and that this cognitive impairment may be associated with depression.

In the second time, we found that inflammation and metabolic markers were abnormal in the group with epilepsy. Compared with the controls, patients with epilepsy exhibited abnormalities in GLU, TG, total CHO, and LDL levels as well as TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , CASP 3, PG, and AChE activity. These measures were selected for examination because they are associated with aspects of cognitive functions in the general population or represent interesting factors in other neurological dysfunctions such as Alzheimer's disease and strokes [31,32].

Indeed, one of the hypotheses that has emerged to explain cognitive dysfunctions such as memory impairment in patients with epilepsy includes changes in gene expression and epigenetic effects of seizures leading to lasting changes in gene expression [33] and synaptic remodeling as well as changes associated with the immunological system [34] and metabolic factors [9]. Furthermore, there is clinical and experimental evidence suggesting the involvement of the inflammatory process in the pathophysiology of epilepsy [35]. The authors also showed that comorbidities and complications of epilepsy such as depression and intellectual disability may be related to the cytokine pathway [35–38]. Data in the literature suggest that psychiatric disorders occur in 20 to 40% of patients with epilepsy, with an even greater incidence in patients with temporal lobe epilepsy (TLE) and treatment-refractory epilepsy [39, 40]. In fact, most studies have focused on the relationship between

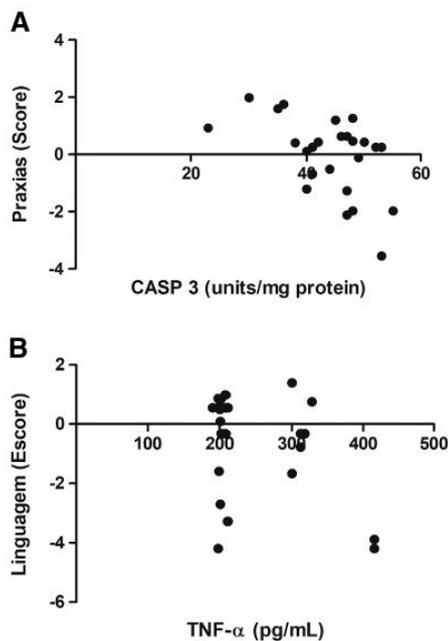
epilepsy and depression; however, there is a lack of epidemiological data on the association between these two factors in general depression [39–42]. Results found showed that from the total number of patients with epilepsy evaluated in the depression test, 65.6% presented different levels of depression. The authors also reported that the comorbidity and complications of epilepsy, including depression and intellectual disability, may be related to cytokine pathways [43–45]. Brain inflammation has been implicated in the pathophysiology of various neuropsychiatric conditions. In this manner, it is conceivable that inflammatory processes, which are triggered in the brain by an epileptogenic insult at the same time as seizures, may lead to the development of neuropsychiatric abnormalities including depression [46]. Another interesting point was the negative correlation between depression and the spatiotemporal orientation test. In fact, studies have shown a higher rate of depression [47] and compromised space-time orientation in patients with epilepsy, suggesting that these functions may be linked [47,48].

Studies have also shown that AChE plays an important role in immune responses through the hydrolysis of acetylcholine (ACh), which is known to have antiinflammatory properties and suppresses the production of proinflammatory cytokines [49]. In our study, we observed an increase in AChE activity and impairment of memory, attention, language, and executive functions in patients with epilepsy. Studies have shown that negative regulation of ACh causes a positive regulation of the inflammatory pathway (increased TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) [50,51] through *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor overactivity [52]. In addition, IL-1 $\beta$  and its type 1 receptor (IL-1R1) have shown to be expressed in the brain of patients with TLE, cortical dysplasias, and tuberous sclerosis [53–55]. The mechanisms responsible for the proconvulsant properties of IL-1 $\beta$  involve a reduction in glutamate uptake by glial cells or an improved release of glutamate from these cells, which is mediated by TNF- $\alpha$ . Thus, it is plausible to propose that the increased AChE, TNF- $\alpha$ , and IL-1 $\beta$  of the present study may result in higher neurotoxicity, leading to seizures and cognitive deficit in patients with epilepsy.

In addition to inflammatory parameters involved in epilepsy, other factors that seem to be associated with cognitive dysfunction are metabolic markers. In fact, we found in our study an unfavorable glycolipid profile in patients with epilepsy such as total CHO, LDL, TG, and GLU. A cross-sectional study with patients with epilepsy and users of AEDs found a glycolipid profile similar to ours when compared with healthy individuals [56]. In relation to HDL, although the results from the group with epilepsy were not statistically significant, these results are in accordance with those by Hermann et al. [9] who demonstrated that HDL was not higher in the group with epilepsy when compared with healthy subjects. Alterations occurring in HDL composition and metabolism resulting from inflammation not only can make HDL ineffective as an antiinflammatory agent but also have actually a proinflammatory role by promoting LDL oxidation [57].

Furthermore, a negative correlation between the glycolipid profile and cognitive functions were found: CHO vs. total language, TG vs. semantic memory, TG vs. prospective memory, TG vs. total memory, and GLU vs. total attention. Correlations of TG, CHO, LDL, HDL, and GLU with other tests of Neupsilin did not present significance (data not shown). In fact, our data are in accordance with the study by Hermann et al. [9] who showed a relation between cognitive dysfunction and multiple abnormalities in metabolic, inflammatory, and vascular health in aging persons with chronic epilepsy.

Although our cohort is small, our results revealed a strong statistical difference between the group with epilepsy and the control group, suggesting a relationship between cognitive impairment, depression, inflammation, and metabolic markers in patients with epilepsy. In conclusion, we suggest that the events detected in this study may contribute, at least in part, to cognitive dysfunction found in epilepsy. The data suggest the inclusion of psychiatric services and routine evaluation in most patients presenting epilepsy. The findings also emphasize the



**Fig. 6.** The correlation of inflammatory parameters with Neupsilin tests. Correlation between inflammatory parameters with Neupsilin tests in the group with epilepsy. The patients with epilepsy presented a significant correlation when comparing praxes with CASP 3 (A) and TNF- $\alpha$  with total language (B). According to Pearson's correlation coefficient,  $p < 0.05$  was considered significant.

need to be aware of the psychiatric history when assessing presumed treatment failure of seizure medication to control convulsive events and that an accurate understanding of the extent and nature of the relation between epilepsy and psychiatric problems is essential. Furthermore, the use of drugs with antiinflammatory and antidiyslipidemia potential may represent a complementary therapy in treating epilepsies. Nevertheless, further studies are required to investigate the relationship of these events in a larger population.

### Acknowledgments

This work was supported by CNPq (grant: 500120/2003-0) and PROIC HUSM (grant: 032080). M.R. Figuera, L.F.F. Royes, A.F. Furian, and M. S. Oliveira are the recipients of the CNPq fellowships. A. Kegler, E. T. Pascotini, and P. Gabbi are the recipients of the FAPERGS and CAPES fellowships. Dr. Gary was supported in part by the Daves/Crandall endowed Chair for epilepsy research at UCLA.

### Disclosure statement

The authors reported no potential conflict of interest.

### References

- Antoniuk SA. Epilepsia na Infância e Adolescência. In: Em Valiatti MRMS, Bromberg MC, Antoniuk SA, Riechi TJS, editors. *Desenvolvimento da Criança e do Adolescente. Avaliação e Intervenção*. Curitiba: Ithala; 2011.
- Fastenau PS, Johnson CS, Perkins SM, Byars AW, deGrauw TJ, Austin JK, et al. Neuropsychological status at seizure onset in children: risk factors for early cognitive deficits. *Neurology* 2009;73:526–34.
- Hermann BP, Dabbs K, Becker T, Jones JE, Myers y Gutierrez A, Wendt G, et al. Brain development in children with new onset epilepsy: a prospective controlled cohort investigation. *Epilepsia* 2010;51(10):2038–46.
- Rijkveorsel K. Cognitive problems related to epilepsy syndromes, especially malignant epilepsies. *Seizure* 2006;15(4):227–34.
- Hermann BP, Seidenberg M, Bell B. Psychiatric comorbidity in chronic epilepsy: identification, consequences, and treatment of major depression. *Epilepsia* 2000;41(Suppl. 2):S31–41.
- Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol* 2011;7(1):31–40.
- Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron* 1988;1(8):623–34.
- Vezzani A, Ravizza T, Balosso S, Aronica E. Glia as a source of cytokines: implications for neuronal excitability and survival. *Epilepsia* 2008;49(Suppl. 2):24–32.
- Hermann BP, Sager MA, Kosciak RL, Young K, Nakamura K. Vascular, inflammatory, and metabolic factors associated with cognition in aging persons with chronic epilepsy. *Epilepsia* 2017;58(11):e152–6.
- Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines. *Circulation* 2014;129(Suppl. 2):S1–45.
- Sierra-Marcos A, Alvarez V, Faouzi M, Burnand B, Rossetti AO. Statins are associated with decreased mortality risk after status epilepticus. *Eur J Neurol* 2015;22:402–5.
- Kim Dong Wook, Kim Hyun Kyung, Bae Eun-Kee. The effects of lifestyle modification and statin therapy on the circulatory markers for vascular risk in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav* 2017;76:133–5.
- Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. *Epilepsia* 2010 Apr;51(4):676–85.
- Cramer JA, French J. Quantitative assessment of seizure severity for clinical trials: a review of approaches to seizure components. *Epilepsia* 2001;42(1):119–29 [PubMed PMID: 11207795].
- Raven JC. *Standard Progressive Matrices*. Oxford: Oxford Psychologists Press; 2008.
- Fonseca RP, Salles JF, Parente MAMP. Development and content validity of the Brazilian Brief Neuropsychological Assessment Battery NEUPSILIN. *Psychol Neurosci* 2008;1:55–62.
- Oliveira CR, Pagliarini KC, Calvette Lde F, Gindri G, Argimon II, Fonseca RP. Depressive signs and cognitive performance in patients with a right hemisphere stroke. *CoDAS* 2015;27(5):452–7.
- Casarin FS, Wong CE, Parente MA, de Salles JF, Fonseca RP. Comparison of neuropsychological performance between students from public and private Brazilian schools. *Span J Psychol* 2012;15(3):942–51.
- Lopes AF, Monteiro JP, Fonseca MJ, Robalo C, Simões MR. Memory functioning in children with epilepsy: frontal lobe epilepsy, childhood absence epilepsy, and benign epilepsy with centrotemporal spikes. *Behav Neurol* 2014;2014:218637.
- Endicott J, Cohen J, Nee J, Fleiss J, Sarantakos S. Hamilton Depression Rating Scale. Extracted from regular and change versions of the schedule for affective disorders and schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1981;38(1):98–103.
- Há TTN, Huy NT, Murao LA, Lan NTP, Thuy TT. Elevated levels of Cell-free circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection. *PLoS One*, Nagasaki 2011;6(10):259–69.
- Oyegbile TO, Dow C, Jones J, Bell B, Rutecki P, Sheth R, et al. The nature and course of neuropsychological morbidity in chronic temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2004;62:1736–42.
- Taylor J, Kolamunnage-Dona R, Marson AG, Smith PE, Aldenkamp AP, Baker GA, et al. Patients with epilepsy: cognitively compromised before the start of antiepileptic drug treatment? *Epilepsia* 2010;51:48–56.
- Witt JA, Helmstaedter C. Cognition in the early stages of adult epilepsy. *Seizure* 2015;26:65–8.
- Stella F. Memory disorders in epileptic patients. *Arq Neuropsiquiatr* 1999;57(2B):415–20 [PubMed PMID: 10450348].
- Meador KJ. Cognitive outcomes and predictive factors in epilepsy. *Neurology* 2002;58(Suppl. 5):S21–6.
- Lee GP. *Neuropsychology of epilepsy and epilepsy surgery*. New York: Oxford: Oxford University Press; 2010.
- Chin J, Scharfman HE. Shared cognitive and behavioral impairments in epilepsy and Alzheimer's disease and potential underlying mechanisms. *Epilepsy Behav* 2013;26(3):343–51.
- Oliveira CV, Grigoletto J, Funck VR, Ribeiro LR, Royes LF, Figuera MR, et al. Evaluation of potential gender-related differences in behavioral and cognitive alterations following pilocarpine-induced status epilepticus in C57BL/6 mice. *Physiol Behav* 2015;143:142–50.
- Holmes MD, Dodrill CB, Wilkus RJ, Ojemann LM, Ojemann GA. Is partial epilepsy progressive? Ten-year follow-up of EEG and neuropsychological changes in adults with partial seizures. *Epilepsia* 1998;39(11):1189–93.
- Kuo HK, Yen CJ, Chang CH, Kuo K, Chen JH, Sorond F. Relation of C-reactive protein to stroke, cognitive disorders, and depression in the general population: systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2005;4:371–80.
- Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol* 2011;10:819–28.
- Bragatti JA, Torres CM, Londero RG, Souza AC, Hidalgo MP, et al. Prevalence of psychiatric comorbidities in temporal lobe epilepsy in a Southern Brazilian population. *Arq Neuropsiquiatr* 2011;69(2A):159–63.
- Bragatti JA, Bandeira IC, de Carvalho AM, Abujamra AL, Leistner-Segal S, Bianchin MM. Tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) gene polymorphisms and psychiatric comorbidities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav* 2014;32:59–63.
- Rana A, Musto AE. The role of inflammation in the development of epilepsy. *J Neuroinflammation* 2018;15:144.
- von Ehrenstein OS, Neta GI, Andrews W, Goldenberg R, Goepfert A, Zhang J. Child intellectual development in relation to cytokine levels in umbilical cord blood. *Am J Epidemiol* 2012 Jun 1;175(11):1191–9.
- Mazarati AM, Pineda E, Shin D, Tio D, Taylor AN, Sankar R. Comorbidity between epilepsy and depression: role of hippocampal interleukin-1beta. *Neurobiol Dis* 2010;37(2):461–7.
- Hodes GE, Ménard C, Russo SJ. Integrating Interleukin-6 into depression diagnosis and treatment. *Neurobiology of Stress* October 2016;4:15–22.
- Noebels JL. The voltage-gated calcium channel and absence epilepsy. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV, editors. *Jasper's basic mechanisms of the epilepsies* 4th ed. ; July 2, 2012 NCBJ Bookshelf website Bethesda (MD).
- Gaiatzis A, Trimble MR, Sander JW. The psychiatric comorbidity of epilepsy. *Acta Neurol Scand* 2004;110:207–20.
- Lubin FD. Epileptogenesis: can the science of epigenetics give us answers? *Epilepsy Curr* 2012;12(3):105–10.
- Schenkel LC, Bragatti JA, Becker JA, Torres CM, Martin KC, de Souza AC, et al. Serotonin gene polymorphisms and psychiatric comorbidities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2012;99(3):260–6.
- Carmeli E, Beiker R, Morad M. Nitric oxide and interleukin-6 levels in intellectual disability adults with epilepsy. *Res Dev Disabil* 2009;30(3):567–71 [30].
- Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol* 2016 Jan;16(1):22–34.
- Dhir A. Novel discoveries in understanding the complexities of epilepsy and major depression. *Expert Opin Ther Targets* 2010;14(1):109–15.
- Mendez MF, Cummings JL, Benson DF. Depression in epilepsy. Significance and phenomenology. *Arch Neurol* 1986;43(8):766–70.
- Helmstaedter C, Sonntag-Dillender M, Hoppe C, Elger CE. Depressed mood and memory impairment in temporal lobe epilepsy as a function of focus lateralization and localization. *Epilepsy Behav* 2004;5(5):696–701.
- Abrahams S, Morris RG, Polkey CE, Jarosz JM, Cox TC, Graves M, et al. Hippocampal involvement in spatial and working memory: a structural MRI analysis of patients with unilateral mesial temporal lobe sclerosis. *Brain Cogn* 1999 Oct;41(1):39–65.
- Kawashima K, Fujii T. Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes. *Pharmacol Ther* 2000;86(1):29–48.
- Mabley JG, Pacher P, Szabo C. Activation of the cholinergic antiinflammatory pathway reduces ricin-induced mortality and organ failure in mice. *Mol Med* 2009;15(5–6):166–72 [PubMed PMID: 19209239].
- Pavlov VA, Ochani M, Gallowitsch-Puerta M, Ochani K, Huston JM, Czura CJ, et al. Central muscarinic cholinergic regulation of the systemic inflammatory response during endotoxemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(13):5219–23.
- Vandame D, Ullmann L, Teigell M, Prieto-Cappellini M, Vignon J, Privat A, et al. Development of NMDAR antagonists with reduced neurotoxic side effects: a study on GK11. *PLoS One* 2013;8(11):e81004.

- [53] Crespel A, Coubes P, Rousset MC, Brana C, Rougier A, Rondouin G, et al. Inflammatory reactions in human medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain Res* 2002;952(2):159–69 [PubMed PMID: 12376176].
- [54] Ravizza T, Boer K, Redeker S, Spliet WG, van Rijen PC, Troost D, et al. The IL-1beta system in epilepsy-associated malformations of cortical development. *Neurobiol Dis* 2006;24(1):128–43 [PubMed PMID: 16860990].
- [55] Boer K, Jansen F, Nellist M, Redeker S, van den Ouweland AM, Spliet WG, et al. Inflammatory processes in cortical tubers and subependymal giant cell tumors of tuberous sclerosis complex. *Epilepsy Res* 2008;78(1):7–21.
- [56] Pereira PM. Antiepileptic drugs: repercussions in the lipid profile and medium-intimal carotid thickness. [Master's dissertation] First Generation DAEs: repercussions on the lipid profile and on the mean intimal carotid thickness; 2015.
- [57] Hima BG, Veena SR, Vijay VK. Friend turns foe: transformation of anti-inflammatory HDL to proinflammatory HDL during acute-phase response. *Cholesterol* 2011; 2011:274629 [Epub 2010 Nov 25].

## 3.2 ARTIGO 2

**ARTICLE IN PRESS**

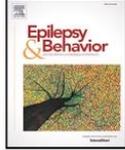
YEBEH-107346; No of Pages 9

Epilepsy & Behavior 112 (2020) 107346

Contents lists available at ScienceDirect

**Epilepsy & Behavior**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/yebeh](http://www.elsevier.com/locate/yebeh)

## MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with oxidative and inflammatory markers

Josi Arend<sup>a,d</sup>, Aline Kegler<sup>a</sup>, Ana Letícia Fornari Caprara<sup>a</sup>, Patricia Gabbi<sup>a</sup>, Eduardo T. Pascotini<sup>a</sup>, Lori Ane Vargas de Freitas<sup>a</sup>, Marta M.M.F. Duarte<sup>d</sup>, Núbia Broetto<sup>c</sup>, Ana Flavia Furian<sup>d</sup>, Mauro Schneider Oliveira<sup>d</sup>, Luiz Fernando Freire Royes<sup>b,c,d</sup>, Michele Rechia Figuera<sup>a,b,c,d,\*</sup>

<sup>a</sup> Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Neuropsiquiatria, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

<sup>b</sup> Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

<sup>c</sup> Centro de Educação Física e Desportos, Departamento de Métodos e Técnicas Desportivas, Laboratório de Bioquímica do Exercício (BIOEX), Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

<sup>d</sup> Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brazil

### ARTICLE INFO

Article history:  
Received 2 June 2020  
Revised 12 July 2020  
Accepted 14 July 2020  
Available online xxx

Keywords:  
MnSOD Ala16Val polymorphism  
Epilepsy  
Inflammation  
Neuropsychological profile  
Oxidative stress

### ABSTRACT

**Objective:** The objective of the study was to evaluate the neurocognitive profile and its relation with Ala16ValMnSOD polymorphism in epilepsy and if these clinical parameters are linked to oxidative stress and inflammatory markers.

**Methods:** Patients with epilepsy (n = 31) and healthy subjects (n = 42) were recruited. A neuropsychological evaluation was performed in both groups through a battery of cognitive tests. Oxidative stress, inflammatory markers, apoptotic factors, and deoxyribonucleic acid (DNA) damage were measured in blood samples.

**Results:** Statistical analyses showed the association of MnSOD Ala16Val polymorphism with cognitive impairment, including praxis, perception, attention, language, executive functions, long-term semantic memory, short-term visual memory, and total memory in patients with epilepsy and Valine-Valine (VV) genotype compared with the control group. Compared with the controls and patients with epilepsy, Alanine-Alanine (AA), and Alanine-Valine (AV) genotype, the patients with epilepsy and VV genotype exhibited higher levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6), activation of caspases 1 and 3 (CASP-1 and -3), and DNA damage. Our findings also showed higher carbonyl protein and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels as well as an increased superoxide dismutase (SOD) and acetylcholinesterase (AChE) activities in patients with epilepsy and VV genotype.

**Conclusion:** This study supports the evidence of a distinct neuropsychological profile in patients with epilepsy, especially those with the VV genotype. Furthermore, our results suggest that oxidative and inflammatory pathways may be associated with genetic polymorphism and cognitive dysfunction in patients with epilepsy.

© 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

Epilepsy is a brain disorder characterized by an enduring predisposition to generate epileptic seizures and neurobiological, cognitive, psychological, and social consequences [1,2]. The definition of epilepsy requires the occurrence of at least one epileptic seizure [1] and affects approximately 50 million people worldwide [3]. Clinical manifestations may appear as changes in consciousness, motor events, sensory, autonomic, or psychic alterations [4]. A continuous epileptogenic process may irreversibly damage the brain, causing persistent cognitive impairment and global intellectual deficits [5]. Memory deficits are some of

the most commonly reported cognitive complaints in patients with epilepsy [6].

In addition to cognitive impairment, evidence suggests the involvement of oxidative and inflammatory pathways in the pathophysiology of epilepsy. Studies and experimental models have shown that seizure activity alone can induce brain inflammation and recurrent seizures that perpetuate chronic inflammation [7]. Moreover, research has demonstrated that antioxidant enzymes are key regulators of inflammation. Manganese superoxide dismutase (MnSOD or SOD2) is a vital enzyme for mitochondrial survival and related to antiinflammatory and antioxidant modulation.

It is the first, in an enzyme chain, that mediates reactive oxygen species (ROS) generated by partial O<sub>2</sub> reduction [8]. A single gene encodes MnSOD, which is located in chromosome 6q25. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been described with Ala16Val (rs4880) and are

\* Corresponding author at: Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Neuropsiquiatria, Universidade Federal de Santa Maria, 97105-900 Santa Maria, RS, Brazil.  
E-mail address: [mrfighera@yahoo.com.br](mailto:mrfighera@yahoo.com.br) (M.R. Figuera).

<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107346>  
1525-5050/© 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

Please cite this article as: J. Arend, A. Kegler, A.L.F. Caprara, et al., MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with ..., *Epilepsy & Behavior*, <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107346>

one of the most studied polymorphisms in the SOD2 gene. In this SNP, alanine (Ala) changes to valine (Val) at the 16th amino acid (Ala16Val) following the signal sequence. This SNP causes conformational changes in the MnSOD target sequence, which reduces the efficacy of this enzyme, especially in patients with the Val allele [9].

Several oxidative, inflammatory, and apoptotic markers are associated with impaired cognitive aging and dementia in the general population [10–12]. However, these factors are rarely evaluated regarding cognition in epilepsy and whether there is any correlation with genetic factors.

In this context, studies have described the role of Ala16ValMnSOD SNP in many diseases; however, its role in cognitive alterations in patients with epilepsy is still unclear [13]. Therefore, our objective was (1) to evaluate the neurocognitive profile of patients with epilepsy compared with healthy subjects and its relation with Ala16ValMnSOD polymorphism; (2) investigate the role of Ala16ValMnSOD polymorphism in neuropsychological status and its association with oxidative and inflammatory markers in patients with epilepsy.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study population

Seventy-three subjects were selected and allocated into two groups: the group with epilepsy ( $n = 31$ ) and the control group ( $n = 42$ ). All patients and controls were evaluated using a questionnaire to determine clinical history. We prospectively recruited 31 patients diagnosed with epilepsy from June 2015 to July 2018 at our institution. Forty-two healthy sex-matched volunteers were included as healthy controls.

The diagnostic criteria were revised by neurologists with experience in epilepsy. Afterwards, the patients and healthy subjects received a protocol number as well as neuropsychological evaluation through a battery of cognitive tests.

Blood samples were identified with the protocol number of each individual in the study. Inflammatory markers (tumor necrosis factor alpha [TNF- $\alpha$ ], interleukin-1 [IL-1], and interleukin-6 [IL-6]), acetylcholinesterase (AChE) activity, oxidative stress (thiobarbituric acid reactive substances [TBARS], Carbonil, and superoxide dismutase [SOD] activity), caspases-1 and -3 (CASP-1 and -3), and Picogreen (PG) were measured in the blood samples.

The study protocol was approved by the local institutional review boards at the affiliated institutions of the authors. Informed consent was obtained from all of the subjects or their legal surrogates. The work described was in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki).

#### 2.1.1. Group with epilepsy

From the 43 subjects with the disease, 31 were selected through the following exclusion criterion: subjects under the age of 12, history of autoimmune, liver, kidney, and inflammatory diseases, allergic response, immune deficiency disorder, diabetes, psychiatric illness, malignancy, severe cognitive impairment, or a systemic or central nervous system (CNS) infection 2 weeks before sample collection. Epilepsy was diagnosed by two experienced neurologists according to the 2010 International League Against Epilepsy (ILAE) Classification.

All patients were evaluated for seizure frequency using seizure diaries [14]. Seizure types were confirmed through interviews with patients and relatives, electroencephalogram (EEG) analysis, and tomography or magnetic resonance imaging (MRI). Data on seizure frequency and status of seizure control with medication were also obtained. Twenty-nine of the 31 participants had normal backgrounds in routine EEG, and two patients presented generalized waves in both hemispheres after light stimulus. Two participants exhibited bursts of polyspikes and waves after sleep deprivation in the right temporal zone.

All participants were treated with standard antiepileptic drugs (AEDs). Four participants took sodium valproate (VPA) monotherapy,

one took carbamazepine (CBZ) monotherapy, one took phenytoin (PNT) monotherapy, and one took phenobarbital (PNB) monotherapy. Twenty-four took more than one AED. Thirty patients were well controlled except for two patients that were diagnosed with refractory epilepsy. All patients with epilepsy had normal neurological examinations except for one who presented a tetraparesis secondary to spinal cord lesion. Thirty patients had normal 1.5T MRI, one patient had right and left hippocampal sclerosis, and one patient presented an ischemic area in the spinal cord. The intellectual capacity of the patients and control group were evaluated by the Standard Progressive Matrices Sets A–E [15] and those who presented values below 25 were excluded from the study.

#### 2.1.2. Control group

For comparison, 42 healthy subjects were recruited for this study, respecting the mean of age and sex of the group with epilepsy.

### 2.2. Neuropsychological profile

Neuropsychological evaluations were performed in both groups through a battery of cognitive tests (Neupsilin) that measured the following parameters: long-term semantic memory, short-term visual memory, prospective memory, total memory, language (oral, written, and total), praxis, temporal–spatial orientation, executive functions, and attention [16,17]. These tests were carried out by a trained psychologist.

### 2.3. Laboratory analyses

Samples were collected at least 7 days after the last seizure attack [18]. After 12 h of overnight fasting, blood samples were collected by venipuncture using purple, green, and red top Vacutainers® (BD Diagnostics, Plymouth, UK) tubes with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), heparin, or no anticoagulants, respectively.

The specimens were routinely centrifuged within 1 h of collection for 15 min at 2500g. Aliquots of the serum samples and supernatant were saved and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  for subsequent laboratory analysis according to specific methods. These techniques were analyzed using standard enzymatic methods by Ortho-Clinical Diagnostics® reagents on a fully automated analyzer (Vitros 950® dry chemistry system; Johnson & Johnson, Rochester, NY, USA).

#### 2.3.1. Acetylcholinesterase determination

The AchE activity was measured in serum by standard enzymatic methods using Ortho-Clinical Diagnostics® reagents in an automated analyzer (Vitros 950® dry chemistry system; Johnson & Johnson, Rochester, NY).

#### 2.3.2. Caspase determination

Caspases-1 and -3 were determined in erythrocytes by Assay Kits, Fluorimetric (BioVision, Mountain View, CA). The fluorescence intensity of CASP-1 and -3 were recorded at a wavelength of 400 nm for excitation and 505 nm for emission. The activity of caspases was calculated as fluorescence intensity (FI)/min/ml =  $\Delta\text{FI} / (t \times v)$ , where  $\Delta\text{FI}$  = difference in fluorescence intensity between time zero and time  $t$  minutes,  $t$  = reaction time in min, and  $v$  = volume of sample in ml.

#### 2.3.3. Picogreen analysis

Picogreen analysis was determined in plasma according to Há et al. [19].

#### 2.3.4. Oxidative stress markers

Plasmatic TBARS were measured according to the modified method of Jentzsch et al. [20]. Protein carbonyl content was determined as described by Levine et al. [21]. Whole blood SOD activity was measured as described by McCord and Fridovic [22,23]. Total protein was

measured by the method of Bradford using bovine serum albumin as a standard [18,23].

### 2.3.5. Cytokine determination

The concentrations of TNF- $\alpha$ , interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and IL-6 (eBIOSCIENCE, San Diego, USA) were measured in serum by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) as instructed by the manufacturers. Data were expressed in pg/ml.

### 2.3.6. Ala16ValMnSOD polymorphism analysis

The Ala16ValMnSOD polymorphism genotyping was performed using the polymerase chain reaction followed by the restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) techniques. Genomic deoxyribonucleic acid (DNA) was isolated from peripheral blood leukocytes using a DNA Mini Kit Purification (Mo Bio). Ala16Val-MnSOD gene polymorphism was detected by PCR-RFLP according to Taufer et al. [24].

### 2.4. Statistical analyses

Data were analyzed by analysis of variance (two-way ANOVA) followed by Tukey's Multiple Comparison Test. Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software in a PC-compatible computer. Correlation analyses were carried out using Pearson's correlation coefficient. Statistical significance was assumed when  $p < 0.05$ . The chi-square test was used to calculate genotype frequencies, sex, and age (Tables 1 and 2).

## 3. Results

Seventy-three subjects were investigated in this study, which consisted of 31 subjects with epilepsy and 42 controls.

### 3.1. Study population

The characteristics of the study population are described in Table 1. According to chi-square analysis, no statistical differences were observed between the group with epilepsy and control group regarding sex [ $\chi^2 = 0.11$ ;  $p = 0.73$ ] and age [ $\chi^2 = 1.44$ ;  $p = 0.22$ ]. The MnSOD gene Ala16Val polymorphism is presented in Table 2, and no statistical differences were found in genotype frequencies [ $\chi^2 = 1.41$ ;  $p = 0.23$ ].

### 3.2. Neuropsychological profile

#### 3.2.1. Memory tests

Statistical analysis showed interactions among the groups: epilepsy  $\times$  control and Valine-Valine (VV)  $\times$  Alanine-Valine (AV) + Alanine-Alanine (AA) in the long-term semantic memory [F(1.50) = 4.21,  $p < 0.05$ ; Fig. 1A]; short-term visual memory [F(1.55) = 4.743,  $p < 0.05$ ; Fig. 1B]; and total memory [F(1.50) = 4.34;  $p < 0.05$ ; Fig. 1C]. Post hoc analysis revealed that patients with epilepsy and the VV genotype presented lower

**Table 2**

MnSOD Ala16Val genotype frequencies in the group with epilepsy and the control group.

MnSOD SNP	Epilepsy (%)	Control (%)	$\chi^2$	p
Genotypes				
AA	10 (32.25%)	14 (33.33%)	1.41	0.23
AV	8 (25.82%)	16 (38.10%)		
VV	13 (41.93%)	12 (28.57%)		

Note.  $\chi^2$  was considered for VV and AA + AV groups.

scores in *long-term semantic memory* than AA + AV genotype [ $q = 3.77$ ,  $p < 0.05$ ] and control [ $q = 0.04$ ,  $p < 0.005$ ] groups. Moreover, the VV genotype group presented lower scores compared with the group with epilepsy with AA + AV genotype [ $q = 5.19$ ,  $p < 0.05$ ] and control group [ $q = 4.46$ ,  $p < 0.05$ ] in the *short-term visual memory*. Regarding *total memory* score, VV epilepsy presented lower scores compared with AA + AV [ $q = 3.86$ ,  $p < 0.05$ ] and control [ $q = 10.8$ ,  $p < 0.001$ ]. Prospective memory was different between the groups with epilepsy VV and AA + AV vs. the control group [F(1.54) = 26.01;  $p = 0.0014$ ]. Post hoc analysis showed that the group with epilepsy with VV [ $q = 6.7$ ;  $p < 0.05$ ] and AA + AV genotypes [ $q = 3.86$ ;  $p < 0.05$ ] were worse in *prospective memory* score vs. the control group. Additionally, the VV genotype presented lower scores when compared with patients with AA + AV genotypes [ $q = 6.18$ ;  $p < 0.05$ ] (Fig. 1D).

#### 3.2.2. Perception

There were statistical differences in the perception test when comparing the group with epilepsy with the control group [F(1.50) = 11.46;  $p < 0.001$ ]. Post hoc analysis showed that perception test scores are lower in VV epilepsy [ $q = 4.06$ ;  $p < 0.05$ ] and AA + AV [ $q = 5.17$ ;  $p < 0.001$ ] than the control group (Fig. 2A).

#### 3.2.3. Temporal-spatial orientation

There was no statistical difference between groups or among genotypes [F(1.57) = 0.85;  $p > 0.05$ ] (Fig. 2B).

#### 3.2.4. Praxis

The praxis test was statistically different when comparing the group with epilepsy with VV genotype with the control group and the group with AA + VV epilepsy [F(1.57) = 17.83;  $p < 0.0001$ ]. Post hoc analysis showed lower praxis test scores in the group with VV epilepsy as compared with the control [ $q = 4.87$ ,  $p < 0.005$ ] and AA + AV [ $q = 3.86$ ,  $p < 0.05$ ] (Fig. 2C) groups.

#### 3.2.5. Language

Statistical analysis revealed differences in the oral [F(1.57) = 15.56;  $p = 0.0002$ ], written [F(1.52) = 9.346;  $p < 0.005$ ], and total language [F(1.53) = 14.53;  $p < 0.0005$ ] when comparing the group with epilepsy with the control group (Fig. 3A-C). Post hoc analysis showed that there were lower oral language scores in the group with VV epilepsy than the control group [ $q = 4.051$ ;  $p < 0.005$ ], as well as when AA + AV [ $q = 4.87$ ,  $p < 0.005$ ] was compared with control group (Fig. 3A). Written language scores were different when comparing the group with epilepsy with the VV [ $q = 4.10$ ;  $p < 0.05$ ] and AA + AV [ $q = 4.13$ ;  $p < 0.05$ ] with the control group (Fig. 3B). The group with epilepsy with VV [ $q = 3.518$ ;  $p < 0.05$ ] and AA + AV [ $q = 4.17$ ;  $p < 0.05$ ] genotypes were worse in the total language vs. the control group (Fig. 3C).

#### 3.2.6. Executive function

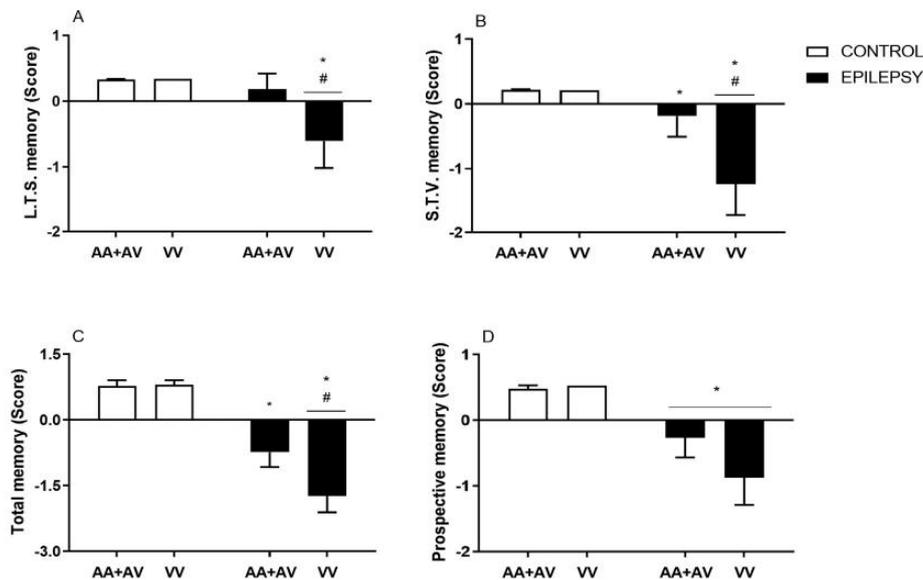
There were statistical differences in executive function when comparing the group with epilepsy with VV and AA + AV genotypes with the control group [F(1.57) = 23.09;  $p < 0.0001$ ]. Statistical analysis showed that the group with epilepsy with VV [ $q = 4.913$ ;  $p < 0.05$ ] and AA + AV [ $q = 4.709$ ;  $p < 0.05$ ] were worse in executive function vs. the control group (Fig. 4A).

**Table 1**  
Characteristics of the group with epilepsy and control group.

Characteristics	Epilepsy (n = 31)	Control (n = 42)	$\chi^2$	p
Sex (%)			0.11	0.73
Male	15 (48.4%)	22 (52.4%)		
Female	16 (51.6%)	20 (47.6%)		
Mean age (years)			1.44	0.22
Male	32.1	21.1		
Female	31.2	32.2		
Mean of crisis (min)	6.1	0		
AEDs use (%)				
None	0	42 (100%)		
One kind	12 (38.7%)	0		
$\geq$ Two kinds	19 (61.3%)	0		

Note. AED = antiepileptic drug. Data are expressed as percentage.

Please cite this article as: J. Arend, A. Kegler, A.L.F. Caprara, et al., MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with ..., *Epilepsy & Behavior*, <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107346>

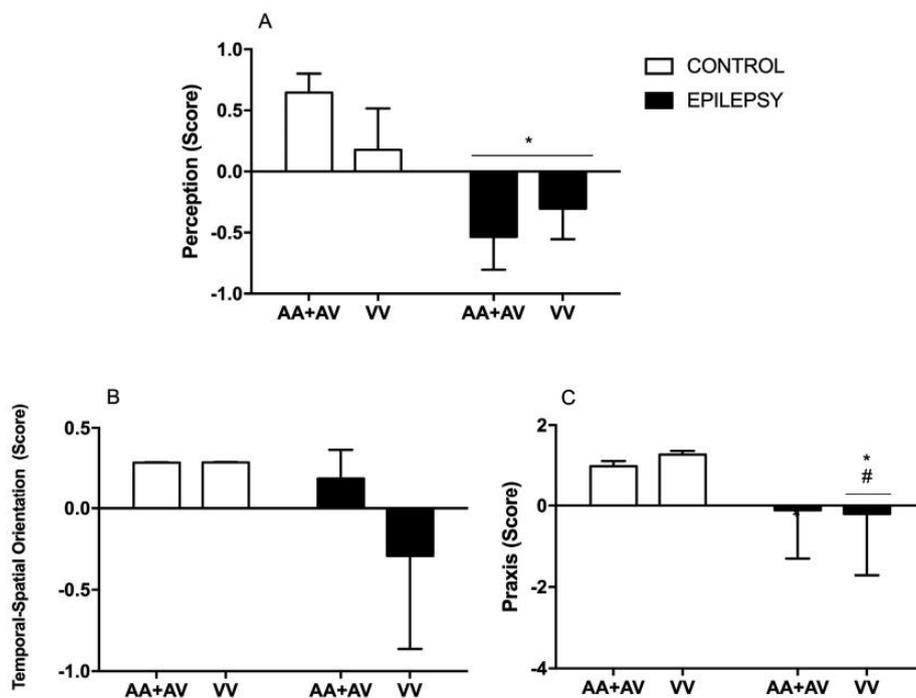


**Fig. 1.** Relation of Ala16ValMnSOD polymorphism with long-term semantic memory (A), short-term visual memory (B), total memory (C), and prospective memory (D) in the group with epilepsy. Patients with the VV genotype presented lower scores compared with the AA/AV genotype epilepsy and control group. Statistical analysis was significant if \* $p < 0.05$  when the groups with VV and AA + AV epilepsy were compared with the respective control group and # $p < 0.05$  when the group with VV epilepsy was compared with the group with AA + AV epilepsy.

### 3.2.7. Attention

There were statistical differences in attention when comparing the group with epilepsy with VV and AA + AV genotypes with control

group [ $F(1.52) = 17.68; p < 0.0001$ ]. Post hoc analysis revealed that groups with epilepsy (VV and AA + AV) were worse in attention score vs. the control group ( $q = 3.96; p < 0.05$ ) (Fig. 4B).



**Fig. 2.** Relation of Ala16ValMnSOD polymorphism with perception (A), spatial-temporal orientation (B), and praxis (C). Statistical analysis was significant if \* $p < 0.05$  when the groups with VV and AA + AV epilepsy were compared with the respective control group and # $p < 0.05$  when the group with VV epilepsy was compared with the group with AA + AV epilepsy.

## ARTICLE IN PRESS

J. Arend et al. / *Epilepsy & Behavior* 112 (2020) 107346

5

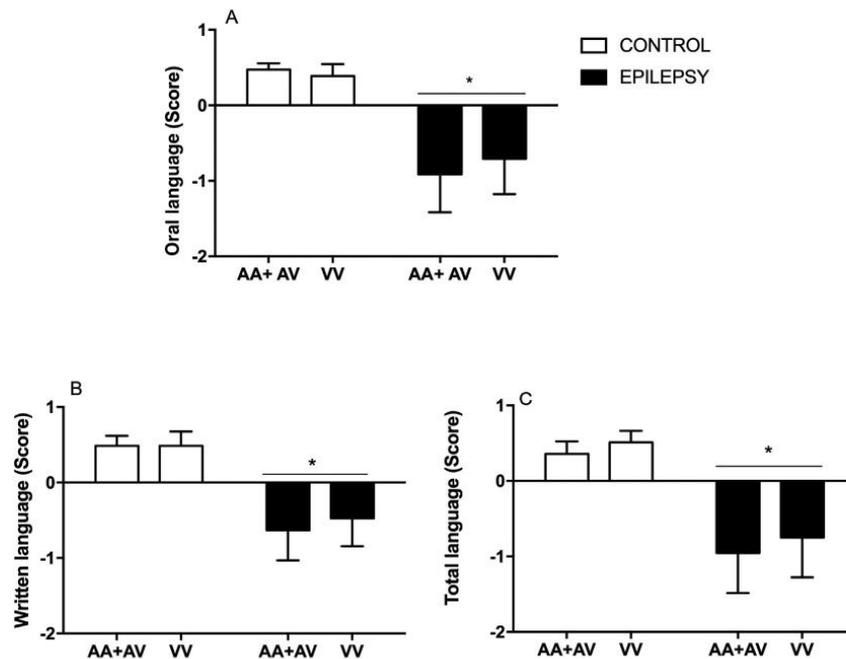


Fig. 3. Relation of Ala16ValMnSOD polymorphism with oral (A), written (B), and total language (C). Statistical analysis was significant if \* $p < 0.05$  when the groups with VV and AA + AV epilepsy were compared with the respective control group.

### 3.3. Biochemical analyses

#### 3.3.1. AChE activity

Statistical analysis demonstrated differences in AChE activity when comparing the group with epilepsy with VV and AA + AV genotypes with the control group [F (1.65) = 5.75;  $p < 0.05$ ]. Post hoc analysis showed that there were higher levels in AChE activity in the group with epilepsy with VV genotype when compared with the group with AA + AV epilepsy [q = 9.976,  $p < 0.0001$ ] and control group [q = 9.067;  $p < 0.0001$ ] (Fig. 5A).

#### 3.3.2. Inflammatory markers

Statistical analysis showed differences in IL-1 $\beta$  [F (1.65) = 45.19,  $p < 0.0001$ ], IL-6 [F (1.65) = 173.1,  $p < 0.0001$ ], and TNF- $\alpha$  levels [F (1.65) = 101.9;  $p < 0.0001$ ] when comparing the group with epilepsy with VV and AA + AV genotypes with the control group. Post hoc analysis

showed higher IL-1 $\beta$  levels in the group with epilepsy with VV genotype [q = 5.46;  $p < 0.005$ ] and AA + AV [q = 8.5,  $p < 0.0001$ ] when compared with the control group (Fig. 5B).

Higher IL-6 levels were found in the group with epilepsy with VV genotype [q = 11.65;  $p < 0.0001$ ] and AA + AV [q = 15.41,  $p < 0.0001$ ] when compared with the control group (Fig. 5C).

Tumor necrosis factor alpha levels were also higher in the group with epilepsy with VV genotype [q = 8.53;  $p < 0.0001$ ] and AA + AV [q = 12.35;  $p < 0.0001$ ] when compared with the control group (Fig. 5D).

#### 3.3.3. Apoptotic markers and DNA damage

There were statistical differences in CASP-1 activation when comparing the group with epilepsy with VV and AA + AV genotypes with the control group [F (1.65) = 557.5;  $p < 0.0001$ ]. Post hoc analysis showed higher CASP-1 activation in the group with epilepsy with VV

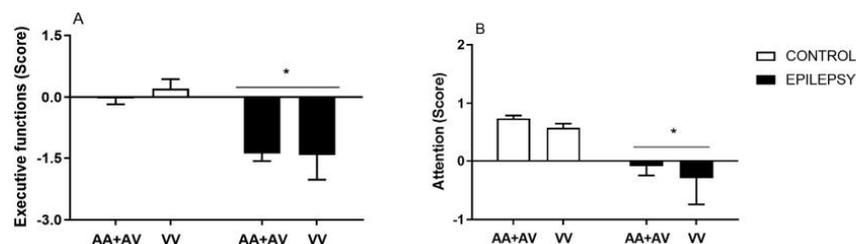
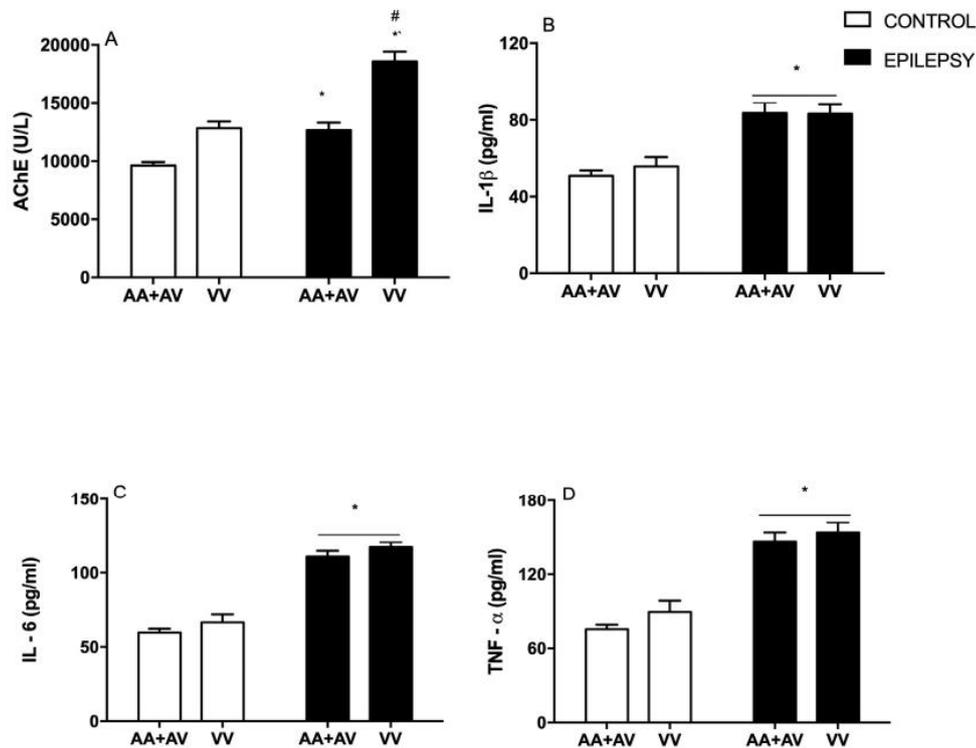


Fig. 4. Relation of Ala16ValMnSOD polymorphism with executive function (A) and attention (B). Statistical analysis was significant if \* $p < 0.05$  when the group with epilepsy was compared with the respective control group.

Please cite this article as: J. Arend, A. Kegler, A.L.F. Caprara, et al., MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with ..., *Epilepsy & Behavior*, <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107346>



**Fig. 5.** Relation of Ala16ValMnSOD polymorphism with AChE activity (A), IL-1 $\beta$  (B), IL-6 (C), and TNF- $\alpha$  (D). Statistical analysis was significant if \* $p < 0.05$  when the groups with VV and AA + AV epilepsy were compared with the respective control group and # $p < 0.05$  when the group with VV epilepsy was compared with the group with AA + AV epilepsy.

genotype [ $q = 21.48$ ;  $p < 0.0001$ ] and AA + AV [ $q = 26.89$ ;  $p < 0.0001$ ] than the control group (Fig. 6A).

Moreover, statistical analysis showed statistical interaction in CASP-3 activation when comparing the group with epilepsy with VV and AA + AV genotypes with the control group [ $F(1.65) = 4.353$ ,  $p < 0.05$ ]. Post hoc analysis showed higher CASP-3 activation in the group with epilepsy with VV genotype when compared with the group with AA + AV epilepsy [ $q = 3.866$ ,  $p < 0.05$ ] and control group [ $q = 28.43$ ;  $p < 0.0001$ ] (Fig. 6B).

### 3.3.4. Picogreen

Statistical analysis showed significant DNA damage in the VV genotype when compared with the AA + AV genotype in the group with epilepsy [ $F(1.64) = 13.99$ ,  $p < 0.0001$ ; AA + AV epilepsy vs. VV:  $q = 7.974$ ]. There was also increased DNA damage in the group with epilepsy compared with the control group [ $F(1.64) = 191.8$ ,  $p < 0.0001$ ; AA + AV: Control vs. AA + AV:  $q = 11.03$ ; VV: control vs. VV:  $q = 16.26$ ] (Fig. 6C).

### 3.3.5. Oxidative stress markers

Within the group with epilepsy, there were no statistically significant differences in carbonyl protein levels between VV genotype and AA + AV genotype [ $F(1.61) = 0.52$ ,  $p = 0.41$ ]. On the other hand, carbonyl protein levels were significantly higher in the group with epilepsy compared with the control group [ $F(1.61) = 23.85$ ,  $p < 0.0001$ ; control vs. AA + AV:  $q = 6.84$ ; control vs. VV:  $q = 10.1$ ] (Fig. 7A).

The TBARS levels were significantly higher in the group with epilepsy compared with the control group [ $F(1.42) = 6.261$ ,  $p < 0.01$ ]. Post hoc analysis showed: control vs. AA + AV epilepsy:  $q = 4.64$ ,  $p < 0.01$ ; control vs. VV epilepsy:  $q = 4.02$ ;  $p < 0.05$ ] (Fig. 7B).

In the group with epilepsy, statistical analysis showed significantly higher SOD activity levels in individuals with the VV genotype

compared with the AA + AV genotype [ $F(1.37) = 11.35$ ,  $p = 0.0018$ ]. Furthermore, SOD activity levels were significantly higher in the group with epilepsy than the control group [ $F(1.37) = 529.1$ ,  $p < 0.0001$ ; AA + AV: control vs. AA + AV:  $q = 17.83$ ; VV: control vs. VV:  $q = 16.02$ ] (Fig. 7C).

## 4. Discussion

For the first time, we showed the association of MnSOD Ala16Val polymorphism with cognitive impairment, including praxis, perception, attention, language, executive functions, long-term semantic memory, short-term visual memory, and total memory in patients with epilepsy, especially with the VV genotype. Interestingly, our results are in accordance with other studies that reported cognitive impairment in patients with epilepsy [14,16,25,26] and patients with stroke VV with MnSOD Ala16Val polymorphism [27].

Furthermore, our findings are also similar concerning the cognitive dysfunction described by Buchmann et al. [28], who found that patients who are VV carriers for M129V polymorphism had long-term memory impairment. Another study showed that the early age of onset of seizures is associated with visual memory deficits, while long durations of epilepsy are related to lower scores in verbal memory [25], corroborating with the present data since our patients demonstrated cognitive impairment and diagnostic of long-term epilepsy.

In addition, attention is another function that some studies have sought to evaluate [18] since complaints of attention are common in patients with epilepsy [16]. Therefore, our results corroborate the literature, since the patients with epilepsy presented decline in attention.

Alterations in language in patients with epilepsy are another symptom that instigates investigation. The patients of this study presented lower language ability than their healthy counterparts. According to the data previously mentioned, patients with epilepsy may have subtle

## ARTICLE IN PRESS

J. Arend et al. / *Epilepsy & Behavior* 112 (2020) 107346

7

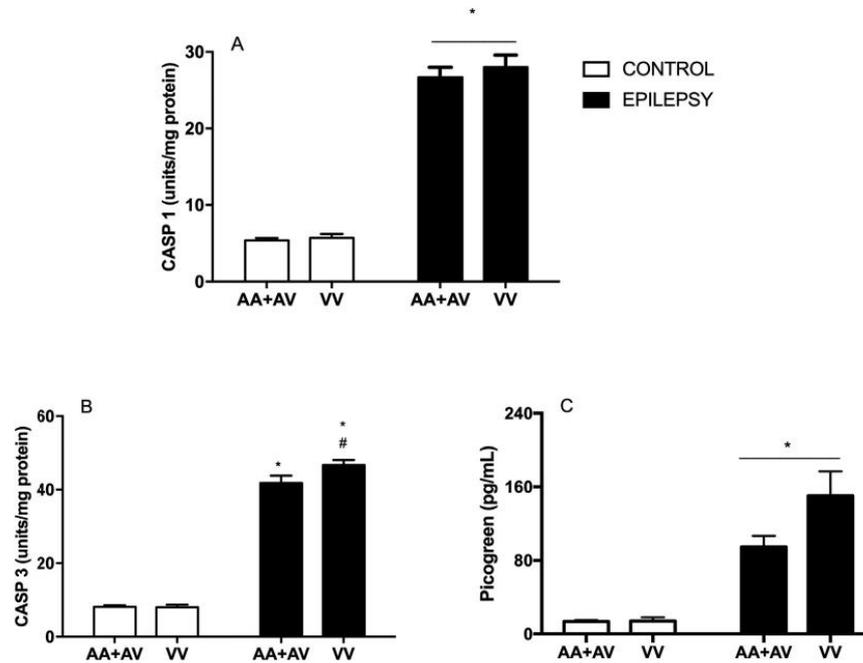


Fig. 6. Relation of Ala16ValMnSOD polymorphism with CASP-1 (A), CASP-3 (B), and Picogreen (C). Statistical analysis was significant if \* $p < 0.05$  when the groups with VV and AA + AV epilepsy were compared with the respective control group and # $p < 0.05$  when the group with VV epilepsy was compared with the group with AA + AV epilepsy.

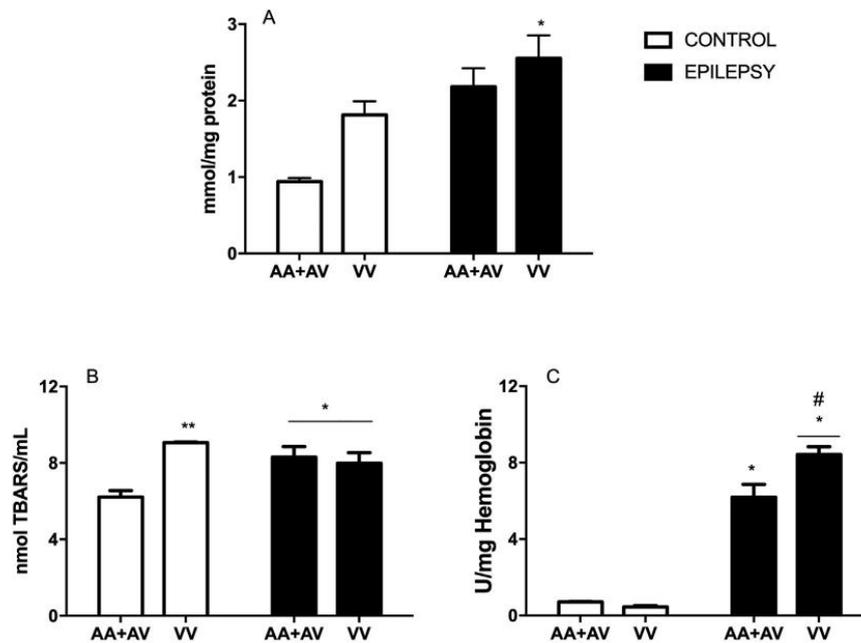


Fig. 7. Relationship of Ala16ValMnSOD polymorphism with carbonyl protein (A), TBARS levels (B), and (C) superoxide dismutase activity. Statistical analysis was significant if (A) \* $p < 0.05$  when the group with VV epilepsy was compared with the respective control group, (B) \* $p < 0.05$  when the groups with VV and AA + AV epilepsy were compared with the respective control group; \*\* $p < 0.05$  when the VV control group was compared with the AA + AV control group, and (C) \* $p < 0.05$  when the group with VV and AA + AV epilepsy were compared with the respective control group and # $p < 0.05$  when the group with VV epilepsy was compared with the group with AA + AV epilepsy.

Please cite this article as: J. Arend, A. Kegler, A.L.F. Caprara, et al., MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with ..., *Epilepsy & Behavior*, <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107346>

language changes [29]. Language problems and seizures have also been related to changes in the SRPX2 gene, suggesting the involvement of genetic alterations in epilepsy [30].

Interestingly, we also found that patients with epilepsy and the VV genotype presented lower scores in long-term semantic memory, short-term visual memory, total memory, and perception tests. In fact, Holmes et al. [31] reported that patients with intractable seizures had lower visual memory, attention, problem solving, and perception tests, whereas their intelligence quotient (IQ) did not change. According to Sidhu et al. [32], the temporal lobe of patients with epilepsy carrying the Met allele performed more poorly in memory and language tasks than Val/Val patients, possibly indicating a role of genetic factors in cognitive impairment in epilepsy [32].

Studies have also reported that comorbidities and complications of epilepsy, including intellectual disability, may also be related to cytokine pathways [18,33,34]. Here, we found that inflammation and oxidative markers were abnormal in the group with epilepsy, especially in the VV genotype. Compared with the controls and patients with epilepsy with AA and AV genotype, patients with epilepsy, and the VV genotype exhibited abnormalities in TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, CASP-1, and CASP-3 as well as PG, SOD, and AChE activities. These measures were chosen for examination because they are associated with cognitive functions in the general population or represent interesting factors in other neurological disorders [27,35].

Research has demonstrated that AChE has an important role in immune responses by rapidly hydrolyzing acetylcholine (ACh) [36], which is known to have antiinflammatory characteristics and suppress proinflammatory cytokine production [37,38]. Here, AChE activity increased in patients with epilepsy and the VV genotype. According to our data, studies have also reported increased AChE activity in patients with intractable epilepsy [39] and that the loss of cholinergic neurons is associated with the occurrence of seizures and cognitive deficit in some congenital diseases [40]. However, we cannot rule out the possibility that increased cholinesterase activity may lead to lower ACh levels, thus contributing to the proinflammatory status of patients. Although the role of the cholinergic system in epilepsy is still unclear, our findings suggest that AChE may antagonize vagal cholinergic signaling at the macrophage level [41,42], promoting a systemic inflammatory effect (increased TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) and apoptotic response (CASP-1 and -3 activation). In fact, cytokine levels may exacerbate the ligation to their receptors and lead to caspases activation, such as CASP-1 [43,44]. Caspase-1 may initiate the apoptotic process and induce higher mitochondrial reactive species, leading to CASP-3 activation, DNA damage [18,23,27], and cognitive decline, as observed in the present study.

Another important point is that the presence of Val allele of MnSOD may impair its ability to scavenge O $_2^-$  radicals, which may increase ROS generation. Although we found higher MnSOD activity in patients with epilepsy, our data demonstrated a higher proportion of V allele carriers in this population, suggesting that Val-MnSOD may be less efficient than Ala-MnSOD to control redox and inflammatory status [18,23,27]. Furthermore, the MnSOD expression is upregulated in inflammation sites by both ROS and proinflammatory mediators, such as IL-1 $\beta$  [45]. This contributes to the understanding that the presence of Val allele affects the cellular action of MnSOD, compromising its mitochondrial function. Therefore, considering the molecular changes mentioned above, it is plausible to suggest that they may be associated with cognitive deficit in epilepsy.

Reinforcing what was previously described, one of the hypotheses that explains cognitive dysfunctions, such as memory impairment, includes changes in gene expression, epigenetic effects of seizures [30], remodeling of the immunological system, and activation of inflammatory markers [7,33]. Data in the literature have estimated that genetic factors account for approximately 50% of the variability in human memory capacity [10] and impairment of cognition in epilepsy may likely be a consequence of interacting genetic, epigenetic, developmental, and environmental factors [32].

Finally, there are several important considerations to acknowledge regarding our methodological design. This study investigated the possible interaction between MnSOD Ala16Val polymorphism, cognitive impairment, inflammatory, and oxidative stress parameters. As these conditions are influenced by many factors, for this study, we chose to exclude subjects with diseases and dysfunctions that may influence the oxidative and inflammatory parameters analyzed here, which is the reason for the small number of participants. However, it is important to note that surprisingly, despite our small cohort, our results show a strong statistical difference between the group with epilepsy and the control group, suggesting that there may be a relationship between MnSOD Ala16Val polymorphism, cognitive dysfunction, inflammation, and oxidative stress in patients with epilepsy.

## 5. Conclusion

Despite our small cohort, the results showed significant differences between the group with epilepsy and the control group. This is a preliminary report and, to our knowledge, it is the first study of an association between the role of Ala16ValMnSOD polymorphism in neuropsychological status and its association with oxidative and inflammatory markers in patients with epilepsy. Therefore, since patients with epilepsy (VV genotype) have less MnSOD efficiency, they may be more susceptible to presenting inflammatory dysfunctions and intellectual deficits. However, this proposal is speculative and further research is required to investigate this relation in a larger population.

## Funding

This work was supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) [grant number 500120/2003-0].

## Declaration of competing interest

None.

## References

- [1] Fisher RS, Cross JH, D'souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*. 2017;58:531–42. <https://doi.org/10.1111/epi.13671>.
- [2] Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55:475–82. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>.
- [3] Guerreiro CAM, Guerreiro MM. *Epilepsia: o paciente otimamente controlado*. São Paulo: Lemos Editorial Ltda; 1999.
- [4] Thurman DJ, Beghi E, Begley CE, Berg AT, Buchhalter JR, Ding D, et al. Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52:2–26. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2011.03121.x>.
- [5] Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*. 1998;1:623–34. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(88\)90162-6](https://doi.org/10.1016/0896-6273(88)90162-6).
- [6] Vezzani A, Ravizza T, Balosso S, Aronica E. Glia as a source of cytokines: implications for neuronal excitability and survival. *Epilepsia*. 2008;49:24–32. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01490.x>.
- [7] Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. *Nat Rev Neurol*. 2011;7(1):31–40. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.178>.
- [8] Li C, Zhou HM. The role of manganese superoxide dismutase in inflammation defense. *Enzyme Res*. 2011;387176. <https://doi.org/10.4061/2011/387176>.
- [9] Sutton A, Imbert A, Igoudjil A, Descatoire V, Cazanave S, Pessayre D, et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15:311–9.
- [10] McClearn GE, Johansson B, Berg S, Pedersen NL, Ahern F, Pettrill SA, et al. Substantial genetic influence on cognitive abilities in twins 80 or more years old. *Science*. 1997;276:1560–3. <https://doi.org/10.1126/science.276.5318.1560>.
- [11] Hermann BP, Sager MA, Koscik RL, Young K, Nakamura K. Vascular, inflammatory, and metabolic factors associated with cognition in aging persons with chronic epilepsy. *Epilepsia*. 2017;58:e152 e6 <https://doi.org/10.1111/epi.13891>.
- [12] Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol*. 2011;10:819–28. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70072-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70072-2).
- [13] Bresciani G, Cruz I, De Paz J, Cuevas M, González-Gallego J. The MnSOD Ala16Val SNP: relevance to human diseases and interaction with environmental factors. *Free Radic Res*. 2013;47:781–92. <https://doi.org/10.3109/10715762.2013.836275>.

Please cite this article as: J. Arend, A. Kegler, A.L.F. Caprara, et al., MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with ..., *Epilepsy & Behavior*, <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107346>

## ARTICLE IN PRESS

J. Arend et al. / *Epilepsy & Behavior* 112 (2020) 107346

9

- [14] Cramer JA, French J. Quantitative assessment of seizure severity for clinical trials: a review of approaches to seizure components. *Epilepsia*. 2001;42:119–29. <https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2001.19400.x>.
- [15] Raven J, Court JH. Raven manual: section 3. Standard progressive matrices. Oxford, England: Oxford Psychologists Press; 2008.
- [16] Arend J, Kegler A, Caprara ALF, Almeida C, Gabbi P, Pascotini ET, et al. Depressive, inflammatory, and metabolic factors associated with cognitive impairment in patients with epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2018;86:49–57. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2018.07.007>.
- [17] Fonseca R, Salles J, Parente M. Instrumento de avaliação neuropsicológica breve. Vetor Editora: NEUPSILIN; 2009.
- [18] Kegler A, Cardoso AS, Caprara ALF, Pascotini ET, Arend J, Gabbi P, et al. Involvement of MnSOD Ala16Val polymorphism in epilepsy: a relationship with seizure type, inflammation, and metabolic syndrome. *Gene*. 2019;711:143924. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.06.014>.
- [19] Há TTN, Huy NT, Murao LA, Lan NTP, Thuy TT, Tuan HM, et al. Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. *PLoS One*. 2011;6(10):259–69. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025969>.
- [20] Jentsch AM, Bachmann H, Fürst P, Biesalski HK. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Radic Biol Med*. 1996;20:251–6. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02043-8](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02043-8).
- [21] Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz A, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol*. 1990;186:464–78. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86141-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86141-H).
- [22] Flores AE, Pascotini ET, Kegler A, Gabbi P, Bochi GV, Barbisani F, et al. ALA16VAL-MnSOD gene polymorphism and stroke: association with dyslipidemia and glucose levels. *Gene*. 2017;627:57–62. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.05.055>.
- [23] Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000;405:458–62. <https://doi.org/10.1038/35013070>.
- [24] Tauber M, Peres A, de Andrade VM, de Oliveira G, Sá C, do Canto MEP, et al. Is the Val16Gala manganese superoxide dismutase polymorphism associated with the aging process? *J Gerontology Series A*. 2005;60:432–8. <https://doi.org/10.1093/gerona/60.4.432>.
- [25] Stella F. Memory disorders in epileptic patients. *Arq Neuropsiquiatr*. 1999;57:415–20. <https://doi.org/10.1590/S0004-282X1999000300012>.
- [26] Chee LY, Cumming A. Polymorphisms in the cholinergic receptors muscarinic (CHRM2 and CHRM3) genes and Alzheimer's disease. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2018;10:196–9.
- [27] Pascotini ET, Flores AE, Kegler A, Konzen V, Fornari AL, Arend J, et al. Brain-derived neurotrophic factor levels are lower in chronic stroke patients: a relation with manganese-dependent superoxide dismutase ALA16VAL single nucleotide polymorphism through tumor necrosis factor- $\alpha$  and caspases pathways. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2018;27:3020–9. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.06.032>.
- [28] Buchmann A, Mondadori CR, Hänggi J, Aerni A, Vrticka P, Luechinger R, et al. Prion protein M129V polymorphism affects retrieval-related brain activity. *Neuropsychologia*. 2008;46:2389–402. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.03.002>.
- [29] Lee GP. *Neuropsychology of epilepsy and epilepsy surgery*. 613 New York: Oxford; 2010.
- [30] Schirwani S, McConnell V, Willoughby J, Study D, Balasubramanian M. Exploring the association between SRPX2 variants and neurodevelopment: how causal is it? *Gene*. 2018;685:50–4. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.10.067>.
- [31] Holmes MD, Dodrill CB, Wilkus RJ, Ojemann LM, Ojemann LM, Ojemann GA. Is partial epilepsy progressive? Ten-year follow-up of EEG and neuropsychological changes in adults with partial seizures. *Epilepsia*. 1998;39:1189–93. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1998.tb01310.x>.
- [32] Sidhu MK, Thompson PJ, Wandschneider B, Foulkes A, de Tisi J, Stretton J, et al. The impact of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism on cognition and functional brain networks in patients with intractable partial epilepsy. *CNS Neurosci Ther*. 2019;25:223–32. <https://doi.org/10.1111/cns.13003>.
- [33] Carmeli E, Beiker R, Morad M. Nitric oxide and interleukin-6 levels in intellectual disability adults with epilepsy. *Res Dev Disabil*. 2009;30:567–71. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2008.08.004>.
- [34] Hermann BP, Sager MA, Kosciak RL, Young K, Nakamura K. Vascular, inflammatory, and metabolic factors associated with cognition in aging persons with chronic epilepsy. *Epilepsia*. 2017;58:e152 e6. <https://doi.org/10.1111/epi.13891>.
- [35] Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol*. 2011;10:819–28. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70072-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70072-2).
- [36] Kaufer D, Friedman A, Seidman S, Soreq H. Acute stress facilitates long-lasting changes in cholinergic gene expression. *Nature*. 1998;393:373–7. <https://doi.org/10.1038/30741>.
- [37] Vezzani A, Granata T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia*. 2005;46:1724–43. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00298.x>.
- [38] Kawashima K, Fujii T. The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity. *Life Sci*. 2003;74:675–96. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.037>.
- [39] Kish SJ, Olivier A, Dubeau F, Robitaille Y, Sherwin AL. Increased activity of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase in actively epileptic human cerebral cortex. *Epilepsy Res*. 1988;2:227–31. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(88\)90012-5](https://doi.org/10.1016/0920-1211(88)90012-5).
- [40] Holmes GL. Cognitive impairment in epilepsy: the role of network abnormalities. *Epilepsy Disord*. 2015;17(2):101–16. <https://doi.org/10.1684/epd.2015.0739>.
- [41] Ofek K, Krabbe KS, Evron T, Debecco M, Nielsen AR, Brunnsgaard H, et al. Cholinergic status modulations in human volunteers under acute inflammation. *J Mol Med*. 2007;85:1239–51. <https://doi.org/10.1007/s00109-007-0226-x>.
- [42] Shaked I, Meerson A, Wolf Y, Avni R, Greenberg D, Gilboa-Geffen A, Soreq H. MicroRNA-132 potentiates cholinergic anti-inflammatory signaling by targeting acetylcholinesterase. *Immunity* 2009;31:965–73 cover. Accompanied by preview O'Neil, LAJ. (2009) Boosting the brain's ability to block inflammation via microRNA-132. *Immunity* 2009;31:854–5. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.11.004>.
- [43] Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*. 2003;114(2):181–90. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00521-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00521-x).
- [44] Schneider-Brachert W, Tchikov V, Neumeyer J, Jakob M, Winoto-Morbach S, Held-Feindt J, et al. Compartmentalization of TNF receptor 1 signaling: internalized TNF receptors as death signaling vesicles. *Immunity*. 2004;21(3):415–28. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.08.017>.
- [45] Wong G, Goeddel DV. Induction of manganese superoxide dismutase by tumor necrosis factor: possible protective mechanism. *Science*. 1988;242:941–4. <https://doi.org/10.1126/science.3263703>.

Please cite this article as: J. Arend, A. Kegler, A.L.F. Caprara, et al., MnSOD Ala16Val polymorphism in cognitive dysfunction in patients with epilepsy: A relationship with ..., *Epilepsy & Behavior*, <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.107346>

## 4 DISCUSSÃO

No presente estudo foi descrito, inicialmente, um pior desempenho nos testes neurocognitivos nos pacientes com epilepsia, associado a marcadores glicolipídicos, inflamatórios e apoptóticos. Posteriormente, foi investigada a influência do polimorfismo da MnSOD Ala16Val no comprometimento da memória, praxias, orientação têmporo-espacial percepção, linguagem, funções executivas e atenção, assim como nos parâmetros inflamatórios, apoptóticos e de estresse oxidativo nos pacientes com epilepsia. Os pacientes com o genótipo VV apresentaram um maior comprometimento da memória, maior ativação das caspases, dano ao DNA e maior atividade da AChE, sugerindo que esse polimorfismo pode ser um fator agravante da doença nessa população.

De acordo com Kurzbuch *et al.* (2013), as crises epilépticas podem influenciar várias funções cognitivas e uma delas é a memória de curto e longo prazo, assim como a memória total, tendo efeitos negativos no funcionamento diário do indivíduo. Tais disfunções cognitivas podem ser permanentes, correspondendo à lesão ou à localização focal, como o mau desempenho da memória verbal em pacientes com epilepsia do lobo temporal esquerdo. De acordo, pacientes com epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM) frequentemente apresentam alteração de memória, visto que o foco epileptogênico está localizado na área mais relacionada às funções de memória (hipocampo) (PORTUGUEZ, 1998).

Outros fatores que parecem estar associados à disfunção cognitiva são as alterações no metabolismo glicolipídico. No presente estudo, foi encontrado um perfil metabólico desfavorável nos pacientes com epilepsia, como níveis elevados de CHO total, LDL, TG e GLU. Corroborando com essas informações, um estudo transversal de pacientes com epilepsia e tratados com anticonvulsivantes encontrou um perfil glicolipídico semelhante ao do atual estudo quando comparado com indivíduos saudáveis (KAWASHIMA; FUJII, 2000). Além disso, foi encontrada uma correlação negativa entre o perfil glicolipídico e as funções cognitivas: CHO vs. linguagem total, TG vs. memória semântica, TG vs. memória prospectiva, TG vs. memória total e GLU vs. atenção total. Esses dados estão de acordo com o estudo de Hermann *et al.* (2017) que mostraram uma relação entre disfunção cognitiva e as anormalidades metabólicas, inflamatórias e vasculares em idosos com epilepsia crônica.

Interessantemente, outros fatores também podem estar relacionados às alterações cognitivas, como, por exemplo, a influência de fatores genéticos. Dessa maneira, em um segundo momento, foi investigado o papel do polimorfismo genético da MnSOD Ala16Val no desempenho cognitivo e nos parâmetros inflamatórios e oxidativos em pacientes com epilepsia. Os presentes resultados mostraram que pacientes com o genótipo VV apresentaram um maior comprometimento nos testes cognitivos, como os de memória semântica de longo prazo, visual de curto prazo, prospectiva e total.

Os estudos de Buchmann *et al.* (2008) também mostraram que pacientes com epilepsia com genótipo VV para o polimorfismo M129V apresentaram comprometimento da memória a longo prazo. Outro estudo também mostrou que a idade precoce do início das convulsões está associada a déficits de memória visual, bem como a longa duração da epilepsia está relacionada a menores escores na memória verbal, infelizmente esse estudo não avaliou a presença de polimorfismos genéticos (STELLA, 1999).

Além disso, a atenção é outra função que alguns estudos têm procurado avaliar, dado que queixas de prejuízo na atenção são comuns em pacientes com epilepsia (WITT; HELMSTAEDTER, 2015). Nesse sentido, os atuais resultados corroboram com a literatura, visto que os pacientes com epilepsia apresentaram atenção prejudicada. Interessantemente, Holmes *et al.* (1998) revelaram que pacientes com crises convulsivas intratáveis apresentavam menor memória visual, atenção, resolução de problemas e testes de percepção, enquanto o QI não se alterava.

Alterações na linguagem em pacientes com epilepsia também são outro sintoma que instiga a investigação. Os pacientes deste estudo apresentaram menor capacidade de linguagem do que indivíduos saudáveis. De acordo com o que foi mencionado anteriormente, pacientes com epilepsia podem ter alterações sutis de linguagem (LEE, 2010). Problemas de linguagem e convulsões também têm sido relacionados a alterações no gene SRPX2 (SCHIRWANI *et al.*, 2019), assim como pacientes com epilepsia do lobo temporal, portando o alelo Met, tiveram um desempenho pior nas tarefas de memória e linguagem do que os pacientes Val/Val, indicando um papel de fatores genéticos no comprometimento cognitivo na epilepsia (SIDHU *et al.*, 2019).

Adicionalmente, pesquisas ainda mostram evidências que pacientes com epilepsia podem ter alterações neuropsicológicas, sociais e psiquiátricas significativas, as quais podem reduzir as taxas de casamento, limitar empregos e diminuir a qualidade de vida dessa população (BRODIE, 2005; HOLMES *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Nesse sentido, os dados da literatura sugerem que distúrbios psiquiátricos ocorrem em 20 a 40% dos pacientes com epilepsia, com uma incidência ainda maior em pacientes com epilepsia do lobo temporal (ELT) e com epilepsia refratária (HOLMES *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2015). Entretanto, desde que a maioria dos estudos se concentrou na relação entre epilepsia e depressão, há uma falta de dados epidemiológicos sobre a associação entre esses dois fatores na depressão em geral (CHIN; SCHARFMAN, 2013; KUO *et al.*, 2005).

Em relação aos resultados encontrados, os estudos mostram que 65,6% dos pacientes com epilepsia apresentam diferentes níveis de depressão. Uma das hipóteses para explicar essa associação é a neuroinflamação, desde que alguns autores já mostraram que as comorbidades e complicações da epilepsia, como a depressão e deficiência intelectual, podem estar relacionadas à via das citocinas (WITT; HELMSTAEDTER, 2015; LEE 2010). Dessa maneira, é concebível que processos inflamatórios, que são desencadeados no cérebro por um insulto epileptogênico, possam levar ao desenvolvimento de anormalidades neuropsiquiátricas, incluindo a depressão (VON EHRENSTEIN *et al.*, 2012). Outro ponto interessante neste estudo foi a correlação negativa entre a depressão e o teste de orientação espaço-temporal. Pesquisas mostraram uma taxa mais alta de depressão (NOEBELS, 2012) e comprometimento da orientação temporo-espacial em pacientes com epilepsia, sugerindo que esses eventos clínicos podem estar associados (GAITATZIS *et al.*, 2004).

A inflamação cerebral tem sido associada à fisiopatologia de vários sintomas neurocognitivos. Dessa maneira, é aceitável que eventos inflamatórios possam levar ao desenvolvimento de anormalidades cognitivas (HERMANN *et al.*, 2017).

Neste estudo, foi observado que marcadores inflamatórios e oxidativos estavam alterados nos pacientes com epilepsia, principalmente naqueles com genótipo VV. Comparados aos controles e pacientes com epilepsia com genótipo AA e AV, os pacientes com epilepsia com genótipo VV exibiram maiores alterações em relação ao dano no DNA e CASP 3, bem como nas atividades da SOD e AChE. Essas medidas foram escolhidas para avaliação porque estão associadas a funções

cognitivas na população em geral ou representam fatores associados a outras doenças neurológicas (BARNES; YAFFE, 2011; PASCOTINI *et al.*, 2018).

Os principais processos mitocondriais incluem a produção de mais de 90% de trifosfato de adenosina (ATP) na cadeia de transferência de elétrons, entre outros (WATTS *et al.*, 2013). No entanto, durante a respiração mitocondrial, os complexos I e III são responsáveis por pela produção do íon superóxido ( $O_2^-$ ), o primeiro ROS produzido. Embora os ROS apresentem funções fisiológicas relevantes, o aumento das concentrações, que levam ao estresse oxidativo, tem sido relacionado a várias condições patológicas (SIMS; MUYDERMAN, 2010) como a epilepsia (TERRONE *et al.*, 2019).

Normalmente, o  $O_2$ , após sua utilização na fosforilação oxidativa à nível mitocondrial, é reduzido à  $H_2O$ , contudo, reduções parciais de  $O_2$ , levam à formação de EROs, como  $O_2^-$ , o  $H_2O_2$  e o  $OH^-$  e ERNs, como o  $ONOO^-$  pela reação com óxido nítrico (NO) (HEEBA; EI-HANAFY, 2012). Isso ocorre principalmente devido ao cérebro ser especialmente propenso a danos mediados pelas espécies reativas, que está relacionado ao alto consumo de  $O_2$ , ácidos graxos poli-insaturados e à redução das defesas antioxidantes (LESZEK *et al.*, 2016). Nesse interim, estudos mostram que a falência das defesas antioxidantes, como a MnSOD, agrava o dano cerebral após insulto isquêmico (HUANG *et al.*, 2012) e o polimorfismo MnSOD Ala16Val está associado a um risco aumentado de lesão cerebral.

De fato, os atuais achados corroboram com a idéia que o polimorfismo da MnSOD está relacionado com condições patológicas do SNC, como a epilepsia, uma vez que o genótipo VV dos pacientes, está associado a um aumento do dano oxidativo e inflamatório. Desse modo, é possível sugerir que o acúmulo de  $O_2$  pode conduzir a uma desestabilização mitocondrial, ativação da via inflamatória e da cascata de apoptose celular (WATTS *et al.*, 2013). Na verdade, as mudanças na estabilidade mitocondrial, resultando na liberação de proteínas, são fundamentais para a ativação da via intrínseca apoptótica. No cérebro, essas proteínas levam à ativação de caspase -1 e -3 que, por sua vez, induz a danos celulares, tais como a fragmentação do DNA (GALLUZZI *et al.*, 2009; KROEMER; GALLUZZI; BRENNER, 2007). Além disso, os ânions ativam as caspases em vários tecidos (CONDE DE LA ROSA *et al.*, 2006, PARK *et al.*, 2010) e têm a sua atividade inibida pela ação da SOD.

No presente estudo, observou-se, principalmente, o aumento da caspase-3 em pacientes VV, provavelmente devido a uma desestabilização mitocondrial e um

aumento na liberação de fatores inflamatórios, o que pode provocar danos nas células e induzir a apoptose (CERNE *et al.*, 2011). A neuroinflamação tem sido descrita tanto como causa quanto consequência da epilepsia (DEY *et al.*, 2016). Estudos descrevem um aumento da expressão de IL-1 $\beta$  e IL-6 e TNF- $\alpha$  em diferentes áreas cerebrais de modelos experimentais de convulsão, tanto na geração como na propagação das crises epiléticas (VEZZANI *et al.*, 2008). As citocinas sintetizadas relacionam-se à disfunção astrocitária e à hiperexcitabilidade neuronal, sendo alguns dos processos que podem contribuir para a geração de convulsões e disfunções neurológicas (VEZZANI; VIVIANE, 2015).

Igualmente, a apoptose também está relacionada à epilepsia (BENGZON *et al.*, 2002). O início da via apoptótica pode ocorrer através de mediadores inflamatórios, que, através da sequência da cascata da apoptose, irá culminar na ativação da caspase-3. Neste estudo, os resultados demonstraram o aumento de níveis de citocinas inflamatórias IL-1 $\beta$  e IL-6 e TNF- $\alpha$  e marcadores apoptóticos como a caspase -1 e -3 no grupo epilepsia quando comparado ao grupo controle. Interessantemente, após análise e relação com os genótipos (AA, AV e VV) do polimorfismo Ala16ValMnSOD, observou-se um aumento significativo da caspase 3 no grupo epilepsia com o genótipo VV. Achados clínicos e experimentais suportam o envolvimento significativo de processos inflamatórios e apoptóticos na epilepsia (AREND *et al.*, 2018; VEZZANI; GRANATA, 2005), uma vez que as citocinas têm uma síntese mais alta durante a atividade epilética (CHOI; SOOKYONG, 2008).

Ademais, outro fator interessante em relação à inflamação é o papel da acetilcolinesterase (AChE) (NIZRI *et al.*, 2006). Essa enzima desempenha um papel importante nas respostas imunes pela rápida hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh), que é conhecido por suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias (BOROVIKOVA *et al.*, 2000; KAWASHIMA; FUJII, 2003). Neste estudo, observou-se o aumento da atividade da AChE em pacientes com epilepsia, sugerindo que essa alteração pode levar à diminuição dos níveis de ACh, contribuindo para o estado pró-inflamatório.

Kist *et al.* (1988), em seu estudo, verificaram o aumento da atividade da AChE em pacientes após lobectomia temporal para epilepsia intratável. Outro importante resultado encontrado no atual estudo foi os níveis aumentados de proteína carbonil e TBARS em pacientes com epilepsia, assim como o aumento da atividade antioxidante da SOD corroborando com estudos previamente publicados (IZUO *et al.*, 2015;

MENON; RAMALINGAM; KUMAR, 2012). A excitotoxicidade produzida pelas convulsões, com conseqüente produção de radicais livres, pode levar ao aumento do processo inflamatório, é uma hipótese possível para os resultados descritos acima (DEY *et al.*, 2016).

Além disso, outra explicação que pode ser relevante é que o genótipo VV apresenta um estrutura  $\beta$ -lâmina, conseqüentemente dificultando o transporte da isoforma MnSOD-Val para o espaço mitocondrial. Nesse sentido, a atividade antioxidante é reduzida, favorecendo o aumento da geração de espécies reativas (ROSENBLUM; GILULA; LERNER, 1996) e contribuindo para a manutenção do estado inflamatório na epilepsia. Além de evidências clínicas e experimentais que sugerem o envolvimento de processos inflamatórios na fisiopatologia da epilepsia, as disfunções cognitivas também estão presentes na vida desses pacientes.

Assim sendo, informações sobre os genótipos deste polimorfismo podem ajudar no esclarecimento sobre o tipo e a magnitude das conseqüências clínicas e contribuir com um tratamento individualizado mais adequado aos pacientes com epilepsia.

## 5 CONCLUSÃO

Este estudo evidência um pior desempenho neuropsicológico nos pacientes com epilepsia. Além disso, os achados sugerem que as alterações neuropsiquiátricas, descritas neste trabalho, podem estar relacionadas as vias inflamatórias, apoptóticas e ao perfil glicolipídico. Os presentes resultados também sugerem que o polimorfismo na MnSOD Ala16Val pode ter uma relação com a piora no desempenho dos testes cognitivos, assim como, com um aumento nos parâmetros inflamatórios e oxidativos, sugerindo a influência dos fatores genéticos na fisiopatologia da epilepsia.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTINI, R.; MORATTI, R.; DE LUCA, G. Oxidation of low-density lipoprotein in atherosclerosis from basic biochemistry to clinical studies. **Current Molecular Medicine**, [S. l.], v. 2, n. 6, p. 579-592, set. 2002.
- ALLERS, K. *et al.* The economic impact of epilepsy: a systematic review. **BMC Neurology**, [S. l.], v. 15, p. 245, nov. 2015.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (APA). **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. 5. ed. Washington: American Psychiatric Association, 2015.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION (APA). **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais (DSM-5)**. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- ANTONIUK, S. A. Epilepsia na infância e adolescência. *In*: VALIATI, M. R.M. S. *et al.* (Orgs.). **Desenvolvimento da criança e do adolescente: avaliação e intervenção**. 1. ed. Curitiba: Íthala, 2011. p. 85-95.
- ARDILA, A.; ROSSELLI, M. **Neuropsicologia clínica**. Cuauhtémoc: Manual Moderno, 2007. 522p.
- AREND, J. *et al.* Depressive, inflammatory and metabolic factors associated with cognitive impairment in the epilepsy patients. **Epilepsy & Behavior**, [S. l.], v. 86, p. 49-57, set. 2018.
- ASCENCIO-MONTIEL, I. J. *et al.* SOD2 gene Val16Ala polymorphism is associated with macroalbuminuria in Mexican Type 2 Diabetes patients: a comparative study and meta-analysis. **BMC Medical Genetics**, [S. l.], v. 14, p. 110, out. 2013.
- ASHLEY, N. T.; WEIL, Z. M.; NELSON, R. J. Inflammation: mechanisms, costs, and natural variation. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, [S. l.], v. 43, p. 385-406, dez. 2012.
- ASHRAFI, M. R. *et al.* The efficacy of the ketogenic diet in infants and Young children with refractory epilepsies using a formula-based poder. **Acta Neurologica Belgica**, [S. l.], v. 117, n. 1, p. 175-182, mar. 2017.
- BAIROVA, T. A. *et al.* Lipid Peroxidation and Mitochondrial Superoxide Dismutase-2 Gene in Adolescents with Essential Hyperten. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, [S. l.], v. 158, n. 2, p. 181-184, dez. 2014.
- BAKER, G. A.; TAYLOR, J.; HERMANN, B. How can cognitive status predispose to psychological impairment? **Epilepsy & Behavior**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. S31-S35, jun. 2009.
- BALOSSO, S. *et al.* The dual role of TNF- $\alpha$  and its receptors in seizures. **Experimental Neurology**, Amsterdam, v. 247, p. 267-271, set. 2013.

BARBIZET, J.; DUIZABO, P. **Manual de neuropsicologia**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1985. 160p.

BARNES, D. E.; YAFFE, K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. **Lancet Neurology**, [S. l.], v. 10, n. 9, p. 819-828, set. 2011.

BATTISTI, V. *et al.* Measurement of oxidative stress and antioxidant status in acute lymphoblastic leukemia patients. **Clinical Biochemistry**, [S. l.], v. 41, n. 7-8, p. 511-518, mai. 2008.

BELDA-LOIS, J. M. *et al.* Rehabilitation of gait after stroke: a review towards a top-down approach. **Journal of Neuroengineering and Rehabilitation**, [S. l.], v. 8, p. 66, dez. 2011.

BELL, G. S.; NELIGAN, A.; SANDER, J. W. An unknown quantity: the worldwide prevalence of epilepsy. **Epilepsia**, [S. l.], v. 55, n. 7, p. 958-962, jun. 2014.

BENGZON, J. *et al.* Neuronal apoptosis after brief and prolonged seizures. **Progress in Brain Research**, [S. l.], v. 135, p. 111-119, 2002.

BERG, A. T. *et al.* Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. **Epilepsia**, [S. l.], v. 51, n. 4, p. 676-685, abr. 2010.

BERG, K. K. *et al.* The additive contribution from inflammatory genetic markers on the severity of cardiovascular disease. **Scandinavian Journal of Immunology**, [S. l.], v. 69, n. 1, p. 36-42, jan. 2009.

BICA, C. G. *et al.* Polymorphism (ALA16VAL) correlates with regional lymphnode status in breast cancer. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, [S. l.], v. 196, n. 2, p. 153-158, jan. 2010.

BLOCK, M. L.; ZECCA, L.; HONG, J. S. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 57-69, jan. 2007.

BLUME, W. T. *et al.* Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. **Epilepsia**, [S. l.], v. 42, n. 9, p. 1212-1218, set. 2001.

BOHNI, P. C.; DAUM, G.; SCHATZ, G. Import of proteins into mitochondria. Partial purification of a matrix-located protease involved in cleavage of mitochondrial precursor polypeptides. **Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 258, n. 8, p. 4937-4943, abr. 1983.

BOLETI, A. P. A. *et al.* Pouterin, a novel potential cytotoxic lectin-like protein with apoptosis-inducing activity in tumorigenic mammalian cells. **Toxicon**, Oxford, v. 51, n. 8, p. 1321-1330, 2008.

BOROVIKOVA, L. V. *et al.* Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. **Nature**, [S. l.], v. 405, n. 6785, p. 458-462, mai. 2000.

BOUTIN, H. *et al.* The expanding interleukin-1 family and its receptors; do alternative IL-1 receptor/signaling pathways exist in the brain? **Molecular Neurobiology**, [S. l.], v. 27, n. 3, p. 239-248, jun. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas: epilepsia**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRESCIANI, G. *et al.* The MnSOD Ala16Val: SNP relevance to human diseases and interaction with environmental factors. **Free Radical Research**, [S. l.], v. 47, n. 10, p. 781-792, out. 2013.

BRODIE, M. J. Diagnosing and predicting refractory epilepsy. **Acta Neurologica Scandinavica**, [S. l.], v. 181, p. 36-39, 2005.

BROPHY, G. M. *et al.* Guidelines for the evaluation and management so status epilepticus. **Neurocritical Care**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 3-23, ago. 2012.

BUCHMANN, A. *et al.* Prion protein M129V polymorphism affects retrieval-related brain activity. **Neuropsychologia**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. 2389-2402, 2008.

BUENO, O. F. A.; OLIVEIRA, M. G. M. Memória e amnésia. *In*: ANDRADE, V. M.; SANTOS, F. H.; BUENO, O. F. A. (Eds.). **Neuropsicologia hoje**. São Paulo: Artes Médicas, 2004. p. 165-234.

CAMPBELL, I. L. *et al.* Neurologic disease in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, [S. l.], v. 90, n. 21, p. 10061-10065, nov. 1993.

CAPILLA, A. *et al.* Emergence and brain development of executive functions. **Actas Españolas de Psiquiatría**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 377-386, nov./dez. 2004.

CARSON, M. J.; THRASH, J. C.; WALTER, B. The cellular response in neuroinflammation: the role of leukocytes, microglia and astrocytes in neuronal death and survival. **Clinical Neuroscience Research**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 237-245, dez. 2006.

CERNE, J. Z. *et al.* Estrogen metabolism genotypes use of long-term hormone replacement therapy and risk of postmenopausal breast cancer. **Oncology Reports**, [S. l.], v. 26, n. 2, p. 479-485, ago. 2011.

CHANG, B. S.; LOWESTEIN, D. H. Epilepsy. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 349, n. 13, p. 1257-1266, set. 2003.

CHARAKIDA, M. *et al.* Inflammatory and thrombotic processes are associated with vascular dysfunction in children with familial hypercholesterolemia. **Atherosclerosis**, [S. l.], v. 204, n. 2, p. 532-537, jun. 2009.

CHEN, J. *et al.* Erythropoietin deficiency decreases vascular stability in mice. **Journal of Clinical Investigation**, [S. l.], v. 118, n. 2, p. 526-533, fev. 2008.

CHEN, J. *et al.* Induction of caspase-3-like protease may mediate delayed neuronal death in the hippocampus after transient cerebral ischemia. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 18, n. 13, p. 4914-4928, jul. 1998.

CHIN, J.; SCHARFMAN, H. E. Shared cognitive and behavioral impairments in epilepsy and Alzheimer's disease and potential underlying mechanisms. **Epilepsy & Behavior**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 343-351, mar. 2013.

CHOI, D. W. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. **Neuron**, [S. l.], v. 1, n. 8, p. 623-634, out. 1988.

CHOI, J.; SOOKYONG, K. Role of brain inflammation in epileptogenesis. **Yonsei Medical Journal**, [S. l.], v. 49, n. 1, p. 1-18, fev. 2008.

CHU, J. *et al.* Progress in the research of S-adenosyl-L-methionine production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S. l.], v. 97, n. 1, p. 41-49, jan. 2013.

COHEN, R.; GUNSTAD, J. **Neuropsychology and cardiovascular disease**. 1. ed. Oxford: Oxford University Press, 2010. 432p.

CONDE DE LA ROSA, L. *et al.* Superoxide anions and hydrogen peroxide induce hepatocyte death by different mechanisms: involvement of JNK and ERK MAP kinases. **Journal of Hepatology**, [S. l.], v. 44, n. 5, p. 918-929, mai. 2006.

COOPER, J. R. *et al.* **The biochemical basis of neuropharmacology consequences**. 6. ed. Oxford: Oxford Univ Press, 1991.

CORRÊA, M. C. *et al.* Oxidative stress and erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) in hypertensive and ischemic patients of both acute and chronic stages. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 62, n. 5, p. 317-324, jun. 2008.

COSTA-LOTUFO, L. V. *et al.* Attenuating effects of melatonina on pilocarpine-induced seizures in rats. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, [S. l.], v. 131, n. 4, p. 521-529, abr. 2002.

CRAMER, J. *et al.* The impact of comorbid depression on health resource utilization in a community sample of people with epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 337-342, jun. 2004.

CRICHTON, G. E. *et al.* Cardiovascular health: a cross-national comparison between the Maine Syracuse Study (Central New York, USA) and ORISCAV-LUX (Luxembourg). **BMC Public Health**, [S. l.], v. 14, p. 253, mar. 2014.

DALGALARRONDO, P. **Psicopatologia e semiologia dos transtornos mentais**. Porto Alegre: Artmed, 2000. 440p.

DALLE-DONNE, I. *et al.* Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. **Clinica Chimica Acta**, [S. I.], v. 329, n. 1-2, p. 23-38, mar. 2003.

DARDIOTIS, E. *et al.* traumatic Brain Injury and Inflammation: Emerging Role of Innate and Adaptive Immunity. *In*: AGRAWAL, A. (Ed.). **Brain injury** – pathogenesis monitoring, recovery and management. Rijeka: InTech, 2012. p. 23-38.

DAVIES, K. J. An over view of oxidative stress. **IUBMB Life**, [S. I.], v. 50, n. 4-5, p. 241-244, out./nov. 2000.

DE LA TORRE, J. C. Alzheimer disease as a vascular disorder: nosological evidence. **Stroke**, [S. I.], v. 33, n. 4, p. 1152-1162, abr. 2002.

DE SIMONI, M. G. *et al.* Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. **European Journal of Neuroscience**, [S. I.], v. 12, n. 7, p. 2623-2633, jul. 2000.

DEAN, R. T. *et al.* Biochemistry and pathology of radical - mediated protein oxidation. **Biochemistry Journal**, [S. I.], v. 324, n. 1, p. 1-18, mai. 1997.

DEDOUSSIS, G. V. *et al.* Age-dependent dichotomous effect of superoxide dismutase Ala16Val polymorphism on oxidized LDL levels. **Experimental & Molecular Medicine**, [S. I.], v. 40, n. 1, p. 27-34, fev. 2008.

DELORENZO, R. J.; SUN, D. A.; DESHPANDE, L. S. Cellular mechanisms underlying acquired epilepsy: the calcium hypothesis of the induction and maintainance of epilepsy. **Pharmacol Ther**, [S. I.], v. 105, n. 3, p. 229, mar. 2005.

DEY, A. *et al.* Anti-inflammatory smale molecules to treat seizures and epilepsy: from bench to bedside. **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. I.], v. 37, n. 6, p. 463-484, jun. 2016.

DINARELLO, C. A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annual Review of Immunology**, [S. I.], v. 27, p. 519-550, 2009.

DINARELLO, C. A. Interleukin-1. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, [S. I.], v. 8, n. 4, p. 253-265, dez. 1997.

DODSON, D. L. **The impact of women in congress**. Oxford: Oxford University Press, U.S.A., 1991. 295p.

DREGAN, A.; STEWART, R.; GULLIFORD, M. Cardiovascular risk factors and cognitive decline in adults aged 50 and over: a population-based cohort study. **Age and Ageing**, [S. I.], v. 42, n. 3, p. 338-345, mai. 2012.

DUARTE, M. M. *et al.* Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism. **Clinical Biochemistry**, [S. I.], v. 43, n. 13-14, p. 1118-1123, set. 2010.

DUBÉ, C. *et al.* Interleukin-1beta contributes to the generation of experimental febrile seizures. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 57, n. 1, p. 152-155, jan. 2004.

ELLWARDT, E.; ZIPP, F. Molecular mechanisms linking neuroinflammation and neurodegeneration in MS. **Experimental Neurology**, [S. l.], v. 262, p. 8-17, dez. 2014.

ENGEL JR., J. Mesial temporal lobe epilepsy: what have we learned. **Neuroscientist**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 340-352, ago. 2001.

ERTA, M.; QUINTANA, A.; HIDALGO, J. Interleukin-6, a major cytokines in the central nervous system. **International Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 8, n. 9, p. 1254-1266, 2012.

FANG, X. *et al.* Overexpression of human superoxide dismutase inhibits oxidation of low-density lipoprotein by endothelial cells. **Circulation Research**, Dallas, v. 82, n. 12, p. 1289-1297, jun. 1998.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, jan./mar. 1997.

FERREIRA, I. L. M.; SILVA, T. P. T. Mortality from epilepsy in Brazil, 1980-2003. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p. 89-94, 2009.

FILIOU, M. D. *et al.* 'Neuroinflammation' differs categorically from inflammation: transcriptomes of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, schizophrenia and inflammatory diseases compared. **Neurogenetics**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 201-212, ago. 2014.

FISHER, R. S. Redefining epilepsy. **Current Opinion in Neurology**, [S. l.], v. 28, n. 2, p. 130-135, abr. 2015.

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**, [S. l.], v. 46, n. 4, p. 470-472, abr. 2005.

FISHER, R. S. *et al.* ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, [S. l.], v. 55, n. 4, p. 475-482, abr. 2014.

FISHER, R. S. *et al.* Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Epilepsia**, [S. l.], v. 58, n. 4, p. 531-542, abr. 2017.

FONSECA, R. P. *et al.* **Instrumento de avaliação neuropsicológica breve**. São Paulo: Vetor, 2009.

FONTANARI, J. L. As apraxias e as agnosias: uma breve revisão. **Revista Brasileira de Neurologia**, [S. l.], v. 25, n. 2, p. 35-49, mar./abr. 1989.

FORTUNATO, G.; TARANTO, M. D. Polymorphisms and the expression of genes encoding enzymes involved in cardiovascular diseases. **Clinica Chimica Acta**, [S. l.], v. 381, n. 1, p. 21-25, mai. 2007.

FRANTSEVA, M. V. *et al.* Oxidative stress is involved in seizure-induced neurodegeneration in the kindling model of epilepsy. **Neuroscience**, [S. l.], v. 97, n. 3, p. 431-435, mai. 2000.

FREITAS, R. M. Investigation of oxidative stress involvement in hippocampus in epilepsy model induced by pilocarpine. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 462, n. 3, p. 225-229, out. 2009.

FUKAI, T.; USHIO-FUKAI, M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. 1583-1606, set. 2011.

GAITATZIS, A. *et al.* The epidemiology of the comorbidity of the epilepsy in the general population. **Epilepsia**, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1613-1622, dez. 2004.

GAŁECKA, E. *et al.* Antioxidative enzymes--structure, properties, functions. **Polski Merkurusz Lekarski**, [S. l.], v. 25, n. 147, p. 266-268, set. 2008.

GALLUZZI, L. *et al.* Targeting pos-mitochondrial effectors of apoptosis for neuroprotection. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1787, n. 5, p. 402-413, mai. 2009.

GALVANI, S. *et al.* Carbonyl scavenger and antiatherogenic effects of hydrazine derivatives. **Free Radical Biology & Medicine**, [S. l.], v. 45, n. 10, p. 1457-1467, nov. 2008.

GARRITANO, C. R. *et al.* Analysis of the mortality trend due to cerebrovascular accident in Brazil in the XXI Century. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 98, n. 6, p. 519-527, jun. 2012.

GAUTIER, E.; JAKUBZICK, C.; RANDOLPH, G. J. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [S. l.], v. 29, n. 10, p. 1412-1418, out. 2009.

GAZZANIGA, M. S. *et al.* As funções executivas e os lobos frontais. *In*: ROSA, R. M. **Neurociência cognitiva: a biologia da mente**. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2008. p. 517-554.

GIL, R. **Neuropsicologia hoje**. 2. ed. São Paulo: Santos, 2002.

GLASS, C. K. *et al.* Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. **Cell**, [S. l.], v. 140, n. 6, p. 918-934, mar. 2010.

GODLEVSKY, L. S. *et al.* TNF-alpha in cerebral cortex and cerebellum is affected by amygdalar kindling but not by stimulation of cerebellum. **Polish Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 54, n. 6, p. 655-660, nov./dez. 2002.

GOTTLIEB, M. G. *et al.* Association among oxidized LDL levels, SOD2, apolipoprotein E polymorphisms, and cardiovascular risk factors in a south Brazilian region population. **Genetics and Molecular Research**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 691-703, dez. 2005.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. Morte celular por apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S. l.], v. 53, n. 3, p. 335-343, jul./set. 2007.

GWILT, C. R.; DONNELLY, L. E.; ROGERS, D. F. The non-neuronal cholinergic system in the airways: an unappreciated regulatory role in pulmonary inflammation? **Pharmacology & Therapeutics**, [S. l.], v. 115, n. 2, p. 208-222, ago. 2007.

HÁ, T. T. *et al.* Elevated levels of cell-free circulating DNA in patients with acute dengue virus infection. **PLoS One**, [S. l.], v. 6, n. 10, 2011.

HALLIWELL, B. Establishing the significance and optimal intake of dietary antioxidants: the biomarker concept. **Nutrition Reviews**, [S. l.], v. 57, n. 4, p. 104-113, abr. 1999

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 4. ed. Oxford: Clarendon Press/Oxford Science Publications, 2007. 944p.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. Iron toxicity and oxygen radicals. **Baillière's Clinical Haematology**, [S. l.], v. 2, n. 2, p. 195-256, abr. 1989.

HARLEY, T. A. **The psychology of language from data to theory**. New York: Psychology Press, 2008. 624p.

HARRISON, S. I. *et al.* Cardiovascular disease risk models and longitudinal changes in cognition: a systematic review. **PLoS One**, [S. l.], v. 9, n. 12, dez. 2014.

HEEBA, G. H.; EI-HANAFY, A. A. Nebivolol regulates eNOS and iNOS expressions and alleviates oxidative stress in cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. **Life Sciences**, [S. l.], v. 90, n. 11-12, p. 388-395, mar. 2012.

HEBBEN, N.; MILBERG, W. **Essentials of neuropsychological assessment**. New York: Wiley, 2002. 288p.

HELMSTAEDTER, C. *et al.* Chronic epilepsy and cognition: a longitudinal study in temporal lobe epilepsy. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 54, n. 4, p. 425-432, out. 2003.

HENRETIG, F. M.; KIRK, M. A.; MCKAY JR., C. A. Hazardous chemical emergencies and poisonings. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 380, n. 17, p. 1638-1655, ABR. 2019.

- HENSHALL, D. C.; CHEN, J.; SIMON, R. P. Involvement of caspase-3-like protease in the mechanism of cell death following focally evoked limbic seizures. **Journal of Neurochemistry**, [S. l.], v. 74, n. 3, p. 1215-1223, mar. 2000.
- HERMANN, B. P. *et al.* Brain development in children with new onset epilepsy: a prospective controlled cohort investigation. **Epilepsia**, [S. l.], v. 51, n. 10, p. 2038-2046, 2010.
- HERMANN, B. P. *et al.* Vascular, inflammatory, and metabolic factors associated with cognition in aging persons with chronic epilepsy. **Epilepsia**, [S. l.], v. 58, n. 11, p. e152-e156, nov. 2017.
- HERMANN, B. P.; SEIDENBERG, M.; BELL, B. Psychiatric comorbidity in chronic epilepsy: identification, consequences, and treatment of major depression. **Epilepsia**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. S31-S41, 2000.
- HERTZ, L. *et al.* Astrocytes: glutamate producers for neurons. **Journal of Neuroscience Research**, [S. l.], v. 57, n. 4, p. 417-428, ago. 1999.
- HICKS, R. A.; HICKS, M. J. Attitudes of major employers toward the employment of people with epilepsy: a 30-year study. **Epilepsia**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 86-88, jan./fev. 2005.
- HOLMES, M. D. *et al.* Is partial epilepsy progressive? Ten-year follow-up of EEG and neuropsychological changes in adults with partial seizures. **Epilepsia**, [S. l.], v. 39, n. 11, p. 1189-1193, nov. 1998.
- HOMMET, C. *et al.* Idiopathic epileptic syndromes and cognition. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 85-96, 2006.
- HOWIESON, D.; LEZAK, M. D. The neuropsychological evolution. *In*: HALES, R. E.; YUDOFISKY, S. C. (Eds.). **The American Psychiatric Press Textbook of Neuropsychiatry**. 2. ed. Washington: American Psychiatric Association, 1992.
- HUANG, W. *et al.* Association of the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism with chronic heart failure in Chinese Han patients. **European Journal of Heart Failure**, Changsha, v. 6, n. 1, p. 23-27, jan. 2012.
- HUNZIKER, E. B. Articular cartilage structure in humans and experimental animals. *In*: KUETTNER, K. E. *et al.* **Articular cartilage and osteoarthritis**. New York: Raven Press, 1992. p. 183-199.
- IDRISS, H. T.; NAISMITH, J. H. TNF alpha and the TNF receptor superfamily: structure-function relationship(s). **Microscopy Research and Technique**, [S. l.], v. 50, n. 3, p. 184-195, ago. 2000.
- ISBIR, S. *et al.* Effect of Ala16Val genetic polymorphism of MnSOD on antioxidant capacity and inflammatory response in open heart surgery. **In Vivo**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 147-151, jan./fev. 2008.

IZQUIERDO, I. **Memória**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

IZQUIERDO, I. **Memória**. Porto Alegre: Artmed, 2011.

IZUO, N. *et al.* Brain-specific superoxide dismutase 2 deficiency causes perinatal death with spongiform encephalopathy in mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [S. l.], v. 2015, 2015.

JONAKAIT, G. M. The effects of maternal inflammation on neuronal development: possible mechanism. **International Journal of Developmental Neuroscience**, [S. l.], v. 25, n. 7, p. 415-425, nov. 2007.

JONES D. A. *et al.* Association between the rs4880 superoxide dismutase 2 (C>T) gene variant and coronary heart disease in diabetes mellitus. **Diabetes Research and Clinical Practice**, [S. l.], v. 90, n. 2, p. 196-201, nov. 2010.

JURGENS, H. A.; JOHNSON, R. W. Dysregulated neuronal microglial cross-talk during aging, stress and inflammation. **Experimental Neurology**, [S. l.], v. 233, n. 1, p. 40-48, jan. 2012.

KAKKO, S. *et al.* The signal sequence polymorphism of the MnSOD gene is associated with the degree of carotid atherosclerosis. **Atherosclerosis**, [S. l.], v. 168, n. 1, p. 147-152, mai. 2003.

KALUEFF, A. V. *et al.* Intranasal administration increases of IL-6 increased the severity of chemically induced seizures in rats. **Neuroscience Letters**, [S. l.], v. 365, n. 2, p. 106-110, jul. 2004.

KANDEL, E. R. *et al.* **Mecanismos celulares do aprendizado e da memória: fundamentos da neurociência e do comportamento**. New York: Mcgraw-Hill, 2000.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Fundamentos da neurociência e do comportamento**. São Paulo: Prentice-Hall do Brasil, 1997. 590p.

KANEKO, K. *et al.* Consequences of nitric oxide generation in epileptic-seizure rodent models as studied by in vivo EPR. **Magnetic Resonance in Medicine**, [S. l.], v. 48, n. 6, p. 1051-1056, dez. 2002.

KANNER, A. M. The complex epilepsy patient: intricacies of assessment and treatment. **Epilepsia**, [S. l.], v. 44, n. 5, p. S3-S8, 2003.

KAWASHIMA, K.; FUJII, T. Extraneuronal cholinergic system in lymphocytes. **Pharmacology & Therapeutics**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 29-48, abr. 2000.

KAWASHIMA, K.; FUJII, T. The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity. **Life Sciences**, [S. l.], v. 74, n. 6, p. 675-696, dez. 2003.

KEATING, A. F. *et al.* A single nucleotide polymorphism in the bovine beta-casein promoter region across different bovine breeds. **Journal of Dairy Research**, [S. l.], v. 73, n. 2, p. 193-196, mai. 2006.

KHAN, G. M. *et al.* Anticonvulsant effect and neurotransmitter modulation of focal and systemic 2-chlorodenosine against the development of pilocarpine-induced seizures. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 39, n. 12, p. 2418-2432, set. 2000.

KINSCHERF, R. *et al.* Induction of mitochondrial manganese superoxide dismutase in macrophages by oxidized LDL: its relevance in atherosclerosis of humans and heritable hyperlipidemia rabbits. **FASEB Journal**, [S. l.], v. 11, n. 14, p. 1317-1328, dez. 1997.

KIRSHNER, H. **Behavioral neurology**. 2. ed. Boston: Butterworth Heinemann, 2002. 474p.

KIST, S. J. *et al.* Increased activity of choline acetyltransferase and acetylcholinesterase in actively epileptic human cerebral cortex. **Epilepsy Rev**, [S. l.], v. 2, n. 4, p. 227-231, jul./ago. 1988.

KROEMER, G. *et al.* Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. **Cell Death & Differentiation**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 3-11, jan. 2009.

KROEMER, G.; GALLUZZI, L.; BRENNER, C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. **Physiological Reviews**, [S. l.], v. 87, n. 1, p. 99-163, jan. 2007.

KUMAR, V. *et al.* **Lesão celular, morte celular e adaptações**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

KUO, H. K. *et al.* Relation of C-reactive protein to stroke, cognitive disorders, and depression in the general population: systematic review and meta-analysis. **Lancet Neurol**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 371-380, jun. 2005.

KURZBUCH, K. *et al.* Computerized cognitive testing in epilepsy (CCTE): a new method for cognitive screening. **Seizure**, [S. l.], v. 22, n. 6, p. 424-432, jul. 2013.

LABOISSIÈRE, P. **Cerca de 50 milhões de pessoas em todo o mundo têm epilepsia, alerta OMS**. Agência Brasil, Brasília, 13 fev. 2017. Disponível em: <http://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2017-02/cerca-de-50-milhoes-de-pessoas-em-todo-o-mundo-tem-epilepsia-alerta-oms>. Acesso em: 20 dez. 2019.

LABOS, E. *et al.* **Tratado de neuropsicologia clínica de adulto**. Buenos Aires: Librería Akádia Editorial, 2008.

LEE, G. P. **Neuropsychology of epilepsy and epilepsy surgery**. New York: Oxford. 2010. 613p.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios**: conceitos fundamentais de neurociência. São Paulo: Atheneu, 2001.

LENT, R. Fundamentos da neurociência. *In*: LENT, R. **Cem bilhões de neurônios**: conceitos fundamentais de neurociência. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 2-26.

LESZEK, J. *et al.* Inflammatory mechanisms and oxidative stress as Key factors responsible for progression of neurodegeneration: Role of brain innate immune system. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 329-336, 2016.

LEVINE, R. L. *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, [S. l.], v. 186, p. 464-478, 1990.

LEVITAN, I.; VOLKOV, S.; SUBBAIAH, P. V. Oxidized LDL: diversity, patterns of recognition and pathophysiology. **Antioxidants & Redox Signaling**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 39-75, 2010.

LEZAK, M. D. **Neuropsychological assessment**. New York: Oxford University Press, 2005.

LEZAK, M. D. *et al.* **Neuropsychological assessment**. 4. ed. New York: Oxford University Press, 2004.

LIANG, L. P.; HO, Y. S.; PATEL, M. Mitochondrial superoxide production in kainate-induced hippocampal damage. **Neuroscience**, [S. l.], v. 101, n. 3, p. 563-570, 2000.  
LIMA, R. F. Compreendendo os mecanismos atencionais. **Ciências e Cognição**, [S. l.], v. 6, p.113-122, 2005.

LÚ, Y. *et al.* Differential pro-inflammatory responses of astrocytes and microglia involve STAT3 activation in response to 1800 MHz radiofrequency fields. **PLoS One**, [S. l.], v. 9, n. 9, p. 1-12, out. 2014.

LUNDY-EKMAN, L. **Neurociência**: fundamentos para reabilitação. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 1518p.

MABUCHI, T. *et al.* Contribution of microglia/macrophages to expansion of infarction and response of oligodendrocytes after focal cerebral ischemia in rats. **Stroke**, [S. l.], v. 31, n. 7, p. 1735-1743, jul. 2000.

MAES, M. *et al.* Lowered omega3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients. **Psychiatry Research**, [S. l.], v. 85, n. 3, p. 275-291, mar. 1999.

MAGILA, M. C. Epilepsia. *In*: ANDRADE, V. M.; SANTOS, F. H.; BUENO, O. F. A. (Eds.). **Neuropsicologia hoje**. São Paulo: Artes Médicas, 2004.

MAISONNEUVE, E. *et al.* Rules governing selective protein carbonylation. **PLoS One**, [S. l.], v. 4, n. 10, out. 2009.

MANTEL-TEEUWISSE, A. K. *et al.* Drug-Induced lipid changes: a review of the unintended effects of some commonly usee drugs on sérum lipid levels. **Drug Safety**, [S. I.], v. 24, n. 6, p. 443-456, 2001.

MARAGON, K. *et al.* Low and very low density lipoprotein composition and resistance to copper-induce oxidation are not notably modified in smokers. **Clinica Chimica Acta**, [S. I.], v. 265, n. 1, p. 1-12, set. 1997.

MARCANGELO, M. J.; OVSI EW, F. Psychiatric aspects of epilepsy. **Psychiatric Clinics of North America**, [S. I.], v. 30, n. 4, p. 781-802, dez. 2007.

MARRONI, S. P.; PORTUGUEZ, M. W. Fala e linguagem. *In*: Nunes, M. M. (Org.). **Semiologia neurológica**. Porto Alegre: Edipucrs, 2002.

MATÉS, J. M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. **Toxicology**, [S. I.], v. 153, n. 1-3, p. 83-104, nov. 2000.

MAYEUX, R. *et al.* Interictal memory and language impairment in temporal lobe epilepsy. **Neurology**, [S. I.], v. 30, n. 2, p. 120-125, fev. 1980.

MCCOY, M. K.; TANSEY, M. G. TNF signaling inhibition in the CNS: implications for normal brain function and neurodegenerative disease. **Journal of Neuroinflammation**, [S. I.], v. 5, p. 45, out. 2008.

MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, [S. I.], v. 454, n. 7203, p. 428-435, jul. 2008.

MELDRUM, B.; GARTHWAITE, J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. **Trends in Pharmacological Sciences**, [S. I.], v. 11, n. 9, p. 379-387, set. 1990.

MENON, B.; RAMALINGAM, K.; KUMAR, R. V. Oxidative stress in patients with epilepsy is independent of antiepileptic drugs. **Seizure**. [S. I.], v. 21, n. 10, p. 780-784, dez. 2012.

MESULAM, M. M. **A cortical network for directed attention and cognitive neurology**. New York: Oxford University Pres, 2000.

MESULAM, M. M. A cortical network for directed attention and unilateral neglect. **Annals of Neurology**, [S. I.], v. 10, n. 4, p. 309-325, out. 1981.

MESULAM, M. M. Larg-Scale neurocognitive networks and distributed procession for attention, language, and memory. **Annals of Neurology**, [S. I.], v. 28, n. 5, p. 597-613, nov. 1990.

MONTANO M. A. *et al.* Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and elderly obesity. **Mol Cell Biochem**, [S. I.], v. 328, n. 1-2, p. 33-40, ago. 2009.

MONTANO M. A. *et al.* Inflammatory cytokines in vitro production are associated with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism of peripheral blood mononuclear cells. **Cytokine**, [S. I.], v. 60, n. 1, p. 30-33, out. 2012.

NAGARA, N. *et al.* Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, [S. I.], v. 280, n. 5, mai. 2001.

NAVA-CASTRO, K. E. *et al.* The cytokine interleukin-6 as a neural and endocrine regulator. **Advances in Neuroimmune Biology**, [S. I.], v. pre-press, n. pre-press, p. 1-14, 2018.

NGUGI, A. K. *et al.* Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a metaanalytic approach. **Epilepsia**, [S. I.], v. 51, n. 5, p. 883-890, mai. 2010.

NIZRI, E. *et al.* Anti-inflammatory properties of cholinergic up-regulation: A new role for acetylcholinesterase inhibitors. **Neuropharmacology**, [S. I.], v. 50, n. 5, p. 540-547, abr. 2006.

NOEBELS, J. L. The voltage-gated calcium channel and absence epilepsy. *In*: NOEBELS, J. L. *et al.* (Eds.). **Jasper's basic mechanisms of the epilepsies**. 4. ed. Bethesda: National Center for Biotechnology Information (US), 2012.

O'CALLAGHAN, J. P.; SRIRAM, K.; MILLER, D. B. Defining 'neuroinflammation': lessons from MPTP- and methamphetamine-induced neurotoxicity. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [S. I.], v. 1139, n. 10, p. 318-330, out. 2008.

OLIVEIRA, C. V. *et al.* Evaluation of potential gender-related differences in behavioral and cognitive alterations following pilocarpine-induced status epilepticus in C57BL/6 mice. **Physiology & Behavior**, [S. I.], v. 143, p. 142-150, mai. 2015.

OYEBBILE, T. O. *et al.* The nature and course of neuropsychological morbidity in chronic temporal lobe epilepsy. **Neurology**, [S. I.], v. 62, n. 10, p. 1736-1742, mai. 2004.

PARK, S. *et al.* Superoxide is a potential culprit of caspase-3 dependent endothelial cell death induced by lysophosphatidylcholine. **Journal of Physiology and Pharmacology**, [S. I.], v. 61, n. 4, p. 375-381, ago. 2010.

PASCOTINI, M. E. T. *et al.* Brain-derived neurotrophic factor levels are lower in chronic stroke patients: a relation with manganese-dependent superoxide dismutase ala16val single nucleotide polymorphism through tumor necrosis factor- $\alpha$  and caspases pathways. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, [S. I.], v. 27, n. 11, p. 3020-3029, nov. 2018.

PAVLOV, V. A. *et al.* Selective  $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor agonist GTS-21 improves survival in murine endotoxemia and severe sepsis. *Crit Care Med*, [S. I.], v. 35, n. 4, p. 1139-1144, abr. 2007.

PAVLOV, V. A.; TRACEY, K. J. Controlling inflammation: the cholinergic anti-inflammatory pathway. **Biochemical Society Transactions**, [S. l.], v. 34, n. 6, p. 1037-1040, dez. 2006.

PEARSON, V. L.; ROTHWELL, N. J.; TOULMOND, S. Excitotoxic brain damage in the rat induces interleukin-1 protein in microglia and astrocytes: correlation with the progression of cell death. *Glia*, [S. l.], v. 25, n. 4, p. 311-323, fev. 1999.

PERUCCA, E.; TOMSON, T. The pharmacologic treatment of epilepsy in adults. **Lancet Neurology**, [S. l.], v. 10, n. 5, p. 446-456, mai. 2011

PILKA, E. S. *et al.* Structural basis for substrate specificity in human monomeric carbonyl reductases. **PLoS One**, [S. l.], v. 4, n. 10, out. 2009.

PITKÄNEN, A. *et al.* Epileptogenesis. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, [S. l.], v. 5, n. 10, set. 2015.

PITKÄNEN, A. *et al.* **Models of seizures and epilepsy**. New York: Elsevier Academic Press, 2006. 1178p.

PITKÄNEN, A.; LUKASIUK, K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. **Lancet Neurology**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 173-186, fev. 2011.

PLATA-SALAMÁN, C. R. *et al.* Kindling modulates the IL-1beta system, TNF-alpha, TGF-beta1, and neuropeptide mRNAs in specific brain regions. **Molecular Brain Research**, [S. l.], v. 75, n. 2, p. 248-258, mar. 2000.

PLATZ, T.; MAURITZ, K. H. Human motor planning, motor programming, and use of new task-relevant information with different apraxic syndromes. **European Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 7, n. 7, p. 1536-1547, jul. 1995.

PORTUGUEZ, M. Avaliação neuropsicológica do lobo temporal: linguagem e memória. *In*: COSTA DA COSTA, J.; PALMINI, A. L. F.; YACUBIAN, E. M. T. (Ed). **Fundamentos neurobiológicos das epilepsias: aspectos clínicos e cirúrgicos**. São Paulo: Lemos Editorial, 1998. p. 1439.

PRADO, M. A. *et al.* Regulation of acetylcholine synthesis and storage. **Neurochemistry International**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 291-299, nov. 2002.

PURVES, D. **Neurociências**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PUTIGNANO, D. *et al.* Antiepileptic drug use in Italian children over a decade. **European Journal of Clinical Pharmacology**, [S. l.], v. 73, n. 2, p. 241-248, fev. 2017.

RASPALL, T. *et al.* Neuropsychological tests with lateralizing value in patients with temporal lobe epilepsy: reconsidering material-specific theory. **Seizure**, [S. l.], v. 14, n. 8, p. 569-576, dez. 2005.

- RAVIZZA, T.; VEZZANI, A. Status epilepticus induces time-dependent neuronal and astrocyte expression of interleukin-1 receptor type in the rat limbic system. **Neuroscience**, [S. l.], v. 137, n. 1, p. 301-308, fev. 2006.
- REIS, J. *et al.* Cardiovascular health through young adulthood and cognitive functioning in midlife. **Annals of Neurology**, [S. l.], v. 73, n. 2, p. 170-179, fev. 2013.
- ROSAS-BALLINA, M. *et al.* Splenic nerve is required for cholinergic antiinflammatory pathway control of TNF in endotoxemia. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, [S. l.], v. 105, n. 31, p. 11008-11013, ago. 2008.
- ROSENBLUM, J. S.; GILULA, N. B.; LERNER, R. A. On signal sequence polymorphisms and disease of distribution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, [S. l.], v. 93, n. 9, p. 4471-4473, abr. 1996.
- ROSSETTI, H. C. *et al.* Subclinical atherosclerosis and subsequent cognitive function. **Atherosclerosis**, [S. l.], v. 241, n. 1, p. 36-41, jul. 2015.
- ROY, D. *et al.* Role of reactive oxygen species on the formation of the novel diagnostic marker ischaemia modified albumin. **Heart**, [S. l.], v. 92, n. 1, p. 113-114, jan. 2006.
- ROYALL, D. R. *et al.* Executive control function: a review of its promise and challenges for clinical research. **Journal of Neuropsychiatric and Clinical Neurosciences**, [S. l.], v. 14, n. 4, p. 377-405, 2002.
- SAMLAND, H. *et al.* Profound increase in sensitivity to glutamatergic-but not cholinergic agonist-induced seizures in transgenimice with astrocyte production of IL-6. **Journal of Neuroscience Research**, [S. l.], v. 73, n. 2, p. 176-187, jul. 2003.
- SANDER, J. W. The epidemiology of epilepsy revisited. **Current Opinion in Neurology**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 165-170, abr. 2003.
- SCHEFFER, I. E. *et al.* ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE commission for classification and terminology. **Epilepsia**. [S. l.], v. 58, n. 4, p. 512-521, abr. 2017.
- SCHEFT, B. K. *et al.* Preoperative assessment of confrotation namig ability and interictal paraphasia production in unilateral lobe epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 161-168, abr. 2003.
- SCHIRWANI, S. *et al.* Exploring the association between SRPX2 variants and neurodevelopment: how causal is it? **Gene**, [S. l.], v. 685, p. 50-54, fev. 2019.
- SCORZA, F. A. *et al.* Epilepsias e hipertensão arterial sistêmica. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, Porto Alegre, v. 12, n. 4, p. 219-224, dez. 2006.
- SEIZI, O. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 704p.

SHIMODA-MATSUBAYASHI, S. *et al.* Mn SOD activity and protein in a patient with chromosome 6-linked autosomal recessive parkinsonism in comparison with Parkinson's disease and control. **Neurology**, [S. l.], v. 49, n. 5, p. 1257-1262, nov. 1997.

SIDHU, M. K. *et al.* The impact of brain-derived neurotrophic factor Val66Met polymorphism on cognition and functional brain networks in patients with intractable partial epilepsy. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, [S. l.], v. 25, n. 2, p. 223-232, fev. 2019.

SIERRA-MARCOS, A. *et al.* Statins are associated with decreased mortality risk after status epilepticus. **European Journal of Neurology**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 402-405, fev. 2015.

SILVA, A. V.; CABRAL, F. R. Ictogenesis, epileptogenesis and mechanism of action of the drugs used for prevent and treat epilepsy. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 39-45, 2008.

SIMI, A. *et al.* Mechanisms of regulation for interleukin-1 b in neurodegenerative disease. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 52, n. 8, p. 1563-1569, jun. 2007.

SIMS, N. R.; MUYDERMAN, H. Mitochondria, oxidative metabolism and cell death in stroke. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1802, n. 1, p. 80-91, jan. 2010.

SKILTON, M. R. *et al.* A comparison of the NCEP-ATPIII, IDF and AHA/NHLBI metabolic syndrome definitions with relation to early carotid atherosclerosis in subjects with hypercholesterolemia or at risk of CVD: evidence for sex-specific differences. **Atherosclerosis**, [S. l.], v. 190, n. 2, p. 416-422, fev. 2007.

SOREQ, H.; SEIDMAN, S. Acetylcholinesterase - new roles for an old actor. **Nature Reviews Neuroscience**, [S. l.], v. 2, n. 4, p. 294-302, mai. 2001.

SPOOREN, A. *et al.* Interleukin-6, a mental cytokine. **Brain Research Reviews**, [S. l.], v. 67, n. 1-2, p. 157-183, jun. 2011.

SPRINGER, S. P.; DEUTSCH, G. **Cérebro esquerdo, cérebro direito**. São Paulo: Summus, 1993. 406p.

SQUIRE, L. R.; KANDEL, E. R. Memória não-consciente. **Viver Mente e Cérebro**, [S. l.], v. 2, n. esp., p. 50-55, 2006.

STADTMAN, E. R. Role of oxidant species in aging. **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 1105-1112, mai. 2004.

STELLA, F. Memory disorders in epileptic patients. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 57, n. 2B, p. 415-420, jul. 1999.

STONE, N. J. *et al.* 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/ American Heart Association task force on practice guidelines. **Circulation**, [S. l.], v. 129, n. 2, p. S1-S45, 2014. 2013.

STRAUSS, E. *et al.* **A compendium of neuropsychological tests**: administration, norms, and commentary. 3. ed. New York: Oxford University Press, 2006. 1216p.

SUGAWARA, T. *et al.* Neuronal death/survival signaling pathways in cerebral ischemia. **NeuroRx**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 17-25, jan. 2004.

SUTTON, A. *et al.* The manganese superoxide dismutase Ala 16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and Mrna Stability. **Pharmacogenetics and Genomics**, [S. l.], v. 15, n. 5, p. 311-319, mai. 2005.

TELLES-ZENTENO, J. F. *et al.* Psychiatric comorbidity in epilepsy: a population-based analysis. **Epilepsia**, [S. l.], v. 48, n. 12, p. 2336-2344, dez. 2007.

TERRONE, G. *et al.* Inflammation and reactive oxygen species in status epilepticus: Biomarkers and implications for therapy. **Epilepsy & Behavior**, [S. l.], v. 101, p. 30301-30304, dez. 2019.

THURMAN, D. J. *et al.* Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. **Epilepsia**, [S. l.], v. 52, n. 7, p. 2-26, set. 2011.

TIAN, C. *et al.* Association of the C47T polymorphism in SOD2 with diabetes mellitus and diabetic microvascular complications: a meta-analysis. **Diabetologia**, [S. l.], v. 54, n. 4, p. 803-811, abr. 2011.

TRACEY, K. J. Fat meets the cholinergic antiinflammatory pathway. **Journal of Experimental Medicine**, [S. l.], v. 202, n. 8, p. 1017-1021, out. 2005.

TRACEY, K. J. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. **Journal of Clinical Investigation**, [S. l.], v. 117, n. 2, p. 289-296, fev. 2007.

TRINKA, E.; KÄLVIÄINEN, R. 25 years of advances in definition classification and treatment of status epilepticus. **Seizure**, [S. l.], v. 44, p. 65-73, jan. 2017.

TUTANC, M. *et al.* Oxidative status in epileptic children using carbamazepine. **Iranian Journal of Pediatrics**, [S. l.], v. 25, n. 6, p. 1-4, dez. 2015.

VALKO, M. *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [S. l.], v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VAN HEUGTEN, C. M. *et al.* Outcome of strategy training in stroke patients with apraxia: a phase II study. **Clinical Rehabilitation**, [S. l.], v. 12, n. 4, p. 294-303, ago. 1998.

VAN RIJCKEVORSEL, K. Cognitive problems related to epilepsy syndromes, especially malignant epilepsies. **Seizure**, v. 15, n. 4, p. 227-234, jun. 2010.

VAZ, E. R.; FONTES, S. V.; FUKUJIMA, M. M. Testes para detecção de apraxias por profissionais da saúde. **Revista Neurociências**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 136-139, 1999.

VEZZANI, A. *et al.* Functional role of inflammatory cytokines and anti-inflammatory molecules seizures and epileptogenesis. **Epilepsia**, [S. l.], v. 43, n. 5, p. 30-35, 2002.

VEZZANI, A. *et al.* Glia as a source of cytokines: implications for neuronal excitability and survival. **Epilepsia**, [S. l.], v. 49, n. 2, p. 24-32, 2008.

VEZZANI, A. *et al.* Interleukin-1 $\beta$  immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. **Journal of Neuroscience**, [S. l.], v. 19, n. 12, p. 5054-5065, jun. 1999.

VEZZANI, A. *et al.* The role of inflammation in epilepsy. **Nature Reviews Neurology**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 31-40, jan. 2011.

VEZZANI, A.; GRANATA, T. Brain inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. **Epilepsia**, [S. l.], v. 46, n. 11, p. 1724-1743, nov. 2005.

VEZZANI, A.; VIVIANE, B. Neuromodulatory properties of inflammatory cytokines and their impact on neuronal excitability. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 96, p. 70-82, set. 2015.

VITZTHUM, F. *et al.* A quantitative fluorescence-based microplate assay for the determination of double-stranded DNA using SYBR Green I and a standard ultraviolet transilluminator gel imaging system. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 276, n. 1, p. 59-64, dez. 1999.

VON EHRENSTEIN, O. S. *et al.* Child intellectual development in relation to cytokine levels in umbilical cord blood. **American Journal of Epidemiology**, [S. l.], v. 175, n. 11, p. 1191-1199, jun. 2012.

XAVIER, H. T. *et al.* V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção de aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [S. l.], v. 101, n. 4, out. 2013.

WASTERLAIN, C. G.; TREINAM, D. M. **Status epilepticus**: mechanisms and management. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 1989. 648p.

WATTS, L. T. *et al.* Stroke neuroprotection: targeting mitochondria. **Brain Sciences**, [S. l.], v. 3, N. 2, p. 540-560, jun. 2013.

WHITE, H. S.; SMITH, M. D.; WILCOX, K. S. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. **International Review of Neurobiology**, [S. l.], v. 81, p. 85-110, 2007.

WISPÉ, J. R. *et al.* Synthesis and processing of the precursor for human manganese-superoxide dismutase. **Biochimica et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 994, n. 1, p. 30-36, jan. 1989.

WITT, J.-A.; HELMSTAEDTER, C. Cognition in the early stages of adult epilepsy. **Seizure**, [S. l.], v. 26, p. 65-68, mar. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World Health Statistics 2015**. Geneva: WHO, 2015.

WYLLIE, A. H.; BEATTIE, G. J.; HARGREAVES, A. D. Chromatin changes in apoptosis. **Histochemistry, Journal**, [S. l.], v. 13, n. 4, p. 681-692, jul. 1981.

YACUBIAN, E. M. T.; KOCHEN, C. **Crises epilépticas**. São Paulo: Leitura Médica Ltda., 2002.

ZELKO, I. N.; MARIANI, T. J.; FOLZ, R. J. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, n. 3, p. 337-349, ago. 2002.

ZHU, W. *et al.* Excitotoxicity of TNF alpha derived from KA activated microglia on hippocampal neurons in vitro and in vivo. **Journal of Neurochemistry**. [S. l.], v. 114, n. 2, p. 386-396, jul. 2010.

**ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS  
PACIENTES COM EPILEPSIA**

Título do projeto: AVALIAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA, E DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS NOS PACIENTES COM EPILEPSIA

Pesquisador responsável: médica e professora da neurologia, Dr<sup>a</sup>. Michele Rechia Fighera

Instituição/departamento: HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA/ CCS.

Telefone para contato: (55) 3220 8544; (55) 8124 9886 (Médica responsável Michele Rechia Fighera)

Local da coleta de dados: AMBULATÓRIO DE EPILEPSIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA.

Eu \_\_\_\_\_,  
residente na \_\_\_\_\_ n° \_\_\_\_\_, com  
telefone n° \_\_\_\_\_, portador da carteira de identidade n° \_\_\_\_\_, aceito participar do projeto de pesquisa do curso de Medicina da UFSM com o título: "Avaliação Neuropsicológica e dos Marcadores Inflamatórios nos Pacientes com Epilepsia". Um estudo de caso controle. Informo que fui esclarecido sobre o significado do projeto e que os dados fornecidos sobre minha pessoa ou da pessoa a qual me responsabilizo de acordo com o Código Civil Brasileiro, não serão nomeados e identificados diretamente, mas farão parte de um banco de dados coletivo, de todos os participantes que tiveram suas informações coletadas. Dessa forma, os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados no ambulatório de epilepsia do HUSM, por meio de questionários aplicados pelo médico responsável e os alunos do curso de medicina, sob sua orientação.

Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto.

As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima e serão mantidas na sala 1445, do Dept<sup>o</sup> de Neuropsiquiatria, sob a responsabilidade da médica Michele Rechia Fighera.

Sei que não há riscos à minha saúde e que apenas irei fornecer informações à pesquisa, sendo que isto não irá afetar diretamente meu tratamento. Fui esclarecido

que esta pesquisa tem o objetivo de melhorar os conhecimentos sobre a minha patologia e a possibilidade de um tratamento mais adequado.

A médica e professora Dr<sup>a</sup> Michele Rechia Fighera é a orientadora do projeto e com ela posso me comunicar caso necessário.

Minha imagem e dados pessoais serão reservados, sendo utilizados apenas com meu expresso consentimento. Meu nome será mantido em pleno sigilo e os resultados da pesquisa serão usados apenas para fins científicos (publicação em revistas médicas e provavelmente apresentação em congressos).

Estou consciente de que esta pesquisa se justifica pelo apontamento de cientistas que referem a importância de conhecer os pacientes com epilepsia de sua comunidade, para melhor comparar a eficácia dos tratamentos aplicados em Santa Maria com resultados de outros grupos nacionais e internacionais, assim, em um futuro breve, caso necessário, melhorar a estrutura e forma de atendimento e tratamento. Sei que esse levantamento de dados será realizado através da aplicação de um questionário, e que ele não oferece riscos para mim.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas e explicadas verbalmente para mim, neste estudo.

Eu discuti com a médica Michele Rechia Fighera, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais os propósitos do estudo e as garantias de confidencialidade (lido e anexado por escrito a este termo de consentimento que irei assinar) e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Por fim, declaro-me disposto a servir com meus dados médicos e afins que possam ser relevantes neste projeto, que visa saber o conjunto de pessoas com epilepsia que se tratam no Hospital Universitário de Santa Maria, reunindo informações médicas e socioeconômicas que possam ser úteis, bem como os resultados desta pesquisa podem contribuir com a vida de outras pessoas que sofrem do mesmo problema. Portanto, permito a publicação dos resultados.

---

Assinatura do/a Participante

---

Nº identidade (CI)

---

Assinatura do responsável pelo estudo

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Endereço para contato: Ambulatório de Epilepsia - Hospital Universitário de Santa Maria, HUSM. Faixa de Camobi, Km 9 – Campus Universitário. CEP: 97105-900. Santa Maria/RS – Brasil. Telefone: (55) 32208544 ou 32208427 (Dra. Michele Fighera).

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de Acordo com a Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde.

## **ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS CONTROLES QUE PARTICIPARAM DA PESQUISA**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS CONTROLES QUE PARTICIPARAM DA PESQUISA**

Título do projeto: AVALIAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA E DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS NOS PACIENTES COM EPILEPSIA

Pesquisador responsável: Médica e professora da neurologia, Dr<sup>a</sup>. Michele Rechia Fighera

Instituição/departamento: HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA/ CCS.

Telefone para contato: (55) 3220 8544; (55) 8124 9886 (Médica responsável Michele Rechia Fighera)

Local da coleta de dados: AMBULATÓRIO DE EPILEPSIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA.

Eu \_\_\_\_\_,  
residente na \_\_\_\_\_ n° \_\_\_\_\_, com  
telefone n° \_\_\_\_\_, portador da carteira de identidade n° \_\_\_\_\_, aceito participar do projeto de pesquisa do curso de Medicina da UFSM com o título "Avaliação Neuropsicológica e dos Marcadores Inflamatórios nos Pacientes com Epilepsia." Um estudo de caso controle. Informo que fui esclarecido sobre o significado do projeto e que os dados fornecidos sobre minha pessoa ou da pessoa a qual me responsabilizo de acordo com o Código Civil Brasileiro, não serão nomeados e identificados diretamente, mas farão parte de um banco de dados coletivo, de todos os participantes que tiveram suas informações coletadas. Dessa forma, os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos participantes cujos dados serão coletados por meio de questionários aplicados pelo médico responsável e os alunos do curso de medicina, sob sua orientação. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima e serão mantidas na sala 1446, do Dept<sup>o</sup> de Neuropsiquiatria, sob a responsabilidade da médica Michele Rechia Fighera.

Fui esclarecido que esta pesquisa tem o objetivo de melhorar os conhecimentos sobre a epilepsia e a possibilidade de um tratamento mais adequado para os pacientes.

A médica e professora Dr<sup>a</sup> Michele Rechia Fighera é a orientadora do projeto e com ela posso me comunicar caso necessário.

Minha imagem e dados pessoais serão reservados, sendo utilizados apenas com meu expresso consentimento. Meu nome será mantido em pleno sigilo e os resultados da pesquisa serão usados apenas para fins científicos (publicação em revistas médicas e provavelmente apresentação em congressos).

Estou consciente de que esta pesquisa se justifica pelo apontamento de cientistas que referem a importância de conhecer os pacientes com epilepsia de sua comunidade comparando com o grupo controle para melhor comparar a eficácia dos tratamentos aplicados em Santa Maria com resultados de outros grupos nacionais e internacionais, assim, em um futuro breve, caso necessário, melhorar a estrutura e forma de atendimento e tratamento. Sei que esse levantamento de dados será realizado através da aplicação de um questionário, e que ele não oferece riscos para mim.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas e explicadas verbalmente para mim, neste estudo.

Eu discuti com a médica Michele Rechia Fighera e/ou com as alunas Aline Kegler e Josi Arend, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais os propósitos do estudo e as garantias de confidencialidade (lido e anexado por escrito a este termo de consentimento que irei assinar) e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Por fim, declaro-me disposto a servir com meus dados médicos e afins que possam ser relevantes neste projeto, que visa saber o conjunto de pessoas com epilepsia que se tratam no Hospital Universitário de Santa Maria, reunindo informações médicas e socioeconômicas que possam ser úteis, bem como os

resultados desta pesquisa podem contribuir com a vida de outras pessoas que sofrem do mesmo problema. Portanto, permito a publicação dos resultados.

---

Assinatura do/a Participante

---

Nº identidade (CI)

---

Assinatura do responsável pelo estudo

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de Acordo com a Resolução 196/1996 do Conselho Nacional de Saúde.

**ANEXO C - TERMO DE CONFIDENCIALIDADE**

Título do projeto: AVALIAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA E DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS NOS PACIENTES COM EPILEPSIA

Pesquisador responsável: Prof: Dra Michele Rechia Figheira

Instituição/Departamento: UFSM/Departamento de Neuropsiquiatria

Telefone para contato: (55) 32208544; (55) 81249886 (Médica responsável Michele Rechia Figheira)

Local da coleta de dados: AMBULATÓRIO DE EPILEPSIA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA

Os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados através da ficha de avaliação no Ambulatório de Epilepsia. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima e serão mantidas na sala 1446, do Depto de Neuropsiquiatria, Centro de Ciências da Saúde, por 5 anos sob responsabilidade da médica Michele Rechia Figheira. Após este período, os dados serão destruídos. Este projeto de pesquisa foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFSM em 20/11/2012 com o número CAAE 10554612.1.0000.5346.

Santa Maria.....de.....de 20.....

.....  
Assinatura do pesquisador responsável

## ANEXO D - QUESTIONÁRIO CLÍNICO

## Questionário 1

<b>Identificação</b>			
1. SAME:		2. Idade	
4. Retorno nº:		3. Data:	
5. Procedência:			
6. Escolaridade:			
7. Familiar: Renda R\$			
8. Informante: Escolaridade			
<b>Fornecimento de Informações</b>			
9. Paciente: 1. ( ) Informa tudo. 2. ( ) Informa parcialmente. 3. ( ) Não informa.			
10. Acompanhante ( <i>grau de relação, p.ex: mãe</i> ):.....			
1. ( ) Informa tudo. 2. ( ) Informa parcialmente. 3. ( ) Não informa.			
<b>Caracterização das crises</b>			
11. Com que idade ocorreu a 1ª crise convulsiva:			
1. ( ) < 28 dias. 2. ( ) 1 - 6 meses. 3. ( ) 6 - 12 meses. 4. ( ) 1 - 2 anos.			
5. ( ) 2 - 5 anos. 6. ( ) 6 - 10 anos. 7. ( ) 11 - 14 anos. 8. ( ) 14 - 17 anos.			
9. ( ) 18 - 29 anos. 10. ( ) 30 - 49 anos. 11. ( ) 50 - 65 anos. 12. ( ) > 65 anos.			
13. ( ) Não sabe informar.			
12. Com relação às crises, ocorria perda da consciência:			
1. ( ) Sim. 2. ( ) Não. 3. ( ) Não sabe informar.			
13. Antes da ocorrência das crises, o paciente sentia (referia sentir) algum sintoma:			
1. ( ) Sim. 2. ( ) Não. 3. ( ) Não sabe informar.			
Qual: 1.1. ( ) Náusea e/ou vômito			
1.2. ( ) Cefaléia			
1.3. ( ) Paresia/paralisia/parestesia (sublinhar). Onde:.....			
1.4. ( ) Alteração visual. Qual:.....			
1.5. ( ) Alteração auditiva. Qual:.....			
1.6. ( ) Alteração gustativa. Qual:.....			
1.7. ( ) Alteração comportamental. Qual:.....			
<b>Semiologia das crises parciais</b>			
14. Aura:		15. Presença de automatismos:	
1. ( ) Somato-Sensorial		1. ( ) Sim	
2. ( ) Visual Elementar		2. ( ) Não	
3. ( ) Auditiva Elementar			
4. ( ) Viscerosensorial			
5. ( ) Cefálica			
6. ( ) Vertigem			
7. ( ) Confusão			
Consciente			
8. ( ) Sensação de Queimor			
9. ( ) Experiencial			
10. ( ) Não			
16. Automatismos Gestuais:		17. Automatismos Mastigatórios:	
1. ( ) Sim D		1. ( ) Sim	
2. ( ) Sim E		2. ( ) Não	
3. ( ) Sim bilateral			
4. ( ) Não			
18. Presença e tipo outras manif. Motoras/Vegetativas:		3. ( ) Clonia MsSs:	
1. ( ) Clonia Facial:		3.1. ( ) D	
1.1. ( ) D.		3.2. ( ) E	
		3.3. ( ) Bil	

1.2. ( ) E. 1.3. ( ) Não. 2. ( ) Versão da cabeça: 2.1. ( ) D 2.2. ( ) E 2.3. ( ) Bil 2.4. ( ) Não		3.4. ( ) Não 4. ( ) Clonia MsIs 4.1. ( ) D 4.2. ( ) E 4.3. ( ) Bil 4.4. ( ) Não	
19. Automatismos Hipermotores: 1. ( ) Sim D 2. ( ) Sim E 3. ( ) Sim bilateral 4. ( ) Não		20. Desconexão: 1. ( ) Sim 2. ( ) Não	
21. Distonia: 1. ( ) Sim D 2. ( ) Sim E 3. ( ) Sim bilateral 4. ( ) Não			
<b>Semiologia das crises parciais com generalização</b>			
22. Aura: 1. ( ) Somato-Sensorial 2. ( ) Visual Elementar 3. ( ) Auditiva Elementar 4. ( ) Viscerosensorial 5. ( ) Cefálica 6. ( ) Vertigem 7. ( ) Confusão Consciente 8. ( ) Sensação de Queimor 9. ( ) Experiencial 10. ( ) Não		23. Presença de automatismos: 1. ( ) Sim 2. ( ) Não	
		24. Automatismos Gestuais: 1. ( ) Sim D 2. ( ) Sim E 3. ( ) Sim bilateral 4. ( ) Não	
		25. Automatismos Mastigatórios: 1. ( ) Sim 2. ( ) Não	
26. Presença e tipo outras manif. Motoras/Vegetativas: 1. ( ) Clonia Facial: 1.1. ( ) D. 1.2. ( ) E. 1.3. ( ) Não. 2. ( ) Versão da cabeça: 2.1. ( ) D 2.2. ( ) E 2.3. ( ) Bil 2.4. ( ) Não 3. ( ) Clonia MsSs: 3.1. ( ) D 3.2. ( ) E 3.3. ( ) Bil 3.4. ( ) Não 4. ( ) Clonia MsIs 4.1. ( ) D 4.2. ( ) E 4.3. ( ) Bil 4.4. ( ) Não		27. Automatismos Hipermotores: 1. ( ) Sim D 2. ( ) Sim E 3. ( ) Sim bilateral 4. ( ) Não	
		28. Desconexão: 1. ( ) Sim 2. ( ) Não	
		29. Distonia: 1. ( ) Sim D 2. ( ) Sim E 3. ( ) Sim bilateral 4. ( ) Não	

<b>Semiologia das crises generalizadas</b>			
<p>30. Aura:</p> <p>1. ( ) Somato-Sensorial</p> <p>2. ( ) Visual Elementar</p> <p>3. ( ) Auditiva Elementar</p> <p>4. ( ) Viscerosensorial</p> <p>5. ( ) Cefálica</p> <p>6. ( ) Vertigem</p> <p>7. ( ) Confusão</p> <p>Consciente</p> <p>8. ( ) Sensação de Queimor</p> <p>9. ( ) Experiencial</p> <p>10. ( ) Não</p>	<p>31. Presença de automatismos:</p> <p>1. ( ) Sim</p> <p>2. ( ) Não</p>	<p>32. Automatismos Gestuais:</p> <p>1. ( ) Sim D</p> <p>2. ( ) Sim E</p> <p>3. ( ) Sim bilateral</p> <p>4. ( ) Não</p>	<p>33. Automatismos Mastigatórios:</p> <p>1. ( ) Sim</p> <p>2. ( ) Não</p>
<p>34. Presença e tipo outras manif.</p> <p>Motoras/Vegetativas:</p> <p>1. ( ) Clonia Facial:</p> <p>1.1. ( ) D.</p> <p>1.2. ( ) E.</p> <p>1.3. ( ) Não.</p> <p>2. ( ) Versão da cabeça:</p> <p>2.1. ( ) D</p> <p>2.2. ( ) E</p> <p>2.3. ( ) Bil</p> <p>2.4. ( ) Não</p> <p>3. ( ) Clonia MsSs:</p> <p>3.1. ( ) D</p> <p>3.2. ( ) E</p> <p>3.3. ( ) Bil</p> <p>3.4. ( ) Não</p> <p>4. ( ) Clonia MsIs</p> <p>4.1. ( ) D</p> <p>4.2. ( ) E</p> <p>4.3. ( ) Bil</p> <p>4.4. ( ) Não</p>	<p>35. Automatismos Hipermotores:</p> <p>1. ( ) Sim D</p> <p>2. ( ) Sim E</p> <p>3. ( ) Sim bilateral</p> <p>4. ( ) Não</p>	<p>36. Desconexão:</p> <p>1. ( ) Sim</p> <p>2. ( ) Não</p>	<p>37. Distonia:</p> <p>1. ( ) Sim D</p> <p>2. ( ) Sim E</p> <p>3. ( ) Sim bilateral</p> <p>4. ( ) Não</p>
<b>Frequência/Duração das Crises</b>			
<p>38. Frequência das crises parciais:</p> <p>1. ( ) Mais de 1 por dia.</p> <p>2. ( ) Menos de 1 por dia, porém mais de 1 por semana.</p> <p>3. ( ) Menos de 1 por semana, porém mais do que 2 por mês.</p> <p>4. ( ) Uma a cada mês.</p> <p>5. ( ) Uma a cada 3 meses.</p> <p>6. ( ) Uma a cada 6 meses.</p> <p>7. ( ) Uma a cada ano.</p>	<p>39. Frequência das crises parciais com generalização:</p> <p>1. ( ) Mais de 1 por dia.</p> <p>2. ( ) Menos de 1 por dia, porém mais de 1 por semana.</p> <p>3. ( ) Menos de 1 por semana, porém mais do que 2 por mês.</p> <p>4. ( ) Uma a cada mês.</p> <p>5. ( ) Uma a cada 3 meses.</p>	<p>40. Frequência das crises generalizadas:</p> <p>1. ( ) Mais de 1 por dia.</p> <p>2. ( ) Menos de 1 por dia, porém mais de 1 por semana.</p> <p>3. ( ) Menos de 1 por semana, porém mais do que 2 por mês.</p> <p>4. ( ) Uma a cada mês.</p> <p>5. ( ) Uma a cada 3 meses.</p>	

8. ( ) Não teve mais crises. 9. ( ) Não.	6. ( ) Uma a cada 6 meses. 7. ( ) Uma a cada ano. 8. ( ) Não teve mais crises. 9. ( ) Não.	6. ( ) Uma a cada 6 meses. 7. ( ) Uma a cada ano. 8. ( ) Não teve mais crises. 9. ( ) Não.
41. Duração média atual das crises. 1. ( ) < 1 minuto 2. ( ) 1 - 2 minutos 3. ( ) 2 - 5 minutos 4. ( ) 5 - 10 minutos 5. ( ) 10 - 30 minutos 6. ( ) > 30 minutos = crise continua 7. ( ) Não sabe informar 8. ( ) Não apresenta mais crises	42. Crise parcial: qual é a duração média das crises: 1. ( ) < 1 minuto 2. ( ) 1 - 2 minutos 3. ( ) 2 - 5 minutos 4. ( ) 5 - 10 minutos 5. ( ) 10 - 30 minutos 6. ( ) > 30 minutos = crise continua. 7. ( ) Não	
43. Crise parcial com generalização: qual é a duração média das crises: 1. ( ) < 1 minuto 2. ( ) 1 - 2 minutos 3. ( ) 2 - 5 minutos 4. ( ) 5 - 10 minutos 5. ( ) 10 - 30 minutos 6. ( ) > 30 minutos = crise continua 7. ( ) Não	44. Crise generalizada: qual é duração média das crises: 1. ( ) < 1 minuto 2. ( ) 1 - 2 minutos 3. ( ) 2 - 5 minutos 4. ( ) 5 - 10 minutos 5. ( ) 10 - 30 minutos 6. ( ) > 30 minutos = crise continua 7. ( ) Não	
<b>Outras Manifestações</b>		
45. Após a crise acabar, o paciente apresenta algum sintoma: 1. ( ) Sonolência. 2. ( ) Confusão mental. 3. ( ) Amnésia. 4. ( ) Paresia. 5. ( ) Paralisia. 6. ( ) Parestesia. 7. ( ) Agitação psicomotora. 8. ( ) Alteração visual/auditiva. Qual:..... 9. ( ) Não apresenta sintomas pós-crise. 10. ( ) Não sabe informar.		
46. Tempo de duração dos sintomas pós-crise: 1. ( ) < 10 minutos. 2. ( ) < 30 minutos. 3. ( ) < 1 hora. 4. ( ) 1 - 2 horas. 5. ( ) 2 - 24 horas. 6. ( ) > 24 horas. 7. ( ) Não apresenta sintomas pós-crise. 8. ( ) Não sabe informar.		
47. Quais os sintomas ou manifestações novas: Sintomas motores: 1. ( ) Tônicos 2. ( ) Clônicos 3. ( ) Tônico-Clônicos 5. ( ) Mioclônicos 6. ( ) Atônicos 7. ( ) Não tem sintomas ou manifestações novas 9. ( ) Perda da consciência 10. ( ) Perda da consciência 11. ( ) Náusea e/ou vômito 12. ( ) Cefaléia	13. ( ) Paresia/paralisia/parestesia (sublinhar). Onde:..... 14. ( ) Alteração visual. Qual:..... 15. ( ) Alteração auditiva. Qual:..... 16. ( ) Alteração gustativa. Qual:..... 17. ( ) Alteração comportamental. Qual:..... 18. ( ) Não	

<b>Alterações no EEG</b>			
48. Descargas Interictais:		49. Padrão Ictal:	
1. Exclusivamente temporais Anteriores/médios		1. ( ) Ativ. Theta Rítmica	
1.1. ( ) Unilateral		2. ( ) Ativ. Beta Rítmica	
1.2. ( ) Bilateral		3. ( ) Ativ. Delta Rítmica	
2. Extratemporais + temp		4. ( ) Atenuação Local	
2.1. ( ) Unilateral		5. ( ) Desc. Repetitivas	
2.2. ( ) Bilateral		6. ( ) Interrupção de descargas	
3. Temporais Anteriores + pos		7. ( ) Início generalizado	
3.1. ( ) uni		8. ( ) Início com padrão indefinido ou artefatos	
3.2. ( ) bil			
		50. Extensão das Descargas Interictais:	
		51. Máxima Eletronegatividade:	
<b>VEEG</b>			
52. Descrição da crise:			
<b>Neuropsicologia</b>			
53. Dominância:		54. Ap. Verbal:	
1. ( ) Direita			
2. ( ) Esquerda			
56. Boston:		57. Mem. Lógica I:	
59. Fig. Rey Cópia:		60. Fig. Rey Record:	
		61. Cubos:	
		62. Vocab.:	
<b>Medicações</b>			
63. Que medicações está usando atualmente:			
1. ( ) Fenobarbital. 2. ( ) Fenitoína. 3. ( ) Carbamazepina. 4. ( ) Ácido Valpróico.			
5. ( ) Oxcarbazepina 6. ( ) Topiramato. 7. ( ) Lamotrigina. 8. ( ) Vigabatrina.			
9. ( ) Clobazam. 10. ( ) Nitrazepam. 11. ( ) Clonazepan. 12. ( ) Diamox.			
13. ( ) Etoxin. 14. ( ) Não sabe informar. 15. ( ) Outra			
64. Qual foi a primeira medicação usada para controlar as crises:			
1. ( ) Fenobarbital. 2. ( ) Fenitoína. 3. ( ) Carbamazepina. 4. ( ) Ácido Valpróico.			
5. ( ) Oxcarbazepina. 6. ( ) Etoxin. 7. ( ) Clobazan. 8. ( ) Clonazepan.			
9. ( ) Diamox. 10. ( ) Nitrazepan. 11. ( ) Lamotragina. 12. ( ) Não sabe informar.			
65. Que outras medicações já utilizou, porém foram suspensas:			
1. ( ) Fenobarbital. 2. ( ) Fenitoína. 3. ( ) Carbamazepina. 4. ( ) Ácido Valpróico.			
5. ( ) Oxcarbazepina 6. ( ) Topiramato. 7. ( ) Lamotrigina. 8. ( ) Vigabatrina.			
9. ( ) Clobazam. 10. ( ) Clonazepan. 11. ( ) Nitrazepam. 12. ( ) Diamox.			
13. . ( ) Etoxin. 14. ( ) Não sabe informar.			
66. Que medicações está usando atualmente:			
1. ( ) Fenobarbital. 2. ( ) Fenitoína. 3. ( ) Carbamazepina. 4. ( ) Ácido Valpróico.			
5. ( ) Oxcarbazepina 6. ( ) Topiramato. 7. ( ) Lamotrigina. 8. ( ) Vigabatrina.			
9. ( ) Clobazam. 10. ( ) Nitrazepam. 11. ( ) Clonazepan. 12. ( ) Diamox.			
13. ( ) Etoxin. 14. ( ) Não sabe informar.			
15. Dose e posologia:.....			
.....			
.....			

67. Já usou ou faz uso de medicamentos genéricos: 1. ( ) Sim. 2. ( ) Não. 3. ( ) Não sabe informar.		
68. Dose e posologia:..... ..... .....		
<b>Fatores de risco</b>		
69. Apresentou crises febris simples: 1. ( ) Sim 2. ( ) Não 3. ( ) Não sabe informar.	70. Já foi submetido à cirurgia neurológica: 1. ( ) Sim. Motivo:..... ..... 2. ( ) Não. 3. ( ) Não sabe informar	71. Em relação à idade gestacional do paciente ao nascimento: 1. ( ) RNPréT < 37sem. 2. ( ) RNAT 3. ( ) RNPósT _42 sem. 4. ( ) Não sabe informar
72. Apresentou crises febris complicadas: 1. ( ) Sim 2. ( ) Não 3. ( ) Não sabe informar	73. Está em tratamento para ou possui outra doença crônica: 1. ( ) Doença Cardiovascular. Qual:..... 2. ( ) Doença Respiratória. Qual:..... 3. ( ) Doença Gastrointestinal. Qual:..... 4. ( ) Doença Hematológica. Qual:..... 5. ( ) Doença Endocrinológica. Qual:..... 6. ( ) Doença Neurológica. Qual:..... 7. ( ) Doença Infecto-contagiosa. Qual:..... (focar em HIV, TB, cisticercos) 8. ( ) Outra. Qual:..... 9. ( ) Não. 10. ( ) Não sabe informar.	
74. Em relação ao peso do paciente ao nascimento: 1. ( ) Menos de 1000g 2. ( ) 1000 - 1500g 3. ( ) 1500 - 2000g 4. ( ) 2000 - 2500g 5. ( ) > 2500g 6. ( ) Não sabe informar		
75. Já teve crise epilética provocada por febre: 1. ( ) Sim. Com que idade:..... Quantas: 1.1. ( ) Não. 1 1.2. ( ) Menos de 3. 1.3. ( ) Menos de 5. 1.4. ( ) Mais de 5. 1.5. ( ) Não sabe informar. 2. ( ) Não.		
76. Em relação ao escore de APGAR: 1. ( ) 1º minuto:..... 2. ( ) 5º minuto:..... 3. ( ) 10º minuto:..... 4. ( ) Dados indisponíveis.	77. Em relação à intercorrências no período neonatal, o paciente apresentou: 1. ( ) Asfixia neonatal. 2. ( ) Sepses neonatal. Com meningite neonatal: 2.1. ( ) Sim. 2.2. ( ) Não. 3. ( ) Infecção congênita do grupo TORCH. 4. ( ) Icterícia neonatal. 5. ( ) Toco-traumatismo. 6. ( ) Não teve intercorrências. 7. ( ) Não sabe informar.	

<p>78. Já sofreu traumatismo cranioencefálico grave (<i>lembrar definição do termo, confirmar no prontuário</i>):</p> <p>1. ( ) Sim. Com que idade:.....</p> <p>2. ( ) Não.</p> <p>3. ( ) Não sabe informar</p>	<p>79. Já teve outra doença que necessitou internação hospitalar:</p> <p>1. ( ) Sim. Qual e com que idade:.....</p> <p>2. ( ) Não</p> <p>3. ( ) Não sabe informar</p>
<p>80. Tem diagnóstico confirmado de alguma doença ou síndrome genética:</p> <p>1. ( ) Sim.</p> <p>Qual:.....</p> <p>2. ( ) Não.</p> <p>3. ( ) Não sabe informar.</p>	<p>81. Possui exame de imagem demonstrando lesão ou alteração cerebral:</p> <p>1. ( ) Sim, local e tipo de lesão:.....</p> <p>2. ( ) Não.</p> <p>3. ( ) Não sabe informar.</p>
<b>Neuroimagem</b>	
<p>82. Critérios Hipocampo:</p> <p>1. ( ) Posição Medial em Relação a Corno Temporal</p> <p>2. ( ) Redondo; Aspecto Globular; Orientação Vertical</p> <p>3. ( ) Fissura Coroidal Vazia</p> <p>4. ( ) Fímbria Misplaced</p> <p>5. ( ) Normal</p> <p>6. ( ) Atrófico</p>	<p>83. Sulco Colateral:</p> <p>1. ( ) Profundo e Verticalizado</p> <p>2. ( ) Penetrando na fissura coroidea vazia</p> <p>3. ( ) Normal</p> <p>84. Giro Parahipocampal:</p> <p>1. ( ) Redução da porção adjacente à fissura hipocampal</p> <p>2. ( ) Normal</p> <p>85. Subiculum:</p> <p>1. ( ) Anormal; Grosso</p> <p>2. ( ) Normal</p>
<p>86. Outras patologias associadas:</p> <p>1. ( ) Disgenesia</p> <p>2. ( ) Alteração espessura subst cinzenta</p> <p>3. ( ) Esclerose</p> <p>4. ( ) Redução do pólo temporal</p> <p>5. ( ) Cisto</p> <p>6. ( ) Alteração de sinal da sub branca</p> <p>7. ( ) Displasia</p> <p>8. ( ) Perda da interface entre a sub.branca e cinzenta</p> <p>9. ( ) Normal</p> <p>10. ( ) Atrofia de c. mamilar</p> <p>11. ( ) Atrofia hemisfério</p> <p>12. ( ) Fornix atrofiado</p> <p>13. ( ) Encefalomalácia</p>	