



Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Angélica Marta Lopes

**Marcadores de Estresse Oxidativo em
Pacientes com Epilepsia do
Lobo Temporal Mesial**

São José do Rio Preto

2019

Angélica Marta Lopes

**Marcadores de Estresse Oxidativo em
Pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal Mesial**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto para obtenção do Título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas.

Orientadora: Profa. Dra. Doroteia Rossi Silva Souza

São José do Rio Preto

2019

Lopes, Angélica Marta

Marcadores de Estresse Oxidativo em Pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal Mesial

São José do Rio Preto, 2019

98 p.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Eixo Temático: Medicina e Ciências Correlatas

Orientadora: Profa. Dra. Doroteia Rossi Silva Souza

1. Epilepsia do Lobo temporal; 2. Estresse Oxidativo; 3. Biomarcadores

Angélica Marta Lopes

**Marcadores de Estresse Oxidativo em Pacientes
com Epilepsia do Lobo Temporal Mesial**

BANCA EXAMINADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

Presidente e Orientadora: Profa. Dra. Dorotéia Rossi Silva Souza

2º Examinador: Profa. Dra. Camila Montoro Mazeti Felício

3º Examinador: Prof. Dr. Gerardo Maria de Araújo Filho

4º Examinador: _____

5º Examinador: _____

Suplentes: Profa. Dra. Claudia Regina Bonini Domingues

Prof. Dr. Moacir Alves Borges

São José do Rio Preto, 28 de Junho de 2019

SUMÁRIO

Dedicatória	ii
Agradecimentos	iiiiv
Epígrafe	ix
Lista de Figuras	xi
Lista de Tabelas	xiii
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xiv
Resumo	xviii
Abstract	xxiii
1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Aspectos Clínico-Epidemiológicos da Epilepsia	2
1.2 Transtorno Psiquiátrico na Epilepsia	6
1.3 Epilepsia do Lobo Temporal Refratária e Estresse Oxidativo	7
1.4 Objetivo Geral	14
1.5 Objetivos Específicos	14
2. CASUÍSTICA E MÉTODOS	16
2.1 Casuística	16
2.2 Métodos	17
2.2.1 Dosagens bioquímicas	17
2.2.2 Perfil clínico/sócio/demográfico e hábitos de vida	19
2.2.3 Análise estatística	20
3. RESULTADOS	22
3.1 Perfil Sócio-Demográfico-Clínico e Hábitos de Vida	22
3.2 Marcadores de Estresse Oxidativo	25
3.3 Correlação entre Marcadores do Estresse Oxidativo	25
4. DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
APÊNDICE - Artigo	65
ANEXO I - Aceite do Comitê de Ética em Pesquisa da FAMERP	96
ANEXO II - Termo de Consentimento Livre e Pós-Esclarecido	97
ANEXO III - Questionário Sócio-Demográfico e Clínico	98

Dedicatória

Dedico este trabalho

A Deus, toda honra e toda glória. Ao meu centro de paz e amor que tenho a honra de nominar família. Aos meus pais, Adriana e João, que nunca ceifaram meus sonhos e em momento algum duvidaram da minha capacidade, apesar de eu mesma muitas vezes o fazer. Vocês são os melhores que possam existir em todos os universos. Aos meus avós, José e Josefina, pelo incentivo, carinho e dedicação que têm comigo, pelo ombro amigo nos momentos de angústia, pelo auxílio financeiro em todos os projetos que eu almejava, por sempre acreditarem nos princípios que me transmitiram. À minha bisavó Luiza, pelos sábados felizes e o conforto de um lar. A família Secco, família Lopes, família Celso. Eu realmente sou muito abençoada por poder desfrutar do convívio com vocês. A todos os meus amigos de infância e os que encontrei nessa jornada, vocês sempre fizeram a diferença na minha vida. A minha orientadora profa. Dorotéia, exemplo de humanidade e de educadora, que admiro e me inspira. A senhora ilumina tudo que toca. Obrigada por me impulsionarem até aqui! Sem vocês, eu não teria a mesma força! Gratidão!

Agradecimientos

Agradecer. É só o que desejo fazer ao fim dessa jornada. Foram dias de muito aprendizado e auto-conhecimento. Momentos de angústia e de alegria. De dor e prazer. De desistências e insistências! Então, finalmente, emocionada, posso dizer novamente aos meus queridos que me rodeiam, muito obrigada! Por uma palavra, um carinho e um gesto; acreditem, tudo isso me impulsionava nos meus piores dias e me dava mais força nos meus melhores dias.

Obrigada Senhor Deus, por nunca desistir de mim. Que eu sempre seja a menina dos teus olhos.

À minha mãe amada, não existe vocabulário pra expressar o quanto é importante pra mim. Apesar de não ter muito estudo, nunca ceifou meus sonhos. Acreditava em mim mais do que eu merecia, às vezes. Me ensinou a seguir em frente, independente das dificuldades. Sempre diz: “um passo de cada vez, calma.” Você é meu centro de paz, mãe. Obrigada por ser essa pessoa tão boa, essa mulher que eu admiro imensamente. Eu devo tudo à você! Te amo mais do que posso falar!

Ao meu pai amado, meu pequeno grande homem. Seu exemplo de luta e caráter me fizeram ser quem eu sou. Obrigada por me ensinar todos os bons valores. Obrigada por ser meu herói.

Aos meus pais-avós José e Josefina. Não me vêm palavras. Só sentimentos. Vocês são o que há de melhor nessa Terra. São meus anjos, porque Deus gosta muito de mim! Vô, obrigada pelos benzimentos, ensinamentos, músicas e por toda dedicação. Serei sempre seu “Angero”. Vó, obrigada por acreditar em quem sou e investir nisso! Por todas as vezes que não me deixou cair e todos esses anos de carinho e amor. Minha eterna gratidão.

À minha bisa Luiza, que sempre me acolheu. Lamento que agora não se lembre de todos nossos momentos felizes, mas sempre estarei por perto para lembrar por você.

Às minhas queridas tias-avós, Fani, Iraci, Devani e Cleusa (sinto sua falta!), por me proporcionarem o aconchego de um lar e, assim, poder desfrutar de uma verdadeira família. Estendo esse agradecimento aos demais integrantes da família, primos, primas, tios e tias, igualmente queridos.

Aos meus eternos amigos de infância: Léo, Isa, Nika, Jão, Lika, Tata e Rê. Obrigada por compreenderem minha ausência e, mesmo assim, me amarem. Vocês são muito especiais para mim!

À todos meus velhos amigos e os que conquistei nessa intensa jornada. Vocês tornam meus dias melhores!

Aos meus afilhados, Larissa, Bernardo e Valentina, eu amo vocês demais da conta!

Ao professor Gerardo Araújo, por toda paciência e dedicação.

À professora Cláudia Bonini e seus alunos, por abrirem gentilmente as portas de seu laboratório e me acolherem de forma tão especial.

Ao meu professor e querido amigo, Danilo “Kexu”. Sem você eu não teria entendido nada! Obrigada pela paciência, ensinamento, apoio e paciência mais um pouco... Você é uma pessoa maravilhosa! Que Deus te ilumine sempre!

À Nayara, que me socorreu nas análises! Muito obrigada pela paciência e carinho! Eu não teria finalizado sem você.

Aos alunos de iniciação científica Bruna e Patrick. Sempre seremos a equipe de Neuropsiquiatria! Obrigada por me permitirem ensinar e aprender muito com vocês! Seus caminhos são de sucesso, pois são pessoas incríveis!

À Isabela Facincani, minha amiga, que esteve presente comigo no princípio e que jamais esquecerei.

Ao Dr. Fábio Borgh, por me permitir participar do seu projeto. Foi assim que tudo começou!

À toda equipe querida do NPBIM: Milton, Maysa, Camila Ive, Gracieli, Maria Clara, Days, Denise, Lucas, Ana, Victor, Douglas, Rodolfinho, Vitória, Duda, Tayanne, Fran, Micheli, Sabrina, Simone e todos que por lá passaram. Saibam que, de todo meu coração, os considero como uma família. Obrigada por todos os ensinamentos, ajuda e carinho!

À minha amiga de laboratório e de vida, Bia Brait, pelas sessões de terapia de graça! Te levarei sempre no meu coração!

Ao meu querido amigo Rafael Fernandes-Ferreira. Você é minha família. Meu irmão que Deus me deu de presente, pois sabia que eu necessitava desse amor fraternal. Tudo começou com você me escolhendo para aquela vaga de iniciação, e desde então você continua sendo meu guia e conselheiro. Que Deus sempre te guarde e que essa sua luz possa clarear muitas mentes ainda! Eu te amo!

A todos do bloco de pesquisa U-6/FAMERP, principalmente equipe do LITEX, por colaborarem comigo quando a centrífuga não queria me ajudar e demais momentos de “sofrência”. Vocês são demais! Muito obrigada pela generosidade!

À toda equipe do Instituto de Radiodiagnóstico Rio Preto - Ultra-X, principalmente do setor de Ressonância Magnética – RM, meu local querido de trabalho, por compreenderem meus dias ruins e entenderam essa minha “segunda profissão”.

À equipe do quinto andar, polissonografia/HB, por me receberem bem e me ensinarem a lidar com aquele mundo novo.

À Dra. Lúcia Helena, por me receber em seu setor e pelas dicas na banca. Muito obrigada!

Aos pacientes, o meu sincero obrigada por entenderem a importância desse trabalho e assim contribuírem para a realização do mesmo.

À minha querida orientadora prof.^a Dorotéia. Professora, a senhora é um trevo de quatro folhas. Feliz é aquele que desfruta de sua convivência e sabedoria. Sua paixão e dedicação pela pesquisa cativa qualquer pessoa e passamos a admirá-la instantaneamente. Muito obrigada pela paciência, pelos ensinamentos, pelo carinho, pela bondade, enfim, por ser essa criatura iluminada que também ilumina todos a sua volta! Só peço que Deus continue te abençoando sempre. A minha mais sincera gratidão, admiração e respeito.

À Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP e Hospital de Base – HB, seus dirigentes e funcionários, pela cooperação e apoio.

À equipe do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da FAMERP, pela oportunidade oferecida, atenção, eficiência e suporte. Eu estaria perdida sem vocês! Muito obrigada!

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse projeto, o meu muito obrigada!

Epígrafe

EPIGRAFE

*“A vida me ensinou a nunca desistir, nem ganhar, nem perder, mas procurar evoluir.
Podem me tirar tudo que tenho, só não podem me tirar as coisas boas que eu já fiz pra
quem eu amo, eu sou feliz e canto, o universo é uma canção, eu vou que vou! Histórias,
nossas histórias, dias de luta, dias de glória [...]”*

- Alexandre Magno Abraão (Chorão)

*“A vida não é fácil para nenhum de nós. Temos que ter persistência e, acima de tudo,
confiança em nós mesmos.”*

- Marie Curie

Lista de Figuras

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação das regiões de atuação da epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial temporal.....	5
Figura 2. Ilustração representando a formação de um radical livre (RL) de oxigênio (superóxido).....	8
Figura 3. Representação das etapas da cascata de peroxidação lipídica.....	10
Figura 4. Ação simplificada dos antioxidantes sobre os radicais livres (RLs).....	11
Figura 5. Ação da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) em espécies reativas de oxigênio.....	12
Figura 6. Ciclo da glutathiona.....	12
Figura 7. Ilustração mostrando a importância de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) na via da glutathiona.....	13
Figura 8. Marcadores de estresse oxidativo.....	27
Figuras 9 e 10. Correlação entre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com epilepsia do lobo temporal por esclerose mesial temporal com ou sem transtorno psiquiátrico e indivíduos sem a doença (grupo controle).....	28 e 29

Lista de Tabelas

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Perfil sócio-demográfico, hábitos de vida e comorbidades em pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2), refratários ao tratamento medicamentoso e indivíduos sem a doença (G3).....23

Tabela 2. Caracterização clínica de pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2), refratários ao tratamento medicamentoso..... 24

_____ *Lista de Abreviaturas
e Símbolos*

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
/	Por
<	Menor
>	Maior
±	Mais ou menos
≥	Maior ou igual
μL	Microlitros
ABTS	2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-ácido-6-sulfônico-diamônio
ATP	Trifosfato de adenosina
°C	Grau Celsius
CA	Corno de Ammon
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CAT	Catalase
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DM	Diabetes mellitus
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Desvio padrão
DSM-IV	<i>Diagnostic and statistical manual of mental disorders – 4th Edition</i>
EDTA	Ácido etinoadaminotetracético
EEG	Eletroencefalograma
ELT	Epilepsia do lobo temporal
ELT-EMT	Epilepsia do lobo temporal por esclerose mesial temporal
EMT	Esclerose mesial temporal
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FAEs	Fármacos antiepilépticos
FAMERP	Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Fe ⁺⁺	Íon ferroso
Fe ⁺⁺⁺	Íon férrico
G	Grupo
g	Grama/Força gravitacional
GLM	<i>General Linear Models</i>

GABA	Ácido gama-aminobutírico
G6P	Glicose-6-fosfato
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GSH	Glutationa na forma reduzida
GSH-t	Glutationa reduzida somada à glutaciona oxidada
GSSG	Glutationa na forma oxidada
HCl	Ácido clorídrico
H₂O	Água
H₂O₂	Peróxido de hidrogênio
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HB/FAMERP	Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
HClO	Ácido hipocloroso
IC	Intervalo de confiança
IDDI	<i>Interictal Dysphoric Disorder Inventory</i>
L•	Radical alquila
LH	Cadeia lipídica
LO•	Radical alcoxila
LOO•	Radical peroxila
LOOH	Hidroperóxido lipídico
M	Molar
MDA	Malondialdeído
mg/dL	Miligramas por decilitro
MiliQ	Água ultra-pura deionizada
mL	Mililitro
mM	Mili molar
mmHg	Milímetro de mercúrio
N	Número de indivíduos
NADP	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NADPH	Nicotinamida adenosina difosfato reduzida
NBI	<i>Neurobehavioral Inventory</i>
NDDI-E	<i>Neuropsychiatric Inventory for Depression in Epilepsy</i>

ng	Nanograma
nm	Nanômetro
•NO	Óxido nítrico
O₂	Oxigênio molecular
O₂^{-•}	Radical superóxido
OH⁻	Hidroxila
OH[•]	Radical hidroxila
P	Nível de significância
PBS	Tampão fosfato-salino
pH	Potencial hidrogênico
PI	Personalidade interictal
R	Índice de correlação
R[•]	Radical livre reativo
RLs	Radicais livres
RM	Ressonância magnética
SOD	Superóxido dismutase
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TC	Tomografia computadorizada
TCE	Trauma crânio-encefálico
TDI	Transtorno disfórico interictal
TEAC	Capacidade antioxidante total equivalente ao trolox
TP	Transtorno psiquiátrico
Tris	Tris(hidroximetil) aminometano
U/mL	Unidade por mililitro

Resumo

RESUMO

Introdução - A epilepsia, condição neurológica crônica de etiologia heterogênea, afeta mundialmente cerca de 50 milhões de indivíduos. A epilepsia do lobo temporal (ELT), com prevalência estimada de 20-25%, induz alterações bioquímicas, fisiológicas, moleculares e estruturais complexas no cérebro. A esclerose mesial temporal (EMT) é uma das lesões mais frequentemente associadas à ELT. Há prevalência elevada de transtornos psiquiátricos (TP) em pacientes com ELT-EMT, cujos mecanismos fisiopatológicos podem estar correlacionados. O estudo do estresse oxidativo, decorrente do desequilíbrio entre produção de compostos oxidantes e atividade do sistema de defesa antioxidante, poderá contribuir na compreensão da base biológica de ELT-EMT. **Objetivos** – Avaliar a associação de marcadores do estresse oxidativo com ELT-EMT em pacientes resistentes ao tratamento medicamentoso, com e sem TP. **Casuística e Métodos** – Foram estudados 98 indivíduos, distribuídos em três grupos: G1–25 pacientes diagnosticados com ELT-EMT refratária sem TP; G2–21 pacientes com ELT-EMT refratária e TP; G3–52 indivíduos sem diagnóstico de epilepsia (Grupo Controle). Marcadores do estresse oxidativo, incluindo catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase (GR), glutathiona reduzida somada à glutathiona oxidada (GSH-t), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), capacidade antioxidante total equivalente ao Trólox (TEAC) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram analisados por espectrometria. Perfil clínico/demográfico/social e hábitos de vida foram obtidos por meio de questionário e prontuário médico. Admitiu-se erro alfa de 5%. **Resultados** – Os grupos mostraram semelhança para sexo, tabagismo, etilismo e comorbidades ($P > 0,05$). História familiar de epilepsia prevaleceu nos pacientes, comparado aos controles (G1=60%; G2=57,1%; G3=15,4%; $P=0,0002$ e $P=0,0009$, respectivamente). Para perfil social, observou-se menor renda financeira em pacientes (G1=48%; G2=42,9%), comparado aos controles (G3=90,4%; $P=0,0003$ e $P < 0,0001$; respectivamente); o mesmo ocorreu para escolaridade em nível superior (G1=4%; G2=4,8%; G3=63,5%; $P < 0,0001$ e $P < 0,0001$; respectivamente). Em relação aos marcadores de estresse oxidativo, níveis de CAT mostraram-se aumentados em pacientes (G1=15.901±5.395,5U/mL; G2=16.334±5.815,8U/mL), comparado aos controles (G3=10.155±4.286,2U/mL; $P < 0,0001$), assim como TBARS (G1=569,73±694,35ng/mL; G2=506,13±598,08ng/mL; G3=180,23±47,09ng/mL; $P=0,0013$). Por outro lado, os pacientes apresentaram redução nos níveis de GPx

(G1=4,81±1,54U/mL; G2=4,81±1,40U/mL), G6PD (G1=0,91±0,32U/mL; G2=0,85±0,24U/mL) e GSH-t (G1=0,53±0,15mM; G2=0,55±0,15mM), comparado aos controles (G3=7,06±1,81U/mL; 1,10±0,32U/mL; 0,66±0,27mM; P<0,0001; P=0,0057; P=0,0454). Houve correlação negativa entre TBARS e GPx no G2 (R=-0,5151; P=0,0240), entretanto, houve correlação positiva no grupo controle entre GR e G6PD (R=0,2854; P=0,0403), GPx e G6PD (R=0,3362; P=0,0148); GSH-t e G6PD (R=0,2950; P=0,0338) e GPx e GSH-t (R=0,5977; P<0,0001). **Conclusão** – Valores reduzidos de GPx, G6PD e GSH-t e aumentados de CAT em pacientes, com ou sem TP, indicam demanda de antioxidantes no combate ao estresse oxidativo na ELT-EMT, porém nem sempre eficaz mostrado pelo aumento de TBARS, um marcador de peroxidação lipídica. A correlação entre os marcadores de estresse oxidativo reflete a integração dos sistemas antioxidantes e a peroxidação lipídica. Destaca-se, ainda, a persistência de estigmas sociais pré-estabelecidos nos pacientes com ELT-EMT, relacionados a perfil sócio-econômico-educacional, além de caráter genético associado à doença.

Palavras-chave: Epilepsia do Lobo Temporal; Estresse Oxidativo; Biomarcadores.

Abstract

ABSTRACT

Introduction - Epilepsy, a chronic neurological condition of heterogeneous etiology, affects around 50 million people worldwide. Temporal lobe epilepsy (TLE), with an estimated prevalence of 20-25%, induces complex biochemical, physiological, molecular and structural changes in the brain. Temporal mesial sclerosis (TMS) is one of the lesions most frequently associated with TLE. There is a high prevalence of psychiatric disorders (PD) in patients with TLE-TMS, whose pathophysiological mechanisms may be correlated. The study of oxidative stress, due to the imbalance between the production of oxidant compounds and the activity of the antioxidant defense system, may contribute to the understanding of the biological basis of TLE-TMS. **Objectives** - To evaluate the association of oxidative stress markers with TLE-TMS in patients resistant to drug treatment, with and without PD. **Patients and Methods** - We studied 98 individuals, distributed in three groups: G1 -25 patients diagnosed with TLE-TMS refractory without PD; G2 - 21 patients with refractory TLE-TMS and PD; G3 - 52 individuals without diagnosis of epilepsy (Control Group). Oxidative stress markers, including catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), reduced glutathione plus oxidized glutathione (GSH-t), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) by spectrophotometry. Clinical / demographic / social profile and life habits were obtained by means of a questionnaire and medical records. A 5% alpha error was allowed. **Results** – The groups showed similarity for sex, smoking, alcoholism and comorbidities ($P > 0.05$). Familial history of epilepsy prevailed in patients compared to controls (G1=60%; G2=57.1%; G3=15.4%; $P=0.0002$ and $P=0.0009$, respectively). For the social profile, lower financial income was observed in patients (G1=48%; G2=42.9%), compared to controls (G3=90.4%; $P=0.0003$ and $P<0.0001$; respectively); the same occurred for higher level education (G1=4%; G2=4.8%; G3=63.5%; $P<0.0001$ and $P<0.0001$; respectively). In relation to the markers of oxidative stress, CAT levels were increased in patients (G1=15,901±5,395.5U/mL; G2=16,334±5,815.8U/mL), compared to controls (G3=10,155±4,286.2U/mL; $P<0.0001$), as well as TBARS (G1=569.73±694.35ng/mL, G2=506.13±598.08ng/mL; G3=180.23±47.09ng/mL; $P=0.0013$). On the other hand, patients presented a reduction in GPx levels (G1=4.81±1.54U/mL; G2=4.81±1.40U/mL), G6PD (G1=0.91±0.32U/mL; G2=0.85±0.24U/mL) and GSH-t (G1=0.53±0.15mM; G2=0.55±0.15mM), compared to

controls ($G3=7.06\pm 1.81U/mL$; $1.10\pm 0.32U/mL$; $0.66\pm 0.27mM$; $P<0.0001$; $P=0.0057$; $P=0.0454$). There was a negative correlation between TBARS and GPx in G2 ($R=-0.5151$; $P=0.0240$); however, there was a positive correlation in the control group between GR and G6PD ($R=0.2854$; $P=0.0403$), GPx and G6PD ($R=0.3362$; $P=0.0148$); GSH-t and G6PD ($R=0.2950$; $P=0.0338$) and GPx and GSH-t ($R=0.5977$; $P<0.0001$).

Conclusion - Reduced values of GPx, G6PD and GSH-t and increased CAT in patients with or without PD indicate a demand for antioxidants on the combat against oxidative stress in TLE-MTS, but not always effective as shown by the increase in TBARS, a marker of lipid peroxidation. The correlation between oxidative stress markers reflects the integration of antioxidant systems and lipid peroxidation. It is also worth to point out the persistence of pre-established social stigmas in patients with TLE-MTS, related to socioeconomic-educational profile, as well as genetic character associated with the disease.

Keywords: Temporal Lobe Epilepsy; Oxidative stress; Biomarkers.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos Clínico-Epidemiológicos da Epilepsia

Epilepsia é uma condição neurológica crônica, de etiologia heterogênea. ^(1,2) Caracteriza-se por descargas elétricas neuronais anormais espontâneas, resultado da potencialização da excitação e/ou falha de neurotransmissão inibitória, ocasionando perda de neurônios. ^(3,4) A crise epilética recorrente e não provocada é a expressão clínica da doença. Características semiológicas e ponto de origem da lesão determinam sua divisão em: crises focais - descargas elétricas anormais em áreas restritas de um hemisfério cerebral; e crises generalizadas - alteração elétrica em um ponto determinado, com rápido acometimento de amplas redes neurais em ambos os hemisférios cerebrais. Devido a essas diferenças, as manifestações clínicas também são distintas, desde abalos musculares rápidos, versão forçada de cabeça e olhos, automatismos e perda da consciência, até breve perda de contato com o meio. ⁽⁵⁾

Ainda, de acordo com a causa, a epilepsia pode ser classificada em: estrutural-metabólica - lesão estrutural no exame de neuroimagem ou existência de condição metabólica; genéticas (ou provavelmente genéticas) - não existe lesão estrutural, a epilepsia ocorre como resultado de um defeito genético conhecido; e causa desconhecida - exames de neuroimagem não revelam a etiologia da epilepsia e não podem ser classificadas como de origem genética. ⁽⁵⁾

Mundialmente, há cerca de 50 milhões de indivíduos com epilepsia. ⁽¹⁾ Na população brasileira, é representada por 3 milhões de pessoas, ⁽⁶⁾ com incidência de 12/1.000 habitantes na Grande São Paulo, SP, 17/1.000 em Porto Alegre, RS ⁽⁷⁾ e 18,6/1.000 em São José do Rio Preto, SP. ⁽⁸⁾ São estimados, aproximadamente, 2,4 milhões de novos casos anualmente no mundo e 200 mil no Brasil, dos quais 50% já são acometidos na infância e adolescência. ^(6,9,10) Em países industrializados observam-se

dois picos de incidência da doença: no primeiro ano de vida, decorrente de processos pré, peri e pós-natais e após a sétima década de vida, em razão de doenças neurológicas degenerativas e lesões vasculares. A incidência e prevalência de epilepsia na faixa etária acima dos 70 anos são duas a três vezes maiores que na infância. ^(5,11) Nesse contexto, essa doença pode gerar grandes impactos financeiros por afetar a produtividade do indivíduo no trabalho, além de causar mortes prematuras e muitos gastos com o tratamento. ⁽¹²⁾

Para a epilepsia, não há distinção de gênero, idade, raça ou classe social, porém, 80% dos indivíduos vivem em países em desenvolvimento e, conseqüentemente, expostos a maior susceptibilidade a eventos pró-epileptogênicos como infecção viral, traumatismo craniano e acidente vascular encefálico. ^(13,14) Adicionalmente, nesses países, questões políticas, sociais e econômicas dificultam o tratamento adequado por grande parte da população. Incluem-se falta de profissionais qualificados para o atendimento, difícil acesso aos medicamentos, pobreza, estigmas sociais e tratamento negligenciado. ^(6,12,15)

Definir a etiologia da doença implica em análise conjunta de história clínica detalhada (tipo de crise, idade de início da doença, presença de doença neurológica prévia, história familiar), exame físico e exames de eletroencefalograma (EEG) e neuroimagem. ^(16,17) O EEG é o registro da atividade elétrica neuronal, imprescindível para caracterizar o tipo de crise, assim como a classificação sindrômica, além de contribuir para decisões terapêuticas. Acrescenta-se o vídeo-EEG, com função adicional da monitorização do indivíduo por vídeo, sendo útil em diagnóstico diferencial e avaliação pré-cirúrgica. ^(5,18) A ressonância magnética (RM) de crânio é o método mais adequado para o diagnóstico de epilepsia do lobo temporal (ELT), por ser uma técnica mais sensível na investigação de lesões, principalmente em estruturas temporais, como

o hipocampo. A tomografia computadorizada (TC) também pode ser solicitada em casos emergenciais, como trauma, ou na indisponibilidade no serviço ou contra-indicação de RM, como em pacientes com marca-passo. ^(5,16,17)

O tratamento da epilepsia consiste em fármacos antiepilépticos (FAEs). Nesse caso, deve-se individualizar o tratamento considerando tipo de crise, idade, etiologia, comorbidades, sexo (já que existem FAEs teratogênicos), padrão de EEG, tolerância à medicação e possíveis interações medicamentosas. ^(5,19) Cerca de 10-15% dos pacientes que não tenham respondido à droga inicial podem obter controle com a segunda droga, ainda em monoterapia. A partir daí, apenas 5% dos pacientes vão obter controle completo com a terceira monoterapia. ⁽⁵⁾

Estudos epidemiológicos mostram que 70 a 80% dos pacientes com epilepsia podem atingir a remissão. No entanto, 30 a 40% são resistentes aos fármacos antiepilépticos. Nesse caso, não há controle de crises após dois tratamentos em monoterapia com drogas adequadas e em doses adequadas e bem toleradas. Desses pacientes, cerca de 30% apresenta-se como candidato potencial à cirurgia, uma outra forma de tratamento mais invasiva que consiste na dissecação do local da lesão, sendo eficiente em até 80% dos casos. ^(3,5,20,21)

A ELT é a forma mais comum de epilepsia focal na população adulta, sendo responsável por 40% de todos os casos de epilepsia nesse grupo. ⁽²²⁾ A síndrome epiléptica é mais frequentemente encontrada em pacientes com epilepsia refratária ao tratamento medicamentoso, ⁽²³⁾ e pode ser subdividida em mesial e lateral de acordo com a origem e semiologia das crises. ⁽²²⁾ Destaca-se como mais frequente a esclerose mesial temporal (EMT), que causa gliose e morte neuronal normalmente no hipocampo, especialmente das células do setor de Sommer, no corno de Ammon - CA1 e CA3 e dos neurônios da região hilar, e estruturas circunvizinhas como para-hipocampo e amígdala

(Figura 1). É a forma de epilepsia focal estrutural-metabólica mais comum e de difícil controle medicamentoso em adultos. ^(4,6)

A ELT-EMT associa-se a déficits cognitivos, como perda de memória verbal, de funcionamento executivo e de linguagem. Além disso, podem ocorrer alterações de humor e transtornos de personalidade como o transtorno disfórico interictal (TDI), personalidade interictal (PI) e depressão, por atingir estruturas límbicas responsáveis pelas emoções e comportamentos sociais, o que dificulta ainda mais o tratamento. ⁽²⁴⁻²⁶⁾ Acredita-se que, dos novos casos a cada ano, 30-40% dos pacientes serão refratários às atuais terapias com FAEs. Isso acarreta maior impacto negativo na qualidade de vida e pior desempenho neuropsicológico e, possivelmente, maior presença de transtornos psiquiátricos (TP). ^(20,21,27)

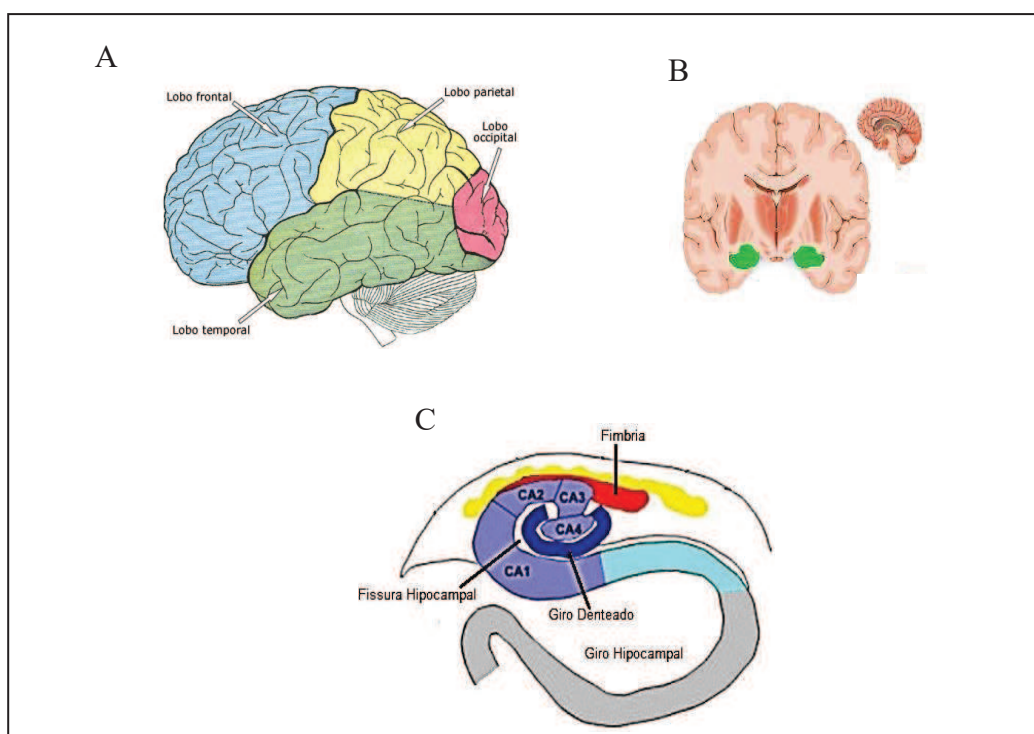


Figura 1. Representação das regiões de atuação da epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial temporal. (A) Lobos cerebrais, com destaque ao lobo temporal, em verde. (B) Corte em coronal do cérebro, destacando os hipocampus em verde. (C) Formação do hipocampo e regiões circunvizinhas. Adaptado de Ramaswamy (2014). ⁽²⁸⁾

1.2 Transtornos Psiquiátricos na Epilepsia

A complexa associação entre epilepsia e TP está entre os mais frequentes e importantes aspectos da epileptologia. Estudos enfatizam essa relação, comprovando o crescente interesse pelo tema. Quadros psiquiátricos estão associados à praticamente todas as síndromes epiléticas e dificultam o manejo dos pacientes, com conseqüente comprometimento da qualidade de vida. ⁽²⁹⁻³¹⁾ Várias alterações comportamentais podem ocorrer em pacientes com epilepsia, como depressão e ansiedade, além de quadros psicóticos potencialmente graves. Destacam-se, ainda, outros transtornos comportamentais especificamente ligados à epilepsia, tais como os transtornos afetivos e somatoformes interictais e traços específicos de transtornos de personalidade, como a síndrome de Gastaut-Geschwind. ^(31,32)

A prevalência e gravidade dos quadros psicopatológicos podem variar de acordo com fatores demográficos, como demonstrado em estudos populacionais, assim como em estudos clínicos, incluindo tipo de síndrome epilética, gravidade e frequência das crises, tipo e número de drogas antiepiléticas em uso e presença de fatores etiológicos definidos, destacando-se, nesse caso, neoplasias com baixo grau de malignidade, malformações vasculares, áreas de gliose, cistos, EMT; e fatores psicossociais como estigma sobre a doença e qualidade da rede social de apoio. ⁽³¹⁻³³⁾ Apesar da sua elevada prevalência e crescente associação com prejuízos no manejo clínico e piora na qualidade de vida, existem divergências quanto ao papel desempenhado pela epilepsia no desenvolvimento dos diferentes TP, que podem ocorrer tanto em comorbidade como ser um aspecto da própria síndrome epilética. ^(33,34)

A possível existência de quadros psiquiátricos particulares à epilepsia também é controversa, apesar de constatação crescente da estreita relação entre epilepsia e determinadas alterações comportamentais. ^(27,34) Devido à elevada frequência de TP em

pacientes com ELT-EMT, há necessidade de avaliação psiquiátrica, especialmente para candidatos cirúrgicos. ⁽³⁵⁾ Além disso, é necessário esclarecer os mecanismos fisiopatológicos associados à TP na ELT-EMT. Alguns estudos destacam a possível relação bidirecional entre epilepsia e TP, mediada por mecanismos fisiopatológicos comuns. Nesse caso, destaca-se que a história prévia de depressão acarreta risco 4-7 vezes maior para o desenvolvimento de epilepsia, assim como a presença de epilepsia confere risco 5-25 vezes maior para o desenvolvimento de depressão. ^(27,36-39)

1.3 Epilepsia do Lobo Temporal Refratária e Estresse Oxidativo

Estudos demonstram associação entre estresse oxidativo e doenças neurodegenerativas, incluindo as doenças de Alzheimer e Parkinson, assim como epilepsia, envolvendo inflamações crônicas. ⁽⁴⁰⁻⁴²⁾ O processo de estresse oxidativo ocorre quando há desequilíbrio entre compostos oxidantes e a atuação do sistema de defesa antioxidante, em favor da geração excessiva de radicais livres (RLs) ou falha na sua remoção. ⁽⁴³⁾ Os compostos oxidantes são representados pelas espécies reativas, caracterizadas como átomos, moléculas ou íons que possuem alta reatividade em sua maioria, destacando-se as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e oxigênio (EROs), que podem ser divididas em RLs e compostos não radicalares. ⁽⁴⁴⁾

Espécies instáveis, os RLs por possuírem elétrons livres não pareados em sua camada orbital externa (Figura 2), são altamente reativos a outros fragmentos moleculares próximos para formar ligações estáveis, resultando na alteração da função e morfologia de proteínas e lipídeos. Destacam-se, nesse caso, o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila (OH^{\cdot}), radical alquila (L^{\cdot}), radical alcoxila (LO^{\cdot}), radical peroxila (LOO^{\cdot}) e óxido nítrico ($^{\cdot}NO$). ^(3,45) Já os compostos não radicalares não possuem elétrons livres, sendo menos instáveis que os RLs, porém de grande importância para o

processo de estresse oxidativo. Podem reagir com outras moléculas, principalmente com metais livres, gerando RLs, destacando-se o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o ácido hipocloroso (HClO). Por exemplo, em presença de metal de transição Fe^{++} (íon ferroso), o H_2O_2 gera OH^\bullet , além de OH^- (hidroxila) e Fe^{+++} (íon férrico), através da reação de Fenton ($\text{Fe}^{++} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{+++} + \text{OH}^- + \text{OH}^\bullet$).^(44,45) No entanto, em condições fisiológicas, os níveis de ERNs e EROs são regulados a fim de manter funções importantes como a autofagia e sinalização química.^(3,46)

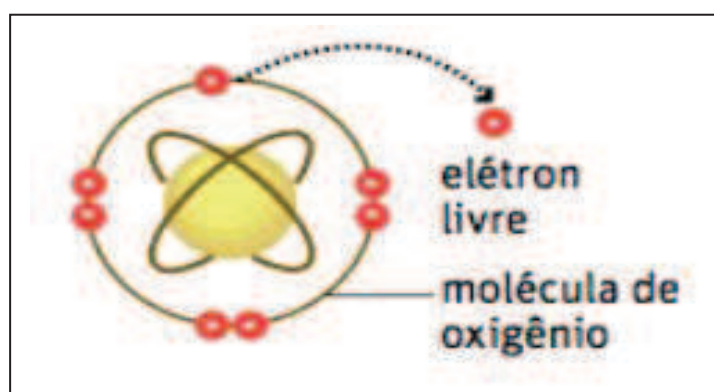


Figura 2. Ilustração representando a formação de um radical livre (RL) de oxigênio (superóxido). Ao perder um elétron a molécula torna-se um RL, altamente reativo e instável. Adaptado de Vasconcelos (2014).⁽⁴⁷⁾

Para a epilepsia, incluída entre as desordens neurológicas, o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial, relacionada a EROs e ERNs e frequentemente observada após convulsões epiléticas,⁽³⁾ são sugeridos como fatores envolvidos no seu desenvolvimento,⁽⁴⁸⁾ mas, cujo papel na ELT deve ser ainda esclarecido. Ressalta-se que o cérebro apresenta níveis baixos de compostos antioxidantes e alto consumo de oxigênio, ferro, zinco, manganês e cobre, os quais podem catalisar a formação de EROs e ERNs, tornando esse órgão mais vulnerável aos efeitos do estresse oxidativo.⁽⁵⁰⁾

Nesse contexto, ressalta-se a presença de marcadores do estresse oxidativo como baixos níveis de antioxidantes, assim como peroxidação lipídica exacerbada no sangue e

em tecido neuronal de pacientes com epilepsia. ^(50,51) Do ponto de vista neurobiológico, a ELT-EMT pode induzir alterações moleculares, bioquímicas, fisiológicas e estruturais complexas no cérebro, que contribuem para crises recorrentes e refratárias ao tratamento medicamentoso. ^(4,48) A propósito, o estresse oxidativo, tem sido avaliado considerando também o efeito de drogas antiepiléticas. ⁽¹⁰⁾

Os RLs geralmente atacam proteínas, lipídeos e macromoléculas de DNA, causando degradação de coenzimas estruturais nas células em geral, comprometendo a função de membranas celulares e danificando os sistemas de transportes. ^(3,10,52) Destaca-se, nesse processo, a peroxidação lipídica de membrana que ocorre devido ao aumento de RLs ou decréscimo da atividade dos mecanismos de defesa antioxidante, e tem sido relacionada com algumas formas de epilepsia. ⁽¹⁰⁾ Nesse contexto, EROs degradam lipídios poli-insaturados em uma cascata de peroxidação lipídica (Figura 3), que gera subprodutos como o malondialdeído (MDA), utilizado como biomarcador de estresse oxidativo, com envolvimento em doenças neurodegenerativas. ⁽⁵³⁾ Essa molécula pode ser mensurada pela técnica denominada substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). ⁽⁴⁵⁾

Em condições normais EROs são rapidamente convertidas para níveis fisiológicos não tóxicos graças à ação de antioxidantes (Figura 4). Os antioxidantes podem ser de origem enzimática - enzimas produzidas no próprio corpo, tais como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), glutatona redutase (GR); ou não enzimáticas - vitaminas e outras substâncias, como a glutatona reduzida (GSH), vitamina E, flavonóides, dentre outros. ^(55,56)

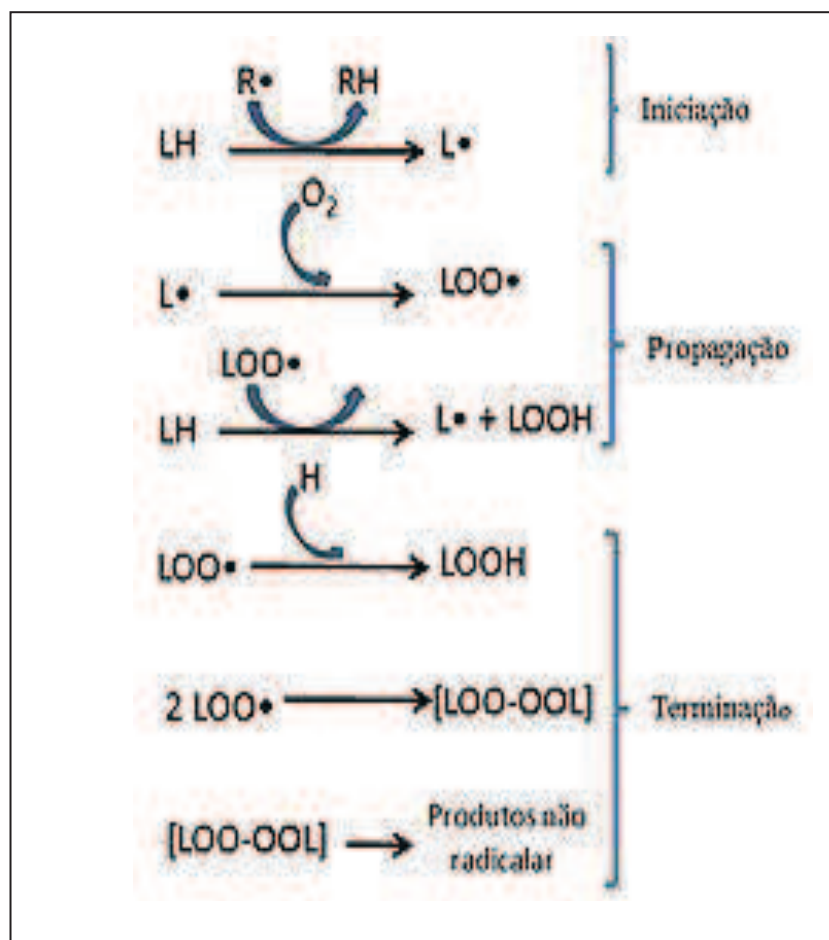


Figura 3. Representação das etapas da cascata de peroxidação lipídica. Iniciação: ocorre abstração de um átomo de hidrogênio da cadeia lipídica (LH) por um radical livre reativo ($R\cdot$), gerando o radical lipídico alquila ($L\cdot$). Propagação: o $L\cdot$ formado reage rapidamente com O_2 (oxigênio molecular), formando um radical peroxila ($LOO\cdot$), que propaga a lipoperoxidação, já que pode reagir com outra LH gerando outro $L\cdot$ e o hidroperóxido lipídico ($LOOH$). Terminação: ocorre quando dois radicais peroxila reagem entre si formando um produto não radicalar, ou quando abstraem um átomo de hidrogênio de uma molécula sem gerar outro radical. Todas essas reações podem gerar subprodutos durante as diferentes fases deste processo como dienos conjugados, isoprostanos e aldeídos, como o malondialdeído. Adaptado de Cunha (2011).⁽⁵⁴⁾

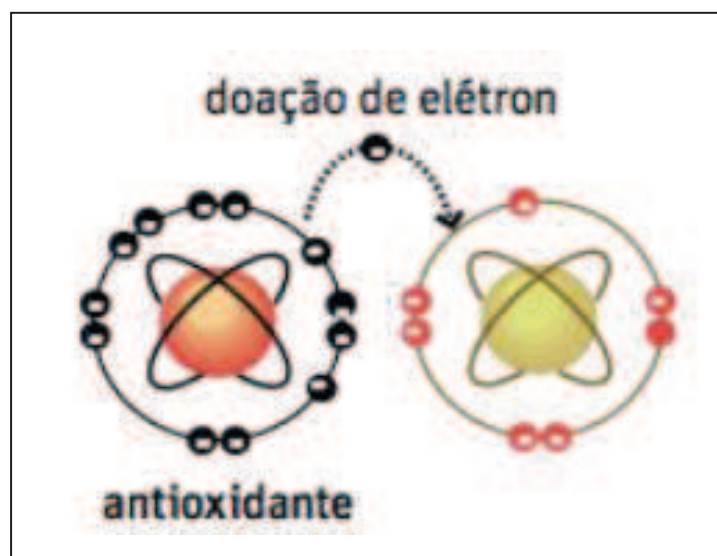


Figura 4. Ação simplificada dos antioxidantes sobre os radicais livres (RLs). Para se equilibrar, o RL “rouba” elétrons de outras biomoléculas. Os antioxidantes “doam” um elétron ao RL, numa tentativa de equilíbrio, neutralizando sua atividade nociva. Adaptado de Vasconcelos (2014).⁽⁴⁷⁾

Esses antioxidantes podem ser mensurados e avaliados, assim como metabólitos específicos provenientes do estresse oxidativo, como marcadores de balanço redox. Refletem, nesse caso, o dano causado pelas EROs e ERNs sobre o sistema biológico e a eficiência da defesa antioxidante de contrapartida. Esses marcadores podem ser, portanto, possíveis indicadores de processos biológicos normais e patogênicos, ou de resposta farmacológica a uma intervenção terapêutica.^(43-45,57) Ressalta-se, ainda, que a ação antioxidante de compostos hidrofílicos ou lipofílicos pela retenção do radical gerado de uma reação enzimática, química ou eletroquímica pode ser verificada também por ensaio enzimático que analisa a capacidade antioxidante total equivalente ao trolox (TEAC).⁽⁵⁷⁾

A SOD tem função de catalisar a dismutação do radical $O_2^{\cdot-}$ em O_2 e aumentar a concentração das moléculas de H_2O_2 . Os compostos H_2O_2 formados serão decompostos em H_2O e O_2 , ou utilizados em forma de OH^{\cdot} .⁽⁵⁸⁾ A remoção de H_2O_2 envolve a ação de CAT, amplamente distribuída nos tecidos, e peroxidases como a GPx (Figuras 5 e 6). As reações

que envolvem GPx implicam na utilização de agentes redutores, como GSH, o mais abundante antioxidante celular não enzimático, com função de desintoxicação e regulação da imunidade, originando glutatona oxidada (GSSG). Nesse caso, a regeneração de GSH será obtida pela redução de GSSG com ação da enzima GR, à custa da oxidação de nicotinamida adenosina difosfato reduzida (NADPH) (Figura 6).⁽⁵⁸⁾

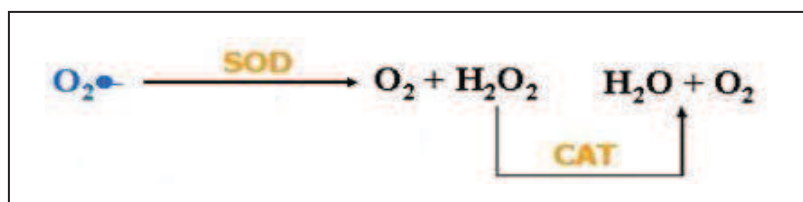


Figura 5. Ação da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) em espécies reativas de oxigênio. SOD catalisa a dismutação do radical O_2^{\bullet} em O_2 , enquanto CAT decompõe as moléculas de H_2O_2 em H_2O e O_2 , evitando suas ações deletérias. Adaptado de Neto et al. (2012).⁽⁵⁹⁾

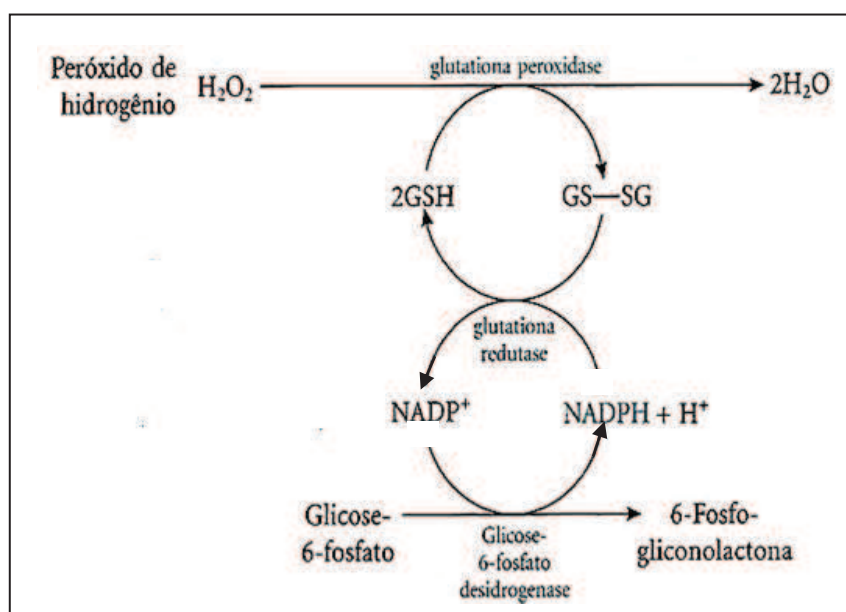


Figura 6. Ciclo da glutatona. A função das enzimas glutatona peroxidase (GPx) e glutatona redutase (GR) é induzir a remoção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Nesse processo, a glutatona reduzida (GSH) é oxidada a GSSG com a participação da glutatona peroxidase (GPx). Nessa via a GSH é restabelecida pela glutatona redutase (GR) na presença de nicotinamida adenosina difosfato reduzida (NADPH), produzido na via das

pentoses fosfato com a participação de glicose-6-fosfato e glicose-6-fosfato desidrogenase. Adaptado de Vasconcelos (2014).⁽⁴⁷⁾

Desse modo, níveis reduzidos de GSH podem indicar riscos de doenças, o que confere à concentração de GSH no sangue um excelente indicador das condições fisiológicas humanas.^(60,61) A G6PD é uma enzima com importante papel nessa via, tendo em vista que participa da produção de NADPH na rota das pentoses fosfato, uma via alternativa à glicólise. Nesse contexto, NADPH é o agente redutor necessário na redução de GSSG a GSH, um antioxidante que protege as hemácias contra espécies reativas evitando, conseqüentemente, a hemólise (Figura 7).^(62,63)

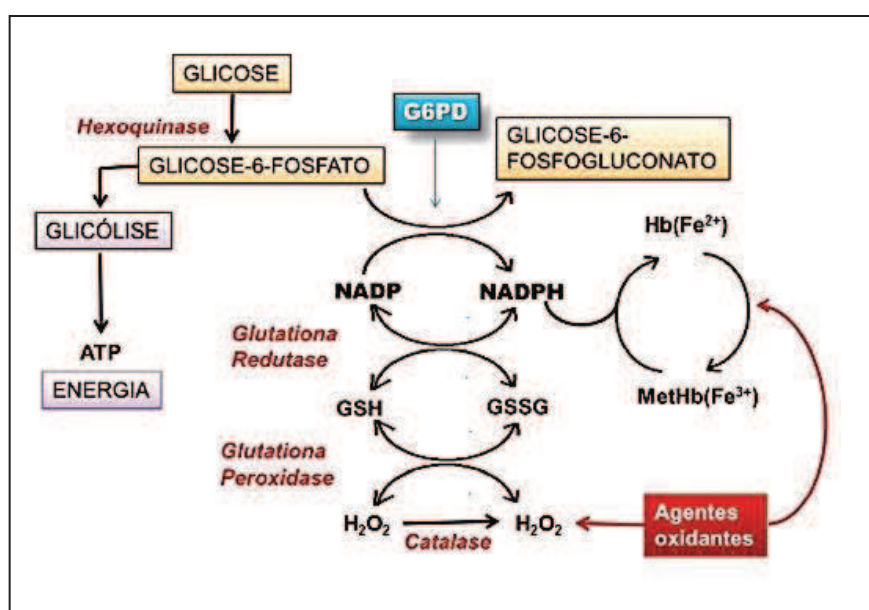


Figura 7. Ilustração mostrando a importância de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) na via da glutatona. A fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato possibilita a via glicolítica para síntese de adenosina trifosfato (ATP) e, como alternativa, a via das pentoses fosfato, responsável pela síntese de nicotinamida adenosina difosfato reduzida (NADPH), a partir de G6P e G6PD. O agente redutor NADPH, em reação com glutatona redutase (GR), permite a produção de glutatona reduzida (GSH) a partir de glutatona oxidada (GSSH), que protege hemácias da ação de agentes oxidantes. Adaptado de Ministério da Saúde (2018).⁽¹⁹⁾

Nesse contexto, o estudo de marcadores de estresse oxidativo associados à enfermidades poderá contribuir na elucidação de mecanismos envolvidos na fisiopatologia e evolução de doenças. Inclui-se a epilepsia, uma doença neurológica que atinge cerca de 50 milhões de indivíduos no mundo, com particularidades clínicas considerando os diferentes tipos e classificações da doença. ^(5,9) Destaca-se a ELT-ELM refratária, que se apresenta resistente ao tratamento medicamentoso e está amplamente associada com déficits cognitivos, como perda de memória verbal, de funcionamento executivo e de linguagem. ^(24,64) Nesse caso, a avaliação de fatores envolvidos em alterações oxidativas poderá colaborar na caracterização de um perfil de pacientes e respectivas estratégias de acompanhamento e prognóstico, assim como propor novas terapêuticas e diretrizes para intervenções clínicas.

1.4 Objetivo Geral

Avaliar a associação de marcadores do estresse oxidativo em pacientes com ELT-EMT refratários ao tratamento medicamentoso, com ou sem TP.

1.5 Objetivos Específicos

1. Comparar níveis de marcadores de estresse oxidativo (CAT, GPx, GSH-t, GR, G6PD, TEAC e TBARS) em pacientes com ELT-EMT refratária com e sem TP, e indivíduos sem a doença.
2. Avaliar a correlação entre os marcadores bioquímicos de estresse oxidativo.
3. Analisar comparativamente perfil clínico/sócio/demográfico e hábitos de vida em pacientes com ELT-EMT com e sem TP e indivíduos controles.

Casuística e Métodos

2. CASUÍSTICA E MÉTODOS

Este estudo é parte de um amplo projeto intitulado “Caracterização clínica, psiquiátrica, genética e bioquímica de pacientes com epilepsia do lobo temporal”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – CEP/FAMERP (CAAE: 30797214.0.0000.5415) (Anexo I). Todos os indivíduos foram informados das características do estudo, confirmando participação pelo Termo de Consentimento Livre e Pós-Esclarecido (Anexo II).

2.1 Casuística

Foram estudados 98 indivíduos, independente de grupo étnico e sexo, distribuídos em três grupos: G1 – 25 pacientes diagnosticados com ELT-EMT refratária sem TP; G2 – 21 pacientes com ELT-EMT refratária com TP; G3: 52 indivíduos sem a doença (controle). Os pacientes foram atendidos no Hospital de Base - HB/FAMERP, nos Serviços de Neurologia e Neuropsiquiatria. O diagnóstico foi realizado por vídeo-EEG, exames de neuroimagem e avaliação psiquiátrica. O grupo controle foi selecionado no Hemocentro do HB/FAMERP.

Todos os pacientes foram submetidos à avaliação psiquiátrica por meio de entrevista clínica e instrumentos já traduzidos e validados para a língua portuguesa, citados a seguir.

1. *MINI-Plus*: Instrumento baseado nos critérios diagnósticos do *Diagnostic and statistical manual of mental Disorders – 4th Edition* (DSM-IV), consistindo de perguntas semi-estruturadas com o objetivo de detectar a presença de quaisquer TP na população a ser entrevistada.
2. *Neurobehavioral Inventory* (NBI): consiste em um questionário auto-aplicativo de 100 (cem) afirmações para o entrevistado marcar verdadeiro ou falso.

Destina-se à detecção de características e/ou transtornos de personalidade em pacientes com epilepsia.

3. *Interictal Dysphoric Disorder Inventory* (IDDI).

4. *Neuropsychiatric Inventory for Depression in Epilepsy* (NDDI-E).

Considerou-se como critérios de inclusão ELT-EMT refratária, com ou sem TP e ausência da doença (grupo controle). Foram critérios de exclusão ELT-EMT não refratária, outras formas de epilepsia que não a ELT-EMT e outras doenças clínicas e/ou neurológicas além de ELT-EMT.

2.2 Métodos

2.2.1 Dosagens bioquímicas

Os indivíduos foram submetidos à coleta de amostra de sangue periférico por punção venosa para dosagem de componentes do estresse oxidativo (CAT, GPx, GSH-t, GR, G6PD, TEAC e TBARS). As amostras foram coletadas em dois tubos de 5mL com EDTA. O processamento inicial do material biológico consistiu na obtenção do lisado celular, após centrifugação a 4°C, e armazenamento do plasma. O conteúdo restante gerou a “papa” eritrocitária (concentrado de hemácias). Foram utilizados 50 µL da “papa” eritrocitária e 950 µL de água ultra-pura deionizada (Mili-Q) para originar alíquotas de lisado celular. Em seguida, todas as amostras foram armazenadas em freezer -80 °C. Os marcadores de estresse oxidativo foram determinados por espectrofotometria (PerkinElmer's VICTOR x3, Thermo Scientific Type evolution 300 BB e PG Instruments Limited T60V).

Para dosagem da atividade enzimática eritrocitária de CAT foi necessário o preparo do meio de reação (10 mM H₂O₂), protocolo adaptado de Beutler (1975),⁽⁶⁵⁾ descrito a seguir. Adicionar em um béquer 1 mL de H₂O₂ 3% em 100 mL de H₂O ultra pura e descartar uma alíquota de 10 mL. Em seguida, acrescentar 5 mL do tampão Tris-

HCl 1M, pH 8,0 contendo EDTA 0,5 mM, preparado com 30,27 g de Tris (hidroximetil) aminometano, 0,365 de EDTA e 250 mL de H₂O destilada. As amostras foram colocadas em cubetas de quartzo contendo o ensaio enzimático, que corresponde a 995 µL de meio de reação e 5 µL de amostra. As condições de leitura foram ajustadas para 240 nm por 1 minuto, a 30°C.

Para análise da atividade eritrocitária de GPx foi utilizado o método adaptado de Sies et al. (1979), ⁽⁶⁶⁾ que se baseia na medida, em 340 nm, do decréscimo de absorvância durante a redução de GSSG, catalisada por GR na presença de NADPH a 30°C. A atividade da GR também foi avaliada de acordo com o consumo de NADPH oriundo da conversão de GSSG para sua forma reduzida, acompanhado em 340 nm. ⁽⁶⁷⁾

A concentração de GSH-total (GSSG + GSH = GSH-t) foi determinada em plasma pelo método de Tietze (1969), ⁽⁶⁸⁾ adaptado por Akerboom & Sies (1981), ⁽⁶⁹⁾ que consiste na leitura do ácido 5-mercaptop-2-nitrobenzóico, um composto derivado da oxidação da GSH, por espectrofotometria a 412 nm, durante quatro minutos. Neste processo a GSSG é reciclada pela atividade da GR, na presença de NADPH, em GSH.

A atividade eritrocitária de G6PD foi determinada por meio de reação contendo NADP e glicose-6-fosfato (G6P), que atuou na formação de NADPH, ocasionando acréscimo na absorvância em 340 nm. ⁽⁷⁰⁾

O nível plasmático de MDA foi analisado pelo método de TBARS, utilizando protocolo adaptado de Liencres et al. (2014) . ⁽⁷¹⁾ Iniciou-se com a mistura de 100µL de tiobarbitúrico e 400µL de ácido fosfórico com 500 µL de plasma por tubo. Em um tubo foi adicionado 500 µL de água MilliQ à mistura (tubo 1) e em outro, 500 µL de solução padrão de MDA (tubo 2). Esses tubos fechados foram colocados em banho-maria por 30 minutos a 90°C. Após o período estimado, os tubos foram retirados do banho-maria e mantidos no gelo por 5 minutos. Em seguida, foi adicionado 1 mL de álcool n-butílico,

os tubos agitados em vórtex e centrifugados a 5000 g (força gravitacional) por 5 minutos a 4°C. O plasma sobrenadante (200 µL) foi pipetado e colocado em placa para leitura a 540 nm.

Para análise de TEAC plasmático, foi utilizado protocolo adaptado de Gilca et al. (2014).⁽⁷²⁾ Inicialmente, o espectrofotômetro foi calibrado com 3 mL de solução PBS, em comprimento de onda 734 nm. Para o controle padrão foram adicionados 3 mL de solução trolox em um tubo de ensaio com 2 mL de solução PBS, e reservado. Para leitura das amostras foram acrescentados em uma cubeta 2.970 µL da solução de trabalho ABTS, anotando-se o resultado. Em seguida, foram adicionados 30 µL da amostra controle padrão, iniciando o cronômetro por cinco minutos, anotando-se o resultado.

2.2.2 Perfil clínico/sócio/demográfico e hábitos de vida

Todos os participantes foram submetidos a um questionário específico incluindo perfil demográfico (sexo e idade), social (escolaridade, profissão e estado civil) e clínico (diabetes mellitus - DM e hipertensão arterial sistêmica - HAS), além de hábitos de vida (tabagismo, etilismo e exposição a agrotóxicos) (Anexo III). Dados clínicos foram obtidos também pela revisão de prontuário médico eletrônico ou entrevista clínica.

Etilismo foi definido como consumo crônico contínuo ou periódico de bebidas alcoólicas >40g de álcool/dia, que já é considerado risco significativo para a saúde.⁽⁷³⁾ Considerou-se tabagismo, consumo passado ou presente de qualquer tipo ou quantidade de tabaco diariamente.⁽⁷⁴⁾

Definiu-se HAS valores de pressão sistólica \geq 140mmHg e/ou diastólica 90 mmHg.⁽⁷⁵⁾ Para DM, foram considerados níveis séricos de glicemia \geq 126 mg/dL (em jejum) e \geq 200 mg/dL (2 horas após sobrecarga com 75 g de glicose).⁽⁷⁶⁾

2.2.3 Análise estatística

As análises univariadas foram realizadas por meio do software Statistica 9.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), e os gráficos produzidos no software GraphPad Prisma versão 5.01 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). A normalidade dos dados foi verificada usando *Normal Probability Plots of Residuals*, enquanto a homocedasticidade dos dados pelo teste de Levene, assumindo nível de significância de 0,05. Assim, quando necessário, os dados foram transformados por \log_{10} . Para comparação entre os grupos, adotou-se o teste *General Linear Models* (GLM), abordagem que possibilita a análise de modelos com combinações de variáveis categóricas e contínuas, com múltiplos fatores preditivos. Assim, estabelecemos os grupos (G1, G2 e G3) como preditores com ajuste para sexo, idade e tabagismo, e os parâmetros bioquímicos avaliados como variáveis dependentes. Para resultados de $P < 0,05$, utilizou-se teste post hoc de Tukey. Teste exato de Fisher ou Qui-quadrado foi aplicado para analisar variáveis qualitativas e teste-T ou ANOVA para variáveis quantitativas. Para avaliar o grau de correlação entre os marcadores do estresse oxidativo, utilizou-se a correlação de Pearson. O nível de significância foi fixado em $P < 0,05$.

Resultados

3. RESULTADOS

3.1 Perfil Sócio-Demográfico-Clinico e Hábitos de Vida (Tabelas 1 e 2)

A idade foi semelhante entre os grupos (G1=45,1±13,9 anos; G2=38,9±13,8 anos; G3=38,4±13,4 anos (P>0,05; Tabela 1). O sexo feminino destacou-se nos pacientes (G1=52%; G2=57,1%), mas sem diferença significativa em relação ao grupo controle (G3=50%; P>0,05; Tabela 1). Os grupos mostraram semelhança também para tabagismo (G1=8%; G2=9,5%, e ausente em G3), DM (G1=4%; G2=4,8%; G3=2%) e HAS (G1=8%; G3=5,8% e ausente em G2), enquanto etilismo não foi relatado.

História familiar de epilepsia prevaleceu nos pacientes comparado ao grupo controle (G1=60%; G2=57,1%; G3=15,4%; P=0,0002 e P=0,0009, respectivamente, Tabela 1). Em relação ao perfil social, houve menor frequência de renda financeira em pacientes (G1=48%; G2=42,9%), comparado ao controle (G3=90,4%; P=0,0003 e P<0,0001; respectivamente). O mesmo ocorreu para escolaridade em nível superior (G1=4%; G2=4,8%; G3=63,5%; P<0,0001 e P<0,0001; respectivamente; Tabela 1). Para estado civil, em relação a possuir companheiro (a), não houve diferença entre os grupos (P>0,05; Tabela 1).

A Tabela 2 apresenta a caracterização clínica mostrando o tempo de doença de 32,1±17,4 anos em G1 e 28,2±10,9 anos em G2 (P=0,3813). Destacaram-se nos pacientes com epilepsia e TP, depressão (47,6%) seguido de transtorno de ansiedade generalizado (38,1%). Lesão precipitante não foi observada em 52% de G1 e 47,6% de G2 (P=1,0), porém crise febril ou meningoencefalite ocorreu em 16% (para ambos) de G1, e crise febril em 28,6% de G2, seguido de TCE em G1 (12%) e hipóxia perinatal em G2 (14,3%), no entanto, sem diferença significativa (P>0,05). Lesão no lado esquerdo prevaleceu em G1 (72%) e G2 (61,9%) (P=0,5376). Entre os pacientes, 56% de G1 e 66,7% de G2 faziam uso de três ou mais medicamentos (0,5510).

Tabela 1. Perfil sócio-demográfico, hábitos de vida e comorbidades em pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2), refratários ao tratamento medicamentoso e indivíduos sem a doença (G3).

Característica	G Total (N=98)		G1 (N=25)		G2 (N=21)		G3 (N=52)		*◇Valor-P		
Idade (anos) Média±DP	-		45,1±13,9		38,9±13,8		38,4±13,4		0,1185◇		
	N	%	N	%	N	%	N	%	G1 x G2	G1 x G3	G2 x G3
Sexo											
Masculino	47	47,9	12	48	9	42,9	26	50	0,9588	0,8694	0,7686
Feminino	51	52,1	13	52	13	57,1	26	50			
Hábito de vida											
Tabagismo	4	4,1	2	8	2	9,5	0	0	1,0	0,2447	0,1970
Etilismo	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
Comorbidades											
DM	3	3,1	1	4	1	4,8	1	2	1,0	0,5468	0,4954
HAS	5	5,1	2	8	0	0	3	5,8	0,4928	0,6574	0,5523
História familiar	35	35,7	15	60	12	57,1	8	15,4	0,8446	0,0002	0,0009
Perfil Social											
Com renda (empregado/ aposentado)	68	69,4	12	48	9	42,9	47	90,4	0,8574	0,0003	<0,0001
Escolaridade (nível superior)	35	35,7	1	4	1	4,8	33	63,5	1,0	<0,0001	<0,0001
Estado civil (com companheiro/a)	43	43,9	12	48	10	47,6	21	40,4	0,08939	0,6992	0,6367

P=Nível de significância; ◇Teste ANOVA; *Teste Qui-quadrado ou Fisher; N=Número de indivíduos; DM=Diabetes mellitus; HAS=Hipertensão arterial sistêmica; DP=Desvio Padrão.

Tabela 2. Caracterização clínica de pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2), refratários ao tratamento medicamentoso.

	G1 (N=25)		G2 (N=21)		P*◇
Tempo de doença em anos (média±DP)	32,1±17,4		28,2±10,9		0,3813◇
Subtipo do Transtorno	N	%	N	%	
Psicose pós ictal	-	-	2	9,5	-
Psicose interictal	-	-	1	4,8	-
Depressão	-	-	10	47,6	-
Transtorno de ansiedade generalizado	-	-	8	38,1	-
Lesão Precipitante					
Sem lesão	13	52	10	47,6	1,0
TCE	3	12	-	-	0,2972
Meningoencefalite	4	16	2	9,5	0,8335
Crise Febril	4	16	6	28,6	0,5023
Hipóxia perinatal	1	4	3	14,3	0,4790
Lateralidade					
Direito	7	28	8	38,1	0,5376
Esquerdo	18	72	13	61,9	
Medicamento					
Até 2	11	44	7	33,3	0,5510
3 ou mais	14	56	14	66,7	

P=Nível de significância; *Teste Qui-quadrado ou Fisher; ◇Teste T; DP=Desvio padrão; N=Número de indivíduos; - = ausência; TCE=Trauma crânio-encefálico.

3.2 Marcadores de Estresse Oxidativo (Figura 8)

Os níveis de CAT (Figura 8A) mostraram-se aumentados em pacientes (G1=15.901±5.395,5U/mL; G2=16.334±5.815,8U/mL) comparado ao controle (G3=10.155±4.286,2U/mL; P<0,0001). Já os níveis de GR (Figura 8B), embora com decréscimo em pacientes (G1=0,98±0,27U/mL; G2=0,89±0,23U/mL), não houve diferença significativa em relação ao controle (G3=1,07±0,27U/mL; P=0,0631). Níveis de GPx (Figura 8C) e G6PD (Figura 8D) apresentaram valores significativamente reduzidos nos pacientes (G1=4,81 ± 1,54U/mL; 0,91 ± 0,32U/mL e G2=4,81±1,40U/mL; 0,85 ± 0,24 U/mL; respectivamente) comparado ao grupo controle (G3=7,06±1,81U/mL; 1,10±0,32U/mL; P<0,0001 e P= 0,0057; respectivamente); assim como valores de GSH-t (Figura 8E) (G1=0,53±0,15mM; G2=0,55±0,15mM; G3=0,66±0,27mM; P= 0,0454). Quanto aos valores de TEAC (Figura 8F), apresentaram-se semelhantes entre os grupos (G1=2,52±0,08mM; G2=2,52±0,13mM; G3=2,48±0,86mM; P=0,0621), ao contrário de TBARS (Figura 8G), com níveis elevados em G1 (569,73±694,35ng/mL) e G2 (506,13±598,08ng/mL) em relação a G3 (180,23±47,09ng/mL; P=0,0013).

3.3 Correlação entre Marcadores do Estresse Oxidativo (Figuras 9 e 10)

As Figuras 9 e 10 apresentam o grau de correlação entre marcadores de estresse oxidativo, considerando os grupos caso (G1 e G2) e controle (G3). O grupo G2 mostrou correlação negativa moderada significativa entre TBARS e GPx (R=-0,5151; P=0,0240; Figura 9B). Por outro lado, o grupo controle apresentou correlação positiva moderada significativa entre níveis de G6PD e GR (R=0,2854; P=0,0403; Figura 9F); entre G6PD e GPx (R=0,3362; P=0,0148; Figura 9I); entre G6PD e GSH-t (R=0,2950; P=0,0338;

Figura 10C); entre GSH-t e GPx ($R=0,5977$; $P<0,0001$; Figura 10F). Todas as outras correlações apresentaram $P>0,05$.

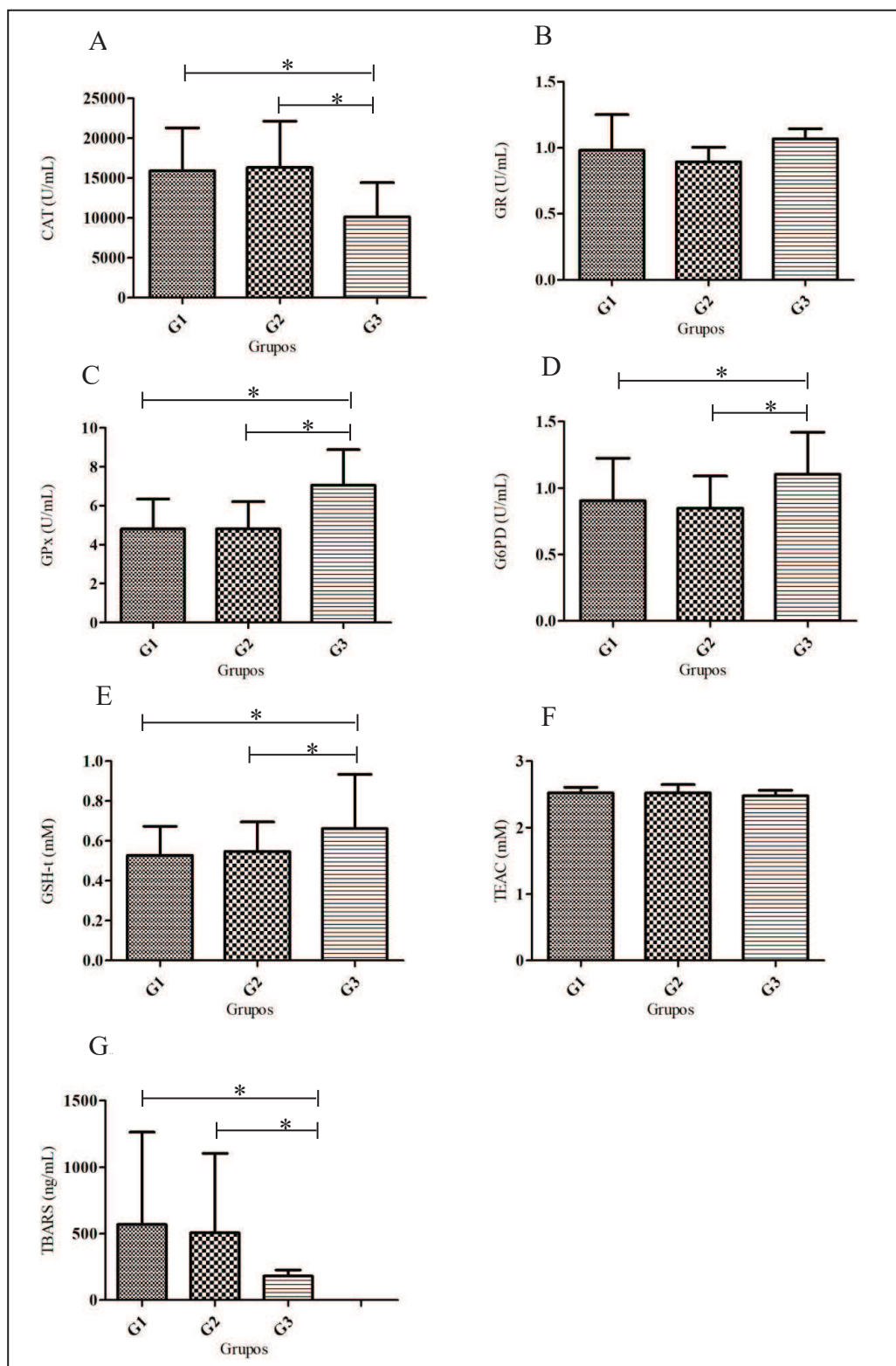


Figura 8. Marcadores de estresse oxidativo. Marcadores de estresse oxidativo em pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2) refratários ao tratamento medicamentoso, e indivíduos sem a doença (G3) representados com média±DP. A) ♦ Catalase (CAT): G1 e G2 > G3: P<0,0001. B) ■ Glutathione reductase (GR): P>0,05. C) ♦ Glutathione peroxidase (GPx): G1 e G2 < G3 (P<0,0001). D) ♦ Glutathione-6-fosfato desidrogenase (G6PD): G1 e G2 < G3; P=0,0057. E) ♦ Glutathione total (GSH-t): G1 e G2 < G3 (P=0,0454). F) ♦ Capacidade antioxidante total (TEAC): P>0,05. G) Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): G1 e G2 > G3 (P=0,0013). ♦ G1: N=24; G2: N=19 e G3: N=52. ■ G1: N=24; G2: N=19 e G3: N=50. DP= Desvio Padrão.

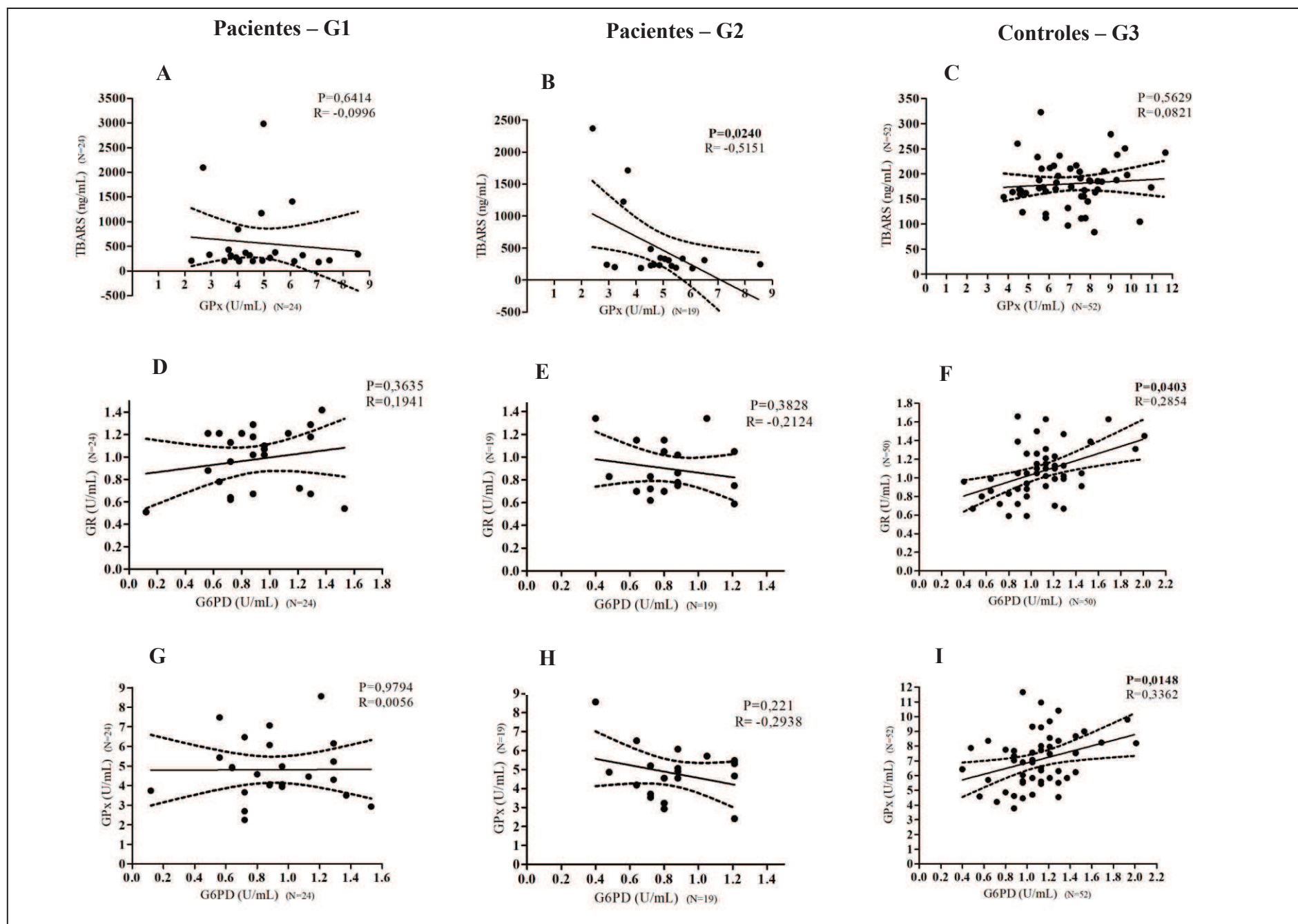


Figura 9. Correlação entre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com epilepsia do lobo temporal por esclerose mesial temporal com ou sem transtorno psiquiátrico e indivíduos sem a doença (grupo controle). TBARS=substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx=glutaciona peroxidase; GR=glutaciona redutase; G6PD=glicose-6-fosfato desidrogenase. R=índice de correlação; P=nível de significância.

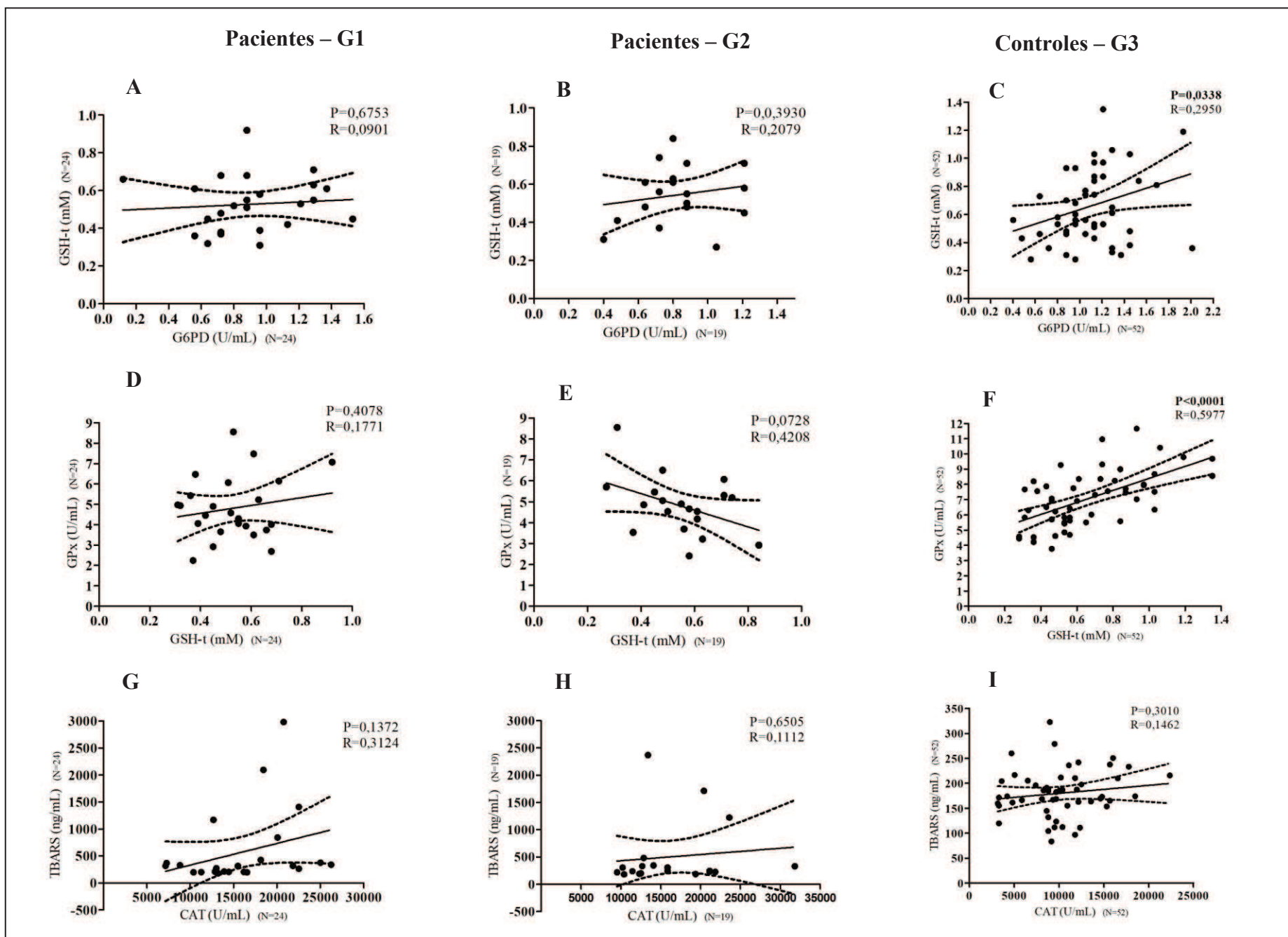


Figura 10. Correlação entre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com epilepsia do lobo temporal por esclerose mesial temporal com ou sem transtorno psiquiátrico e indivíduos sem a doença (grupo controle). GSH-t=glutaciona reduzida somada à glutaciona oxidada; G6PD=glicose-6-fosfato desidrogenase; GPx=glutaciona peroxidase; TBARS=substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; CAT=catalase. R=índice de correlação; P=nível de significância.

Discussão

4. DISCUSSÃO

Foram estudados pacientes com ELT-EMT, com e sem TP, considerando marcadores envolvidos no estresse oxidativo, abrangendo também aspectos demográficos, sociais e clínicos, assim como comorbidades e hábitos de vida. Destacaram-se entre os pacientes, história familiar de epilepsia, baixa renda financeira, e menor representatividade para nível superior de escolaridade. A análise bioquímica mostrou níveis aumentados de CAT e TBARS e reduzidos de GPx, G6PD e GSH-t em ambos os grupos de pacientes, em relação aos controles. Ainda, o grupo de pacientes com TP (G2) apresentou correlação negativa entre TBARS e GPx. Correlação positiva foi observada entre TBARS e CAT, G6PD e GR, G6PD e GPx, G6PD e GSH-t, e GSH-t e GPx no grupo controle.

Neste estudo, destacou-se o sexo feminino corroborando outros estudos, cuja frequência variou de 57,1% a 60% em pacientes com epilepsia na faixa etária entre 39 anos e 60 anos. ^(77,78) Há maior incidência da doença com o envelhecimento, sendo duas vezes maior aos 70 anos e três vezes maior aos 80 anos de idade, comparado à infância. ⁽⁷⁸⁾ Isso pode ser explicado, tendo em vista as principais etiologias da epilepsia como acidente vascular encefálico, quadros demenciais isolados, traumatismo crânio-encefálico, tumores cerebrais e encefalopatia metabólica. ⁽⁷⁸⁾

Em relação aos hábitos de vida, o presente estudo não demonstrou associação entre tabagismo e epilepsia, em concordância com outra casuística. ⁽⁷⁹⁾ No entanto, em outras séries, o tabagismo variou de 21,8% a 38%, comparado a frequência de 19,3% a 23% na população geral. ^(80,81) São escassos os estudos envolvendo epilepsia e tabagismo, cuja frequência, porém, é sugerida como até o dobro em relação ao controle. ⁽⁸⁰⁾ Ressalta-se, ainda, a relação hipotética entre alguns tipos de epilepsia e

tabagismo, considerando que aqueles com epilepsia generalizada idiopática são mais propensos a esse hábito, comparados a pacientes com o tipo focal. ⁽⁷⁹⁾

Nesse contexto, supõe-se que mecanismos genéticos e fisiopatológicos poderiam compartilhar alguns aspectos relacionados à dependência do tabaco. Além disso, comorbidades psiquiátricas, como a depressão, relacionadas à sobrecarga pessoal e social devido à epilepsia, ⁽⁸²⁻⁸⁵⁾ aumentam o risco de fumar. ^(79,86,87) Porém, essa condição não foi observada neste estudo, representado por 38,1% de pacientes com depressão no grupo com epilepsia e transtornos psiquiátricos, provavelmente pelo tamanho reduzido da casuística. A propósito, um estudo que avaliou a relação entre dependência de nicotina e gravidade dos sintomas de ansiedade e depressão, principalmente em mulheres, não mostrou diferença significativa ao comparar fumantes e não fumantes. ⁽⁸⁸⁾

Há referência, ainda, do efeito benéfico da nicotina sobre convulsões, o que poderia induzir os pacientes ao tabagismo. ⁽⁷⁹⁾ Considera-se, de modo geral, que a ação da nicotina como um neuromodulador, poderia regular a frequência de crises pela modulação do sistema GABA (ácido gama-aminobutírico). ⁽⁸⁹⁾ Em modelos animais, a nicotina pode ser proconvulsivante ou anticonvulsivante, de acordo com a dose e ao modo agudo ou crônico de administração. ⁽⁷⁹⁾ Por outro lado, há uma hipótese que inverte a causalidade, considerando que o tabagismo pode ser um fator de risco para convulsões devido maior probabilidade de acidente vascular encefálico, que pode ser complicada pela epilepsia focal em caso de lesões corticais. ⁽⁹⁰⁾

Apesar do presente estudo não ter registrado casos de abuso de álcool em ambos os grupos de pacientes, o alcoolismo parece ser um fator importante para o início da epilepsia, pois pode ocasionar lesões cerebrais e facilitar traumas. ⁽⁹¹⁾ É comum que pacientes com a doença sejam aconselhados a não consumirem álcool, devido a possível

interação com medicamentos prescritos para o tratamento. Ainda, mesmo com o tratamento farmacológico adequado, é importante que o paciente identifique e evite situações que aumentem sua suscetibilidade a crises, como exposição a flashes de luz intermitentes, privação de sono e principalmente abuso de bebidas alcoólicas. ⁽¹⁸⁾ No entanto, é desconhecida a razão entre a taxa de alcoolismo em pacientes com epilepsia e o restante da população. ⁽⁹²⁾

Em relação às comorbidades, este estudo mostrou semelhança entre pacientes e controles para DM e HAS, corroborando outra casuística com 11% de DM. ⁽⁹³⁾ Ressalta-se que DM é um fator de risco independente para crises convulsivas, principalmente em pacientes idosos já que a hiperglicemia, assim como a hipoglicemia, é comum nessa faixa etária. ⁽⁹⁴⁾ É possível que neste estudo, a faixa etária principalmente de pacientes adultos jovens, a baixa frequência de tabagismo e ausência de etilismo tenham influenciado na frequência reduzida de DM.

Distúrbios metabólicos alteram o equilíbrio entre excitação e inibição de redes neurais. ⁽⁹⁵⁻⁹⁷⁾ A cetoacidose diabética tem sido associada a aumento do risco de convulsões em crianças e adolescentes com DM tipo 1. ⁽⁹⁸⁾ Esses fatores metabólicos, com efeito prejudicial no sistema nervoso, associam-se a anormalidades no EEG e convulsões epiléticas. ^(95,99) Há referência de 3,0% para incidência cumulativa de convulsões em indivíduos com DM, em comparação a 1,9% naqueles sem a doença, representando aumento de 1,47 no risco de convulsões após o ajuste para idade, sexo e principais comorbidades. ⁽⁹⁴⁾

A presença de duas ou mais comorbidades em pacientes com DM, como doença cardíaca coronariana, fibrilação atrial, insuficiência cardíaca e doença cerebrovascular, confere maior risco para crises convulsivas, assim como em pacientes com epilepsia e uma ou mais comorbidades. ⁽¹⁰⁰⁾ Isso confirma o papel das doenças vasculares como

uma das principais causas de epilepsia em idosos. ⁽¹⁰¹⁾ Neste estudo, pacientes com epilepsia sem TP mostraram frequência reduzida de HAS, enquanto no grupo com TP, representado por faixa etária principalmente de adultos jovens, todos tinham pressão arterial no limite recomendado. O controle adequado de parâmetros metabólicos se faz necessário não apenas para diminuir as complicações vasculares do DM e HAS, mas também evitar outras complicações. ⁽⁹⁴⁾

Ressalta-se, ainda, na epilepsia a associação entre DM e depressão, cujos mecanismos biológicos são ainda obscuros. Neste estudo, essa associação teve baixa representatividade, pois embora a depressão tenha sido o transtorno mais frequente, observado em 47,6% de G2, corroborando a prevalência de 20% a 55% entre pacientes com crises recorrentes de epilepsia, ⁽¹⁰²⁾ DM foi observado em apenas 4,8% de G2. É sugerido que alterações hormonais, principalmente aumento de cortisol, assim como da ativação imunoinflamatória associam-se a maior risco de DM na presença do transtorno depressivo. ⁽¹⁰³⁾ Além disso, alterações do transporte de glicose em regiões específicas do cérebro poderiam ocorrer em pacientes com diabetes favorecendo o desencadeamento da depressão. ⁽¹⁰³⁾ Ressalta-se, ainda que pacientes com diabetes e depressão apresentam maior risco de obesidade, menor nível educacional e socioeconômico, além de pior suporte social, sendo mais vulneráveis a estressores financeiros e psicossociais. ^(104,105)

Neste estudo, a história familiar de doenças neurológicas prevaleceu nos pacientes, comparado aos controles, corroborando autores que ressaltam o caráter genético para epilepsia refratária. ⁽¹⁰⁶⁻¹⁰⁸⁾ Reconhecidamente, há contribuição genética para a epilepsia, destacando-se que os genes estão envolvidos no processo epileptogênico por três modos, como causa primária, determinando o limiar de suscetibilidade ou respondendo por meio de expressão diferencial a lesões

epileptogênicas. ^(109,110) Nesse contexto, há risco 1,5 a 5 vezes maior de desenvolver a doença em parentes de pacientes em relação à população geral. ⁽¹¹⁰⁾ Nesse caso, há referência de risco relativo elevado nos parentes em primeiro grau, tanto para epilepsia focal como generalizada. ⁽¹¹¹⁾

Em relação ao perfil social, constatou-se neste estudo menor nível de escolaridade entre os pacientes, assim como de renda financeira. Isso confirma o impacto da epilepsia não apenas restrito a aspectos clínicos e biológicos, mas também psicológicos e sociais, assim como para os familiares, com limitações e piora na qualidade de vida de todos os envolvidos. ^(112,113) O diagnóstico de epilepsia e seus efeitos indesejados afetam significativamente a vida pessoal e familiar já na infância. Nesse caso, as crianças são expostas a comportamentos de superproteção dos familiares, refletindo em rendimento acadêmico mais baixo e comprometimento em atividades diárias e na independência, dificultando o relacionamento com amigos dentro e fora do ambiente escolar, independente do nível cognitivo. ⁽¹¹⁴⁾

Considerando o mercado de trabalho, ressalta-se que a preocupação com as crises e possíveis acidentes, além do suposto absenteísmo, influencia na contratação de um profissional, mesmo com capacitação. Acrescenta-se, ainda, a dúvida quanto à capacidade de trabalho, produtividade e o impacto das crises epiléticas para os demais empregados no local de trabalho. ⁽¹¹⁵⁾ Estudos demonstram que na epilepsia o estigma é o problema mais difícil a ser contornado, até mesmo em relação as implicações clínicas da doença, ⁽¹¹³⁾ ocasionando isolamento social, agravado pelo preconceito. ^(116,117)

Nesse contexto, para melhor compreensão da situação real dos pacientes faz-se necessário considerar aspectos relacionados à escolaridade, profissão (condições de trabalho, renda), contexto familiar e social, fatores psicológicos, condições materiais e subjetivas de vida, entre outros. ^(113,118) A baixa escolaridade e de renda financeira entre

os pacientes deste estudo não só reafirma a existência desses estigmas, mas também remete à necessidade de esclarecer ao paciente acerca da escolha da profissão, considerando suas habilidades, capacidades e limitações. Isso poderia reduzir o temor e facilitar seu engajamento em universidades e vagas de emprego. ⁽¹¹⁵⁾ Ressalta-se, ainda, neste estudo, o estado civil semelhante para pacientes e controles, discordando de outras séries que demonstram o isolamento decorrente da epilepsia, numa tentativa de esconder a doença de familiares, parceiros e pessoas do convívio profissional. ^(119,120) Isso provoca estado de sofrimento psíquico prolongado, o que pode gerar graves consequências sociais, como a perda ou abandono de pessoas, escola e também emprego. ^(119,121)

Destaca-se para ELT maior risco de morte prematura devido a diversos fatores, inclusive pelo aumento de transtornos psiquiátricos (como ansiedade e depressão) e, assim, de suicídio, além de maior suscetibilidade a quedas e lesões, comprometendo a qualidade de vida. ⁽¹²²⁾ Na caracterização clínica, notou-se nesta casuística tempo de doença em média de 28 a 32 anos, inferior ao observado em outra série, com média de 41,7 anos (variação de 18 a 54 anos). ⁽¹¹³⁾ Diversas doenças ou lesão cerebral podem causar epilepsia, sendo as causas mais frequentes: anomalia cerebral, traumatismo craniano, anóxia durante o parto, tumores, infecção cerebral e crises febris. ⁽¹²³⁾ Neste estudo, a crise febril destacou-se em ambos os grupos de pacientes, particularmente naqueles com TP, além de meningoencefalite em especial no grupo sem transtornos. Ressalta-se, ainda, nesta casuística o comprometimento do hemisfério esquerdo, além de politerapia. Reconhecidamente, a lateralidade da lesão influencia funções cognitivas como atenção, memória e linguagem. Em pacientes com ELT, a lateralidade da lesão tem impacto sobre o funcionamento cognitivo, sendo que ELT-EMT no hemisfério

dominante associa-se a prejuízo de linguagem e funções verbais, mas sem comprometer o nível intelectual. ⁽¹²⁴⁾

Em relação à terapia medicamentosa, 56 a 66,7% dos pacientes apresentavam-se em politerapia com até 3 ou mais medicamentos, assim como em outro estudo correspondendo a cerca de 80% dos pacientes. ⁽¹²⁵⁾ Entre os quadros de epilepsia refratária ao tratamento medicamentoso, que pode chegar a 30%, destacando-se a ELT-EMT, as crises podem ocorrer com maior frequência e menos previsibilidade. Isso confere mais vulnerabilidade a quedas e traumatismos, comprometendo também a autonomia. ^(116,117,126) Nesse caso, a refratariedade clínica exige um tratamento específico, com combinação de FAEs concomitantemente, diante de falha da monoterapia em controlar as crises. ⁽⁵⁾

Estudo em crianças em monoterapia por longo período mostrou comprometimento cognitivo em relação ao aprendizado da leitura e escrita, além dos efeitos a longo prazo, sendo que o déficit cognitivo permaneceu mesmo após três anos sem o uso da medicação. ⁽¹²⁷⁾ Desse modo, as estratégias terapêuticas devem ser direcionadas para minimizar a ocorrência de crises espontâneas e melhorar as respostas neuroprotetoras. A epileptogênese é o processo dinâmico e progressivo que modifica a excitabilidade neuronal, causando alterações estruturais. É também acompanhada por alterações neuroquímicas e celulares que ocasionam desequilíbrio entre neurotransmissão inibitória e excitatória no hipocampo, e conseqüentemente à ocorrência de crises espontâneas. ⁽¹²³⁾

Ressalta-se, ainda, que o cérebro por apresentar alto consumo de oxigênio, alta concentração de ácidos graxos poliinsaturados, maior quantidade de metais de transição como cobre e zinco, além de proteínas, DNA, RNA e, particularmente, baixas concentrações de antioxidantes, está mais suscetível a danos causados pelo estresse

oxidativo ^(49,128,129). Nesse contexto, a convulsão tem sido relacionada à indução de estresse oxidativo com morte neuronal. Estudos em modelos animais demonstraram danos oxidativos induzidos por convulsões atingindo hipocampo, DNA mitocondrial e lipídios. ^(130,131) É relatado também que pacientes com ELT apresentam sistemas antioxidantes alterados, indicando processo de estresse oxidativo em curso. ⁽¹³²⁾

O presente estudo demonstrou níveis aumentados do marcador de peroxidação lipídica – TBARS em pacientes com ELT-EMT. Isso sugere degradação de lipídios e outras biomoléculas em pacientes com epilepsia, induzidos pelas crises. ^(128,133) Ainda, esse efeito pode estar relacionado à falta de efetividade do sistema antioxidante que, de maneira compensatória, tenta inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria de RLs, mas nem sempre de modo eficaz. ⁽⁵⁵⁾ Outros estudos demonstraram peroxidação lipídica em pacientes comparado a controles, além de oxidação de proteínas mensurada através do marcador intitulado proteína carbonilada. ^(132,134,135) Todavia, observou-se também semelhança entre pacientes e controles para marcadores de peroxidação lipídica, ⁽¹³⁶⁾ tornando o assunto polêmico. Adicionalmente é relatado, ainda, redução dos níveis de TEAC, um marcador que reflete a capacidade antioxidante total equivalente ao trolox, análogo da vitamina E ^(128,137). No entanto, isso não foi evidenciado neste estudo, mesmo com redução nos níveis de GPx, G6PD e GSH-t nos pacientes, visto que TEAC representa antioxidantes lipossolúveis e hidrossolúveis, incluindo enzimas e vitaminas reagentes ao trolox. ⁽⁵⁷⁾

Por outro lado, neste estudo, pacientes com ELT-EMT mostraram maior atividade de CAT, enzima antioxidante que age na conversão de EROs, como peróxido de hidrogênio, em água e oxigênio, comparado ao grupo controle. Aumento do nível de CAT também foi demonstrado em modelos de epilepsia crônica, sugerido como consequência de uma resposta antioxidante enzimática primária para o aumento de

RLs. ⁽¹³⁸⁾ Porém, estudo em modelo animal (ratos) demonstrou diminuição dos níveis de CAT comparado ao controle, sugerindo uma limitação da defesa antioxidante, pelo consumo excessivo em virtude da alta taxa de estresse oxidativo e não adequação do organismo para essa condição. ⁽¹³⁹⁾

Entretanto, outro estudo realizado em tecido de hipocampo humano pós morte, observou aumento da atividade de CAT, além de outras enzimas como GPx e GR. Níveis elevados dessas enzimas, que contribuem para regeneração de GSH, indicam exposição excessiva ao estresse oxidativo e, por isso, esse efeito como resposta. ⁽¹⁴⁰⁾ É importante destacar que essas enzimas estão relacionadas com a degradação do peróxido de hidrogênio. Ressalta-se que CAT, embora com níveis fisiologicamente reduzidos no cérebro, atua no início da via antioxidante, pois age rapidamente em nível celular, pelo menos três vezes mais em comparação com o sistema peroxiredoxina/tioredoxina/tioredoxina redutase, que é a principal rota de remoção de peróxido de hidrogênio nas mitocôndrias. ^(141,142) No entanto, este estudo mostrou níveis semelhantes de GR em pacientes e controles, mas, reduzidos de GPx nos pacientes. Isso sugere maior consumo de GPx, que se apresenta em maior concentração no cérebro, sendo essencial para detoxificar o peróxido de hidrogênio e, assim, proteger neurônios que ficam mais expostos ao estresse oxidativo devido hiperexcitabilidade e morte neuronal induzido na epilepsia. ⁽¹⁴³⁻¹⁴⁵⁾

Em paciente com ELT, o sistema antioxidante como o da glutathiona e SOD pode estar alterado, sendo indicativo de estresse oxidativo. ⁽¹³²⁾ No presente estudo, os marcadores GPx e GSH-t (GSH+GSSG) apresentaram-se reduzidos nos pacientes, assim como em modelo animal sugerindo presença de estresse oxidativo e o estado não compensatório de antioxidantes ⁽¹³⁴⁾ envolvidos na via da glutathiona. Adicionalmente, estudo em córtex cerebral de ratos demonstrou diminuição significativa dos níveis de

GSH e GSSG, ⁽¹⁴⁶⁾ provavelmente relacionada à redução das enzimas GPx e GR que catalisam reações nessa via metabólica.

Neste estudo, constatou-se correlação positiva entre GPx e GSH-t, GPx e G6PD, GSH-t e G6PD, e GR e G6PD, nos controles, considerando que as enzimas antioxidantes participam da via de GSH, principal composto antioxidante intracelular. Desse modo, todos apresentam o propósito de prevenção impedindo e/ou controlando a formação de RLs e espécies não-radicalares, envolvidos com a ocorrência de danos oxidativos. ⁽⁴³⁾ A GSH reduz o H_2O_2 a H_2O em presença de GPx, formando uma ponte dissulfeto e, em seguida, a GSH é regenerada pela GR, na presença de NADPH, produzido pela G6PD, enzima presente na via das pentoses fosfato. ^(147,148)

Por outro lado, o grupo de pacientes com TP mostrou correlação negativa entre GPx e TBARS, um marcador de peroxidação lipídica, sugerindo a importância desse antioxidante enzimático como resposta ao aumento de RLs e dano oxidativo celular. Há referência de menor viabilidade neuronal em pacientes com transtorno bipolar, já que o desbalanço redox pode causar maior toxicidade ⁽¹⁴⁹⁾. Ainda, em relação à análise de correlação, os controles apresentaram perfil previsto, entretanto, os pacientes mostraram padrão diferente sugerindo a influência de outros fatores na interação de vias redox.

Adicionalmente, os pacientes mostraram níveis reduzidos de G6PD em relação ao grupo controle, o que contribuiu possivelmente na redução dos níveis de GSH-t. A atividade enzimática da G6PD é de extrema importância, pois origina NADPH, agente redutor na recuperação de GSH a partir de GSSG. ⁽¹⁵⁰⁾ Acrescenta-se, ainda, que a deficiência de G6PD pode ser uma enzimopatia de caráter genético que acomete cerca de 400 milhões de indivíduos em todo o mundo, ⁽¹⁵¹⁻¹⁵³⁾ o que não foi avaliado neste estudo. A deficiência de G6PD está relacionada à hemólise celular, tendo em vista que compromete o sistema antioxidante de eritrócitos representado pela GSH, o que expõe

essas células a ação de RLs e, conseqüentemente, à hemólise. ^(19, 153) A maioria dos casos é assintomática, mas com alto risco de desenvolver anemia hemolítica aguda diante de exposição a alimentos como o feijão fava e medicamentos oxidantes como sulfonamidas, nitrofurantoína e primaquina. ⁽¹⁵⁴⁾

Neste estudo, embora não considerados os tipos de FAEs utilizados na ELT-EMT, ressalta-se o efeito protetor do tratamento medicamentoso na epilepsia, tendo em vista a modulação neuronal, com redução da hiperexcitabilidade e, conseqüentemente, menor dano tecidual, ^(5,9) o que poderia contribuir na estabilidade do estado redox. Entretanto, a casuística ora estudada apresentou alteração de marcadores de estresse oxidativo como CAT, GPx, GSH-t, G6PD, e TBARS, o que pode ter ocorrido devido ao caráter refratário dos pacientes com ou sem TP, em relação ao controle. Nesse caso, destaca-se os critérios de inclusão rigidamente controlados, que dificultou o aumento da casuística, porém conferiu homogeneidade aos grupos.

Têm sido crescentes os estudos de estresse oxidativo, tanto experimentais como clínicos, na elucidação de mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos na epilepsia. Nesse contexto, destacam-se os estudos experimentais com antioxidantes. ⁽¹⁵⁵⁾ Inclui-se a N-acetilcisteína, que em suplementação crônica aumenta níveis séricos de glutathione, demonstrando capacidade de suprimir a epileptogênese no modelo pentilenotetrazol, devido seu efeito antioxidante. ⁽¹⁵⁶⁾ Destaca-se também a ubiquinona, potente antioxidante que reage com EROs evitando o dano oxidativo, como a peroxidação lipídica da membrana mitocondrial. Desse modo, atenua a gravidade das convulsões induzidas pela pilocarpina em ratos, revertendo o dano oxidativo e restaurando as atividades do complexo enzimático mitocondrial. ⁽¹⁵⁷⁾ Isso é observado também para naringenina, que melhora a eficácia de enzimas antioxidantes no hipocampo de camundongos com status epilepticus induzido por pilocarpina. ⁽¹⁵⁸⁾

Conclusão

5. CONCLUSÃO

Este estudo permite as seguintes conclusões:

1. Valores reduzidos de GPx, GSH-t e G6PD e aumentados de CAT indicam demanda de antioxidantes no combate ao estresse oxidativo na ELT-EMT, independente de TP, porém, não são necessariamente eficazes tendo em vista o aumento de TBARS, um marcador de peroxidação lipídica.

2. A correlação entre marcadores do estresse oxidativo reflete a integração de enzimas antioxidantes e compostos da via da glutathiona, cuja alteração pode influenciar na peroxidação lipídica como indicado pela correlação negativa entre GPx e TBARS.

3. Renda financeira insatisfatória e baixo nível de escolaridade em pacientes com ELT-EMT confirmam a presença de estigmas sociais já pré-estabelecidos para epilepsia. Ressalta-se, ainda, o caráter genético da doença pelo histórico familiar de epilepsia, principalmente, nos pacientes comparados a indivíduos sem a doença.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization - WHO. Epilepsy. 2018; <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>.
2. Zhou P, He N, Zhang JW, Lin ZJ, Wang J, Yan LM, et al. Novel mutations and phenotypes of epilepsy-associated genes in epileptic encephalopathies. *Genes Brain Behav* 2018; 17(8).
3. Puttachary S, Sharma S, Stark S, Thippeswamy T. Seizure – induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *BioMed Research International* 2014;15:1-20.
4. Ge YX, Tian XZ. Clc-2 Knockout attenuated experimental temporal lobe epilepsy in mice by tonic inhibition mediated by GABA_A receptors. *Brain Res Bull* 2016;121:209-14.
5. Nitrini R, Bacheschi LA. A neurologia que todo médico deve saber. 3 ed. São Paulo (SP): Atheneu; 2015.
6. World Health Organization - WHO. Epilepsy. 2016; <http://www.who.int>.
7. Brasil, Portaria 1.319 de 25 de novembro de 2013. Dispõe sobre o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da epilepsia. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 25 nov 2013; http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/prt1319_25_11_2013.html.
8. Borges MA, Min LL, Guerreiro CAM, Yacubian EMT, Cordeiro JÁ, Tognola WA, Borges APP et al. Urban prevalence of epilepsy: populational study in São José do Rio Preto, a medium-sized city in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62(2-A):199-205.
9. World Health Organization-WHO. Carbamazepine In Childhood Epilepsy. 2006; <http://archives.who.int/eml/expcom/expcom15/applications/paediatrics/formulations/Carbamazepine.pdf>.

10. Tutanc M, Aras M, Dokuyucu R, Altas M, Zerem C, Arica V, Ozturk OH et al. Oxidative Status in Epileptic Children Using Carbamazepine. *Iran J Pediatr* 2015;25(6):3885.
11. Castro LHM. Distúrbios cognitivos nas epilepsias. *Revista Neuropsicologia Latino americana* 2009;1(2):1-135.
12. World Health Organization-WHO. Epilepsy. 2017;<http://www.who.int/media/centre/factsheets/fs999/en/>.
13. De Araújo Filho GM, Martins DP, Lopes AM, de Jesus Brait B, Furlan AER, Oliveira CIF, et al. Oxidative stress in patients with refractory temporal lobe epilepsy and mesial temporal sclerosis: possible association with major depressive disorder? *Epilepsy Behav* 2018;80:191-6.
14. Rosa DV, Rezende VB, Costa BS, Mudado F, Schütze M, Torres KC, Martins LC, Moreira-Filho CA, Miranda DM, Romano-Silva MA. Circulating CD4 and CD8 T cells expressing pro-inflammatory cytokines in a cohort of mesial temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis. *Epilepsy Res* 2015;120:1-6.
15. Neto JG, Marchetti RL. Aspectos epidemiológicos e relevância dos transtornos mentais associados à epilepsia. *Rev Bras Psiquiatr* 2005;27(4):323-8.
16. Pinto LF, Castro LHM. Crise epiléptica. In: Cavalcanti EFA, Martins HS, et al. *Clínica médica: dos sinais e sintomas ao diagnóstico e tratamento*. Barueri: Manole 2007:897-902.
17. Fernandes MJS. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. *Estudos avançados* 2013;27(77):85-96.

18. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Epilepsia. 2013; <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/fevereiro/07/pcdt-epilepsia-2013.pdf>.
19. Ministério da Saúde. Portaria Conjunta nº 17, de 21 de junho de 2018; [http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/17/Portaria-Conjunta - n17- Epilepsia-RETIFICADO.pdf](http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/17/Portaria-Conjunta-n17-Epilepsia-RETIFICADO.pdf).
20. Méndez-Armenta M, Nava-Ruíz C, Juárez- Rebollar D, Rodríguez-Martínez E, Gómez PY. Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. *Oxid Med Cell Longev* 2014;14:01-12.
21. Craiu D, Barborica A, Motoescu C, Donos C, Ciuera J, Mindruta I. Presurgical evaluation and epilepsy surgery in MRI negative resistant epilepsy of childhood with good outcome. *Turk Neurosurg* 2015;25(6):905- 13.
22. Andrade-Valença LPA, Valença MM, Velasco TR, Leite JP. Epilepsia do lobo temporal mesial associada à esclerose hipocampal. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2006;12(1):31-6.
23. Sun Z, Zuo H, Yuan D, Sun Y, Zhang K, Cui Z, Wang J. Predictors of prognosis in patients with temporal lobe epilepsy after anterior temporal lobectomy. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2015;10:1896-1902.
24. Sidhu MK, Stretton J, Winston GP, McEvoy AW, Symms M, Thompson PJ, Koepp MJ et al. Memory network plasticity after temporal lobe resection: a longitudinal functional imaging study. *Brain* 2016;139:415-30.
25. De Araújo Filho GM, Tarifa B, Santos RE, Dias ALO, Ulliano JRL, Marques LHN. Clinical and sociodemographic variables associated with interictal dysphoric disorder and interictal personality in patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy: a controlled study. *Epilepsy Behav* 2017;69:100–3.

26. De Araújo Filho GM, Gomes, FL, Mazzeto L, Marinho MM, Tavares IM, Caboclo LO, et al. Major depressive disorder as a predictor of a worse seizure outcome one year after surgery in patients with temporal lobe epilepsy and mesial temporal sclerosis. *Seizure* 2012;21:619-23.
27. De Araújo Filho GM, Mazzeto L, Yacubian EMT. Efeitos psiquiátricos e comportamentais das drogas antiepilépticas e sua ação como moduladores de humor. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2011;17(2):65-9.
28. Ramaswamy K. What the rodent brain can teach us about associative learning. 2014; <https://indiabioscience.org/news/2014/what-the-rodent-brain-can-teach-us-about-associative-learning>.
29. Gaitatzis A, Trimble MR, Sander JW. The psychiatric comorbidity of epilepsy. *Acta Neurol Scand* 2004;110:207-20.
30. De Araújo Filho GM, Pascalicchio TF, Lin K, Sousa PS, Yacubian EMT. Neuropsychiatric profile of patients with juvenile myoclonic epilepsy treated with valproate or topiramate. *Epilepsy Behav* 2006;8(3):606-09.
31. De Araújo Filho GM, Rosa VP, Caboclo LOSF, Sakamoto AC, Yacubian EMT. Prevalência de transtornos psiquiátricos em pacientes com epilepsia do lobo temporal refratária. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2007;13:13-6.
32. Swinkels WAM, Kuyk J, van Dyck R, Spinhoven PH. Psychiatric comorbidity in epilepsy. *Epilepsy Behav* 2005;7:37-50.
33. De Araújo Filho GM, Rosa VP, Yacubian EMT. Transtornos psiquiátricos na epilepsia: uma proposta de classificação elaborada pela comissão de neuropsiquiatria da ILAE. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2008;14(3):119-23.

34. Krishnamoorthy ES, Trimble MR, Blumer D. The classification of neuropsychiatric disorders in epilepsy: a proposal by the ILAE commission on psychobiology of epilepsy. *Epilepsy Behav* 2007;10:349-53.
35. De Araújo Filho GM, Furlan AER, Ribeiro AESA, Marques LHN. Psychiatric disorders as “hidden” contraindications for presurgical VEEG in patients with refractory epilepsy: a retrospective cohort study in a tertiary center. *Epilepsy & Behavior* 2015;45:35-8.
36. Hesdorffer DC, Hauser WA, Annegers JF, Cascino G. Major depression is a risk factor for seizures in older adults. *Ann Neurol* 2000;47(2):246-49.
37. Hesdorffer DC, Hauser WA, Olafsson E, Ludvigsson P, Kjartansson O. Depression and suicide attempt as risk factors for incident unprovoked seizures. *Ann Neurol* 2006;59(1):35-41.
38. Oliveira BLMB, Parreiras MS, Doretto MC. Epilepsia e depressão: falta diálogo entre a Neurologia e a Psiquiatria? *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2007;13:109-13.
39. Mazarati AM, Shin D, Kwon YS, Bragin A, Pineda E, Tio D, Taylor AN, Sankar R. Elevated plasma corticosterone level and depressive behavior in experimental temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 2009;34(3):457-61.
40. Ciobica A, Olteanu Z, Padurariu M, Hritcu L. The effects of pergolide on memory and oxidative stress in a rat model of Parkinson’s disease. *J Physiol Biochem* 2012;(68):59-69.
41. Gemelli T, Andrade RB, Castro AL, Garcia LP, Funchal C. Estresse oxidativo como fator importante na fisiopatologia da doença de Alzheimer. *Rev Uniara* 2013;16(1):67-78.

42. Ramírez A, Vázquez-Sánchez AY, Carrión-Robalino N, Camacho J. Ion channels and oxidative stress as a potential link for the diagnosis or treatment of liver diseases. *Oxid Med Cell Longv* 2015;16:01-17.
43. Barbosa KBF, Costa NMB, Alfnas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr.* 2010;23(4):629-43.
44. Pôrto WG. Radicais Livres e Neurodegeneração. Entendimento fisiológico: base para nova terapia? *Rev Neurociências* 2001;9(2):70-6.
45. Lima EM, Abdalla DSP. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2001;37(3):293-303.
46. Mao L, Franke J. Hormesis in aging and neurodegeneration - a prodigy awaiting dissection. *Int J Mol Sci* 2013;14:13109-128.
47. Vasconcelos TB, Cardoso ARNR, Josino JB, Macena RHM, Bastos VPD. Radicais livres e antioxidantes: proteção ou perigo? *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde* 2014;16(3):213-9.
48. Waldbaum S, Patel M. Mitochondria, oxidative stress, and temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research* 2010;88:23-45.
49. Gumusyayla S, Vural G, Bektas H, Neselioglu S, Deniz O, Erel O. A novel oxidative stress marker in migraine patients: dynamic thiol-disulphide homeostasis. *Neurol Sci* 2016;37(8):1311-7.
50. Ho YH, Lin YT, Wu CWJ, Chao YM, Chang AYW, Chan JYH. Peripheral inflammation increases seizure susceptibility via the induction of neuroinflammation and oxidative stress in the hippocampus. *J Biomed Sci* 2015;46(22):01-14.

51. Pecorelli A, Natrella F, Belmonte G, Miracco C, Cervellati F, Ciccoli L, Mariottioni A et al. NADPH oxidase activation and 4-hydroxy-2-nonenal/aquaporin-4 2 adducts as possible new players in oxidative neuronal damage 3 presents in drug-resistant epilepsy. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852(3):507-19.
52. Cardenas-Rodriguez N, Huerta-Gertrudis B, Rivera-Espinosa L, Montesinos-Correa H, Bandala C, Carmona-Aparicio L, Coballase-Urrutia E. Role of oxidative stress in refractory epilepsy: evidence in patients and experimental models. *Int J Mol Sci* 2013;14:1455-76.
53. Atamer A, Kurdas-Ovunc AO, Yesil A, Atamer Y. Evaluation of paraoxonase, malondialdehyde, and lipoprotein levels in patients with asymptomatic cholelithiasis. *Saudi J Gastroenterol* 2014;20(1):66–73.
54. Cunha D. Dano oxidativo a lípídeos. 2011; https://pt.wikipedia.org/wiki/Dano_oxidativo_a_lip%C3%ADdios.
55. Borges LL, Lúcio TC, Gil ES, Barbosa EF. Uma Abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. *Biosfera* 2011;7(12):1-20.
56. Cort A, Ozben T, Saso L, De Luca C, Korkina L. Redox control of multidrug resistance and its possible modulation by antioxidants. *Oxid Med Cell Longev* 2015;16:01-17.
57. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini VBMS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova* 2007;30:1323-38.

58. Xie ZZ, Liu Y, Bian JS. Hydrogen sulfide and cellular redox homeostasis. *Oxi Med Cell Longevi* 2016;16:01-12.
59. Neto JMFA, Nader BB, Rivera RJB, Donadon CC, Macedo DV. Marcadores fisiológicos de overtraining (parte 2): análise de um protocolo para ratos 'wistar' submetidos a treinamento de corrida intermitente. *EFDeportes.com-Revista Digital* 2012;17(171)
60. Moreno ML, Escobar J, Izquierdo-Álvarez A, Gil A, Pérez S, Pereda J, et al. Disulfide stress: a novel type of oxidative stress in acute pancreatitis. *Free Radic Biol Med* 2014;70:265-77.
61. Escobar J, Sánchez-Illana A, Kuligowski J, Torres-Cuevas I, Solberg R, Garberg HT, et al. Development of a reliable method based on ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry to measure thiol-associated oxidative stress in whole blood samples. *J Pharm Biomed Anal* 2016;123:104-12.
62. Merdin A, Avci F, Guzelay N. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency presented with convulsion: a rare case. *Hematology Reports* 2014;6:5266.
63. Olusanya BO, Emokpae AA, Zamora TG, Slusher TM. Addressing the burden of neonatal hyperbilirubinaemia in countries with significant glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Acta Pædiatrica* 2014;103:1102–09.
64. Alessio A, Pereira FR, Sercheli MS, Rondina JM, Ozelo HB, Bilevicius E, Pedro T et al. Brain plasticity for verbal and visual memories in patients with mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis: an fMRI study. *Hum Brain Mapp* 2013;34:186–99.
65. Beutler E. *Red Cell Metabolism: A manual of biochemical methods*. Grune & Stratton 1975.

66. Sies HKO, Martino E, Boveris A. Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol-treated rats. *FEBS Lett* 1979;103(2):287-90.
67. Beutler E. Effect of flavin compounds on glutathione reductase activity: in vivo and in vitro studies. *The Journal of Clinical Investigation* 1969;48(10):1957-66.
68. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: Applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969;27:502-22.
69. Akerboom TPM, Sies H. Assay of glutathione disulfide and glutathione mixed disulfide in biological samples. *Meth Enzymol* 1981;77:373-82.
70. Beutler E. G6PD deficiency. *Blood* 1994;84(11):3613.
71. Liencres CG, Tas C, Brown EC, Erdin S, Onur E, Cubukcoglu Z et al. Oxidative stress in schizophrenia: a case-control study on the effects on social cognition and neurocognition. *BMC Psychiatry* 2014;14:268.
72. Gilca M, Piriou G, Gaman L, Delia C, Iosif L, Atanasiu V, Stoian I. A study of antioxidant activity in patients with schizophrenia taking atypical antipsychotics. *Psychopharmacology* 2014;231(24):4703-10.
73. World Health Organization - WHO. Global Status Report alcohol and health. 2018; <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274603/9789241565639-eng.pdf?ua=1>.
74. West R. Tobacco smoking: Health impact, prevalence, correlates and interventions. *Psychol Health* 2017;32(8):1018-36.
75. Sociedade Brasileira de Cardiologia, Malachias MVB, Souza WKSB, Plavnik FL, Rodrigues CIS, Brandão AA, et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol* 2016;107(3):1-83.

76. Organização Oliveira JEP, Montenegro Junior RM, Vencio S. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. 2017; <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>.
77. Góis JO. Epilepsia do lobo temporal com atrofia hipocampal: funções neuropsicológicas, qualidade de vida e adequação social [dissertação]. São Paulo (SP): Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2010.
78. Bruscky IS, Leite RAA, Correia CC, Ferreira MLB. Caracterização da epilepsia com início após os 60 anos de idade. *Rev Bras Geriatr Gerontol* 2016;19(2):343-47.
79. Torriani O. Epilepsy and tobacco smoking: a cross-sectional study. *Journal Of Neurology* 2016;263(10):2057-64.
80. Ferguson PL, Chiprich J, Smith G, Dong B, Wannamaker BB, Kobau R, Thurman DJ, Selassie AW. Prevalence of selfreported epilepsy, health care access, and health behaviors among adults in South Carolina. *Epilepsy Behav* 2008,13(3):529–34.
81. Cui W, Zack MM, Kobau R, Helmers SL. Health behaviors among people with epilepsy - results from the 2010 National Health Interview Survey. *Epilepsy Behav* 2015,44:121–26.
82. Gaitatzis A, Carroll K, Majeed A, W Sander J. The epidemiology of the comorbidity of epilepsy in the general population. *Epilepsia* 2004,45(12):1613–22.
83. Strine TW, Kobau R, Chapman DP, Thurman DJ, Price P, Balluz LS. Psychological distress, comorbidities, and health behaviors among US adults

- with seizures: results from the 2002 National Health Interview Survey. *Epilepsia* 2005,46(7):1133–39.
84. Kobau R, Gilliam F, Thurman DJ. Prevalence of self-reported epilepsy or seizure disorder and its associations with self-reported depression and anxiety: results from the 2004 HealthStyles Survey. *Epilepsia* 2006,47(11):1915–21.
85. Trosclair A, Dube SR. Smoking among adults reporting lifetime depression, anxiety, anxiety with depression, and major depressive episode, United States, 2005–2006. *Addict Behav* 2010,35(5):438–443.
86. Breslau N, Peterson EL, Schultz LR, Chilcoat HD, Andreski P. Major depression and stages of smoking: a longitudinal investigation. *Arch Gen Psychiatry* 1998,55(2):161–66.
87. Glassman AH, Helzer JE, Covey LS, Cottler LB, Stetner F, Tipp JE, Johnson J. Smoking, smoking cessation, and major depression. *JAMA* 1990;264(12):1546–49.
88. Dworetzky BA, Bromfield EB, Townsend MK, Kang JH. A prospective study of smoking, caffeine, and alcohol as risk factors for seizures or epilepsy in young adult women: data from the Nurses' Health Study II. *Epilepsia* 2010,51(2):198–205.
89. Rong L, Frontera AT Jr, Benbadis SR. Tobacco smoking, epilepsy, and seizures. *Epilepsy Behav* 2014;31:210–18.
90. Farinha H, Raposo de Almeida J, Aleixo AR, Oliveira H, Xavier F, Santos AI. Relationship between smoking and anxiety and depression in primary care. *Acta Med Port* 2013;26(5):523–30.

91. Samokhvalov AV, Irving H, Mohapatra S, Rehm J. Alcohol consumption, unprovoked seizures, and epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsia* 2010;51(7):1177-84.
92. Hillbom M, Pieninkeroinen I, Leone M. Seizures in alcohol-dependent patients. *Cns Drugs* 2003;17(14):1013-30.
93. Filho HSM, Costa CRM, Gomes MM. Epilepsia e saúde mental na infância. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2006;12(2):79-88.
94. Baviera M, Roncaglioni MC, Tettamanti M, Vannini T, Fortino I, Bortolotti A, et al. Diabetes mellitus: a risk factor for seizures in the elderly—a population-based study. *Acta Diabetologica* 2017;54(9):863-70.
95. Schwechter EM, Veliskova J, Velisek L. Correlation between extracellular glucose and seizure susceptibility in adult rats. *Ann Neurol* 2003;53:91–101.
96. Kirchner A, Veliskova J, Velisek L. Differential effects of low glucose concentrations on seizures and epileptiform activity in vivo and in vitro. *Eur J Neurosci* 2006;23:1512–22.
97. Maheandiran M, Mylvaganam S, Wu C, El-Hayek Y, Sugumar S, Hazrati L, et al. Severe hypoglycemia in a juvenile diabetic rat model: presence and severity of seizures are associated with mortality. *PLoS One* 2013;8.
98. Schober E, Otto KP, Dost A, Jorch N, Holl R. Association of epilepsy and type 1 diabetes mellitus in children and adolescents: is there an increased risk for diabetic ketoacidosis? *J Pediatr* 2012;160:662–6.
99. Solte'sz G, Acsa'di G. Association between diabetes, severe hypoglycaemia, and electroencephalographic abnormalities. *Arch Dis Child* 1989;64:992–6.

100. Pugh MJ, Knoefel JE, Mortensen EM, Amuan ME, Berlowitz DR, Van Cott AC. New-onset epilepsy risk factors in older veterans. *J Am Geriatr Soc* 2009;57:237–42.
101. Li X, Breteler MM, de Bruyne MC, Meinardi H, Hauser WA, Hofman A. vascular determinants of epilepsy: the Rotterdam study. *Epilepsia* 1997;38:1216–20.
102. Kanner AM. Depression in epilepsy: prevalence, clinical semiology, pathogenic mechanism and treatment. *Biol Psychiatry* 2003;54:388-98.
103. Musselman DL, Beta NE, Larsen H, Phillips LS. Relationship of depression to diabetes types 1 and 2: epidemiology, biology and treatment. *Biol Psychiatry* 2003;54:317-29.
104. Fisher L, Chesla CA, Mullan JT, Skaff MM, Kanter RA. Contributors to depression in Latino and European-American patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001;24(10):1752-7.
105. Everson SA, Maty SC, Lynch JW, Kaplan GA. Epidemiologic evidence for the relation between socioeconomic status and depression, obesity and diabetes. *J Psychosom* 2002;53:891-95.
106. Peltola J, Kulmala P, Isojärvi J, Saiz A, Latvala K, Palmio J, et al. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with therapy-resistant epilepsy. *Neurology* 2000;55(1):46-50.
107. Myers CT, Mefford HC. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. *Genome Medicine* 2015;7(1):1-11.
108. Greco A, Rizzo MI, De Virgilio A, Conte M, Gallo A, Attanasio G, et al. Autoimmune epilepsy. *Autoimmunity Reviews* 2016;15(3):221-5.

109. Gitaí DLG, Romcy-Pereira RN, Gitaí LLG, Leite JP, Garcia-Cairasco N, Paço-Larson ML. Genes e epilepsia: epilepsia e alterações genéticas. *Rev Assoc Med Bras* 2008;54(3):272-8.
110. Lopes-Cendes I. A genética das epilepsias. *Jornal de Pediatria* 2008;84(4).
111. Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurol* 1998;43:435-45.
112. Albuquerque M, Scorza FA. Atividade profissional e qualidade de vida em pessoas com epilepsia. *Epilepsia e Qualidade de Vida* 2007.
113. Hopker CC, Berberian AP, Massi G, Willig MH, Tonocchi R. A pessoa com epilepsia: percepções acerca da doença e implicações na qualidade de vida. *CoDAS* 2016;29(1):1-8.
114. Zanni KP, Maia Filho HS, Matsukura TS. Impacto da epilepsia no processo de escolarização de crianças e adolescentes. *Rev Bras Ed Esp* 2010;16(2):215-30.
115. Sarmiento MRS, Minayo-Gomez C. A epilepsia, o epilético e o trabalho: relações conflitantes. *Cad Saúde Pública* 2000;16(1):183-193.
116. Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. *Epilepsia* 2010;51(5):883-90.
117. Newton CR, Garcia HH. Epilepsy in poor regions of the world. *Lancet Neurol* 2012;380(9848):1193-201.
118. Bautista RE, Shapovalov D, Saada F, Pizzi MA. The societal integration of individuals with epilepsy: Perspectives for the 21st century. *Epilepsy Behav* 2014;35:42-9.
119. Boer HM, Mula M, Sander JW. The global burden and stigma of epilepsy. *Epilepsy Behav* 2008;12(4):540-6.

120. Elliott JO, Lu B, Shneker B, Charyton C, Layne MJ. Comorbidity, health screening, and quality of life among persons with a history of epilepsy. *Epilepsy Behav* 2009;14(1):125-9.
121. Viteva E. Impact of stigma on the quality of life of patients with refractory epilepsy. *Seizure* 2013;22(1):64-9.
122. Hao XT, Wong ISM, Kwan P. Interrater reliability of the international consensus definition of drug-resistant epilepsy: a pilot study. *Epilepsy Behav* 2011;22(2):388-90.
123. Fernandes MJS. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. *Estudos Avançados* 2013;27(77):85-96.
124. Noffs MHS, Yazigi L, Pascalicchio TF, Caboclo LOSF, Yacubian EMT. Desempenho cognitivo de pacientes com epilepsia do lobo temporal e epilepsia mioclônica juvenil: avaliação por meio da escala WAIS-III. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2006;12(1):7-12.
125. Bragatti JA, Torres CM, Londero RG, Martin KC, Souza AC, Hidalgo MPL, Chaves MLF, Bianchin MM. Prevalence of psychiatric comorbidities in temporal lobe epilepsy in a Southern Brazilian population. *Arq Neuropsiquiatr* 2011;69(2-A):159-165.
126. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Hauser WA, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* 2010;51(6):1069-77.
127. Sulzbacher S, Farwell JR, Temkin N, Lu AS, Hirtz DG. Late cognitive effects of early treatment with phenobarbital. *Clin Pediatr* 1999;38(7):387-94.

128. Menon B, Ramalingam K, Kumar RV. Oxidative stress in patients with epilepsy is independent of antiepileptic drugs. *Seizure* 2012;21(10):780-84.
129. Grewal GK, Samiksha K, Neha K, Luciano S, Shrikant K, Ritushree K . Effect of oxidative stress on ABC transporters: contribution to epilepsy pharmacoresistance. *Molecules* 2017;22(3):1-14.
130. Erakovic V, Zupan G, Varljen J, Ja J, Simoncic A. Anterograde activities of rat brain metabolic enzymes by pentylenetetrazol kindling and pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsy Res* 2001;43:165-173.
131. Kaneko K, Itoh K, Berliner LJ, Miyasaka K, Fujii H. Consequences of nitric oxide generation in epileptic-seizure rodent models as studied by in vivo EPR. *Magn Reson Med* 2002;48:1051-56.
132. Pearson-Smith JN, Patel M. Metabolic dysfunction and oxidative stress in epilepsy. *Int J Mol Sci* 2017;18:2365.
133. Guler SK, Aytac B, Durak ZE, Gokce-Cokal B, Gunes N, Durak I, et al. Antioxidative–oxidative balance in epilepsy patients on antiepileptic therapy: a prospective case–control study. *Neurological Sciences* 2016;37(5):763-67.
134. Shin EJ, Ko KH, Kim WK, Chae JS, Yen TPH, Kim HJ, et al. Role of glutathione peroxidase in the ontogeny of hippocampal oxidative stress and kainate seizure sensitivity in the genetically epilepsy-prone rats. *Neurochem Int* 2008;52:1134–47.
135. Aguiar CCT, Almeida AB, Araújo PVP, Abreu RNDC, Chaves EMC, Vale OC, Macêdo DS, Woods DJ, Fonteles MMF, Vasconcelos SMM. Oxidative stress and epilepsy: literature review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2012:1-12.

136. Arhan E, Serdaroglu A, Ozturk B, Ozturk HS, Ozcelik A, Kurt N, et al. Effects of epilepsy and antiepileptic drugs on nitric oxide, lipid peroxidation and xanthine oxidase system in children with idiopathic epilepsy. *Seizure* 2011;20(2):138-42.
137. Hamed SA, Abdellah MM, El-Melegy N. Blood levels of trace elements, electrolytes and oxidative stress/antioxidant systems in epileptic patients. *Journal Of Pharmacological Sciences* 2004;96(4):465-73.
138. Barros DO, Xavier SM, Barbosa CO. Effects of vitamin E in catalase activities in hippocampus after status epilepticus induced by polycarpine in Wistar rats. *Neurosci Lett* 2007;416(3):227-30.
139. Folbergrová J, Otáhal J, Druga R. Brain superoxide anion formation in immature rats during seizures: protection by selected compounds. *Exp Neurol* 2012;233(1):421-29.
140. Ristic AJ, Savic D, Sokic D, JB Pristov, Nestorov J, Bascarevic V, Raicevic S, Savic S, Spasojevic I. Hippocampal antioxidative system in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2015;56(5):789–99.
141. Drechsel DA, Patel M. Respiration-dependent H₂O₂ removal in brain mitochondria via the thioredoxin/peroxiredoxin system. *J Biol Chem* 2010;285:27850–58.
142. Kudin AP, Augustynek B, Lehmann AK, et al. The contribution of thioredoxin-2 reductase and glutathione peroxidase to H₂O₂ detoxification of rat brain mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2012;1817:1901–06.
143. Lindenau J, Noack H, Asayama K. Enhanced cellular glutathione peroxidase immunoreactivity in activated astrocytes and in microglia during excitotoxin induced neurodegeneration. *Glia* 1998;24:252–56.

144. Savaskan NE, Borchert A, Bräuer AU, Kuhn H. Role for glutathione peroxidase-4 in brain development and neuronal apoptosis: specific induction of enzyme expression in reactive astrocytes following brain injury. *Free Radic Biol Med* 2007;43:191–201.
145. Gardaneh M, Gholami M, Maghsoudi N. Synergy between glutathione peroxidase-1 and astrocytic growth factors suppresses free radical generation and protects dopaminergic neurons against 6hydroxydopamine. *Rejuvenation Res* 2011;14:195–204.
146. Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT, Georgiou CD, Angelatou F, Matsokis NA. Thiol, redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neurosci Lett* 2004;357:83-6.
147. Huber PC, Almeida WP, Fátima A. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. *Quim Nova* 2008;31(5):1170-79.
148. Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova* 2006; 29(1):113-23.
149. Wollenhaupt-Aguiar B, Pfaffenseller B, Chagas VS, Castro MA, Passos IC, Kauer-Sant'Anna M, et al. Reduced Neurite Density in Neuronal Cell Cultures Exposed to Serum of Patients with Bipolar Disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2016;19(10):1-5.
150. Merdin A, Avci F, Guzelay N. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency presented with convulsion: a rare case. *Hematology Reports* 2014; 6:5266.
151. Saunders MA, Hammer MF, Nachman MW. Nucleotide variability at G6pd and the signature of malarial selection in humans. *Genetics* 2002;162:1849–61.

152. Katsuragawa TH, Gil LHS, Stábile RG, Pires MG, Bonini-Domingos CR. Avaliação da incidência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e perfil hematológico em indivíduos de uma região de Rondônia. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2004;26(4):268-273.
153. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis* 2009;42(3):267-78.
154. Dombrowski JG, Souza RM, Curry J, Hinton L, Silva NRM, Grignard L et al. G6PD deficiency alleles in a malaria-endemic region in the Western Brazilian Amazon. *Malar J* 2017;16(1):253.
155. Geronzi U, Lotti F, Grosso S. Oxidative stress in epilepsy. *Expert Review of Neurotherapeutics* 2018;18(5):427–34.
156. Shin EJ, Suh SK, Lim YK, Jhoo WK, Hjelle OP, Ottersen OP, et al. Ascorbate attenuates trimethyltin-induced oxidative burden and neuronal degeneration in the rat hippocampus by maintaining glutathione homeostasis. *Neuroscience* 2005;33:715–27.
157. Martinc B, Grabnar I, Vovk T. Antioxidant as a preventive treatment for epileptic process: a review of the current status. *Curr Neuropharm* 2014;12:527–50.
158. Bhardwaj M, Kumar A. Neuroprotective mechanism of coenzyme Q10 (CoQ10) against PTZ induced kindling and associated cognitive dysfunction: possible role of microglia inhibition. *Pharmacol Rep* 2016;68(6):1301–11.

Apêndice

APÊNDICE – Artigo

O artigo intitulado “Marcadores de Estresse Oxidativo em Pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal Mesial” será submetido à *Epilepsy & Behavior*.

RESUMO

Introdução - A epilepsia, condição neurológica crônica de etiologia heterogênea, afeta mundialmente cerca de 50 milhões de indivíduos. A epilepsia do lobo temporal (ELT), com prevalência estimada de 20-25%, induz alterações bioquímicas, fisiológicas, moleculares e estruturais complexas no cérebro. A esclerose mesial temporal (EMT) é uma das lesões mais frequentemente associadas à ELT. Há prevalência elevada de transtornos psiquiátricos (TP) em pacientes com ELT-EMT, cujos mecanismos fisiopatológicos podem estar correlacionados. O estudo do estresse oxidativo, decorrente do desequilíbrio entre produção de compostos oxidantes e atividade do sistema de defesa antioxidante, poderá contribuir na compreensão da base biológica de ELT-EMT. **Objetivos** – Avaliar associação de marcadores do estresse oxidativo com ELT-EMT em pacientes resistentes ao tratamento medicamentoso, com e sem TP. **Casuística e Métodos** – Foram estudados 98 indivíduos, distribuídos em três grupos: G1–25 pacientes diagnosticados com ELT-EMT refratária sem TP; G2–21 pacientes com ELT-EMT refratária e TP; G3–52 indivíduos sem diagnóstico de epilepsia (Grupo Controle). Marcadores do estresse oxidativo, incluindo catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), glutathione reduzida somada à glutathione oxidada (GSH-t), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), capacidade antioxidante total equivalente ao Trólox (TEAC) e substâncias reativas o ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram analisados por espectrometria. Perfil clínico/demográfico/social e hábitos de vida foram obtidos por questionário e prontuário médico. Admitiu-se erro alfa de 5%. **Resultados** – Os grupos mostraram semelhança para sexo, tabagismo, etilismo e comorbidades ($P > 0,05$). História familiar de epilepsia prevaleceu nos pacientes comparado aos controles (G1=60%; G2=57,1%; G3=15,4%; $P=0,0002$ e $P=0,0009$, respectivamente). Para perfil social, observou-se menor renda financeira em pacientes (G1=48%; G2=42,9%), comparado aos controles (G3=90,4%; $P=0,0003$ e $P < 0,0001$; respectivamente). O mesmo ocorreu para escolaridade em nível superior (G1=4%; G2=4,8%; G3=63,5%; $P < 0,0001$ e $P < 0,0001$; respectivamente). Em relação aos marcadores de estresse oxidativo, níveis de CAT mostraram-se aumentados em pacientes (G1=15.901±5.395,5U/mL; G2=16.334±5.815,8U/mL), comparado aos controles (G3= 10.155±4.286,2U/mL; $P < 0,0001$), assim como TBARS (G1=569,73±694,35ng/mL; G2=506,13±598,08ng/mL; G3=180,23±47,09ng/mL; $P=0,0013$). Por outro lado, os pacientes apresentaram redução nos níveis de GPx

(G1=4,81±1,54U/mL; G2=4,81±1,40U/mL), G6PD (G1=0,91±0,32U/mL; G2=0,85±0,24U/mL) e GSH-t (G1=0,53±0,15mM; G2=0,55±0,15mM), comparado aos controles (G3=7,06±1,81U/mL; 1,10±0,32U/mL; 0,66±0,27mM; P<0,0001; P=0,0057; P=0,0454). Houve correlação negativa entre TBARS e GPx no G2 (R=-0,5151; P=0,0240), entretanto, houve correlação positiva no grupo controle entre GR e G6PD (R=0,2854; P=0,0403), GPx e G6PD (R=0,3362; P=0,0148); GSH-t e G6PD (R=0,2950; P=0,0338) e GPx e GSH-t (R=0,5977; P<0,0001). **Conclusão** – Valores reduzidos de GPx, G6PD e GSH-t e aumentados de CAT em pacientes, com ou sem TP, indicam demanda de antioxidantes no combate ao estresse oxidativo na ELT-EMT, porém nem sempre eficaz mostrado pelo aumento de TBARS, um marcador de peroxidação lipídica. A correlação entre os marcadores de estresse oxidativo reflete a integração dos sistemas antioxidantes e a peroxidação lipídica. Destaca-se, ainda, a persistência de estigmas sociais pré-estabelecidos nos pacientes com ELT-EMT, relacionados a perfil sócio-econômico-educacional, além de caráter genético associado à doença.

Palavras-chave: Epilepsia do Lobo Temporal; Estresse Oxidativo; Biomarcadores.

1. Introdução

Epilepsia é uma condição neurológica crônica, de etiologia heterogênea. ^(1,2) Caracteriza-se por descargas elétricas neuronais anormais espontâneas, resultado da potencialização da excitação e/ou falha de neurotransmissão inibitória, ocasionando perda de neurônios, sendo a crise epilética a expressão clínica da doença. ^(3,4) Mundialmente, há cerca de 50 milhões de indivíduos com epilepsia, sem distinção de gênero, idade, raça ou classe social. ^(1,5,6) Na população brasileira, é representada por 3 milhões de pessoas, ⁽⁷⁾ com incidência de 12/1.000 habitantes na Grande São Paulo, SP ⁽⁸⁾ e 18,6/1.000 em São José do Rio Preto, SP. ⁽⁹⁾ Após a definição, o tratamento consiste em fármacos antiepiléticos (FAEs), no entanto, 30 a 40% são resistentes. Desses pacientes, cerca de 30% apresenta-se como candidato potencial à cirurgia, sendo eficiente em até 80% dos casos. ⁽¹⁰⁻¹³⁾

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é a forma mais comum de epilepsia focal na população adulta, sendo responsável por 40% de todos os casos de epilepsia nesse grupo. ⁽¹⁴⁾ Destaca-se como mais frequente nesses pacientes a esclerose mesial temporal (EMT), que causa gliose e morte neuronal normalmente no hipocampo e estruturas circunvizinhas, como para-hipocampo e amígdala. ^(4,14) A ELT-EMT associa-se a déficits cognitivos, como perda de memória verbal, de funcionamento executivo e de linguagem, além disso, pode ocorrer alterações de humor e transtornos de personalidade. ^(6,15,16) A complexa associação entre epilepsia e transtornos psiquiátricos (TP) está entre os mais presentes e importantes aspectos da epileptologia, devido à elevada frequência, principalmente em pacientes com ELT-EMT. ⁽¹⁷⁾

Estudos demonstram associação entre estresse oxidativo e doenças neurodegenerativas, incluindo as doenças de Alzheimer e Parkinson, assim como epilepsia. ⁽¹⁸⁻²⁰⁾ O processo de estresse oxidativo ocorre quando há desequilíbrio entre

compostos oxidantes e a atuação do sistema de defesa antioxidante, em favor da geração excessiva de radicais livres (RLs) ou falha na sua remoção. ⁽²¹⁾ Os compostos oxidantes são representados pelas espécies reativas: átomos, moléculas ou íons que possuem alta reatividade em sua maioria, destacando-se as espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e oxigênio (EROs), como radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila (OH^{\bullet}), radical alquila (L^{\bullet}), e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). ^(12,22) (Lima e Abdalla, 2001; Puttachary et al., 2014).

Nesse contexto, ressalta-se a presença de marcadores do estresse oxidativo como baixos níveis de antioxidantes, assim como peroxidação lipídica exacerbada no sangue e em tecido neuronal de pacientes com epilepsia. ^(23,24) Os RLs geralmente atacam proteínas, lipídeos e macromoléculas de DNA, comprometendo a função de membranas celulares e danificando os sistemas de transportes. ^(3,25,26) Destaca-se, nesse processo, a peroxidação lipídica de membrana que ocorre devido ao aumento de RLs ou decréscimo da atividade dos mecanismos de defesa antioxidante, e tem sido relacionada com algumas formas de epilepsia. ⁽²⁶⁾ Seu subproduto malondialdeído (MDA), pode ser mensurado pela técnica denominada substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). ⁽²²⁾

Em condições normais, EROs são rapidamente convertidas para níveis fisiológicos não tóxicos graças à ação de antioxidantes. Esses antioxidantes podem ser mensurados e avaliados como marcadores de balanço redox. ^(21,22,27,28,) Ressalta-se, ainda, que a ação antioxidante de compostos hidrofílicos ou lipofílicos pela retenção do radical gerado de uma reação enzimática, química ou eletroquímica pode ser verificada também por ensaio enzimático que analisa a capacidade antioxidante total equivalente ao trolox (TEAC). ⁽²⁸⁾

A remoção de H_2O_2 envolve a ação de catalase (CAT) e também glutatona peroxidase (GPx). As reações que envolvem GPx implicam na utilização de agentes

redutores, como nicotinamida adenosina difosfato reduzida (NADPH), originando glutationa oxidada (GSSG). Nesse caso, a regeneração de glutationa reduzida (GSH) será obtida pela redução de GSSG com ação da enzima glutationa redutase (GR), à custa da oxidação de NADPH, ⁽²⁹⁾ produzida pela participação da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD). Nesse contexto, NADPH é o agente redutor necessário na redução de GSSH a GSH, um antioxidante que protege as hemácias contra espécies reativas evitando, conseqüentemente, a hemólise. ^(30,31)

Desse modo, este estudo teve como objetivo avaliar a associação de marcadores de estresse oxidativo (CAT, GPx, GSH-t, GR, G6PD, TEAC e TBARS) com ELT-EMT refratária com e sem TP, considerando também a correlação entre os marcadores bioquímicos, além de perfil clínico/sócio/demográfico e hábitos de vida em pacientes com a doença, comparado a um grupo controle.

2. Material e Métodos

2.1. Casuística

Foram estudados 98 indivíduos, independente de grupo étnico e sexo, distribuídos em três grupos: G1 – 25 pacientes diagnosticados com ELT-EMT refratária sem TP; G2 – 21 pacientes com ELT-EMT refratária com TP; G3: 52 indivíduos sem a doença (controle). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – CEP/FAMERP sob CAAE: 30797214.0.0000.5415. Todos os indivíduos foram informados das características do estudo, confirmando participação pelo Termo de Consentimento Livre e Pós-Esclarecido.

2.2. Perfil sócio-demográfico-clínico e hábitos de vida

Todos os participantes foram submetidos a um questionário específico, incluindo perfil demográfico, social e clínico, além de hábitos de vida. Os pacientes foram avaliados por psiquiatra por meio de entrevista clínica e instrumentos já traduzidos e validados para a língua portuguesa. Dados clínicos foram obtidos também pela revisão de prontuário médico eletrônico.

2.3. Dosagem bioquímica

Os indivíduos foram submetidos à coleta de amostra de sangue periférico por punção venosa para dosagem de componentes do estresse oxidativo (CAT, GPx, GSH-t, GR, G6PD, TEAC e TBARS). As amostras foram coletadas em tubos com EDTA. O processamento consistiu na obtenção do lisado celular, após centrifugação a 4°C, e armazenamento do plasma. O conteúdo restante gerou a “papa” eritrocitária (concentrado de hemácias), utilizada para originar alíquotas de lisado celular (50 µL da “papa” eritrocitária e 950 µL de água ultra-pura deionizada -Mili-Q). Os marcadores de estresse oxidativo foram determinados por espectrofotometria (PerkinElmer's VICTOR x3, Thermo Scientific Type evolution 300 BB e PG Instruments Limited T60V).

Para dosagem da atividade enzimática eritrocitária de CAT foi necessário o preparo do meio de reação (10 mM H₂O₂), protocolo adaptado de Beutler (1975),⁽³²⁾ com condições de leitura ajustadas para 240 nm por 1 minuto, a 30°C. Para análise da atividade eritrocitária de GPx foi utilizado o método adaptado de Sies et al. (1979),⁽³³⁾ que se baseia na medida em 340 nm, do decréscimo de absorbância durante a redução de GSSG, catalisada por GR na presença de NADPH a 30°C. A atividade da GR também foi avaliada de acordo com o consumo de NADPH oriundo da conversão de GSSG para sua forma reduzida, acompanhado em 340 nm (Beutler, 1969).⁽³⁴⁾

A concentração de GSH-total (GSSG + GSH = GSH-t) foi determinada em plasma pelo método de Tietze (1969),⁽³⁵⁾ adaptado por Akerboom & Sies (1981),⁽³⁶⁾ que consiste na leitura do ácido 5-mercaptop-2-nitrobenzóico, um composto derivado da oxidação da GSH, por espectrofotometria a 412 nm, durante quatro minutos. A atividade eritrocitária de G6PD (Beutler, 1994)⁽³⁷⁾ foi determinada por meio de reação contendo NADP e glicose-6-fosfato (G6P), que atuou na formação de NADPH, ocasionando acréscimo na absorvância em 340 nm.

O nível plasmático de MDA foi analisado pelo método de TBARS, utilizando protocolo adaptado de Liencres et al. (2014),⁽³⁸⁾ com leitura em placa a 540 nm. Para análise de TEAC plasmático, foi utilizado protocolo adaptado de Gilca et al. (2014),⁽³⁹⁾ que consiste em um controle padrão com solução trolox e PBS e para leitura das amostras, primeiro foi colocada a solução de trabalho ABTS, anotando-se o resultado e em seguida, foram adicionados 30 µL da amostra, iniciando o cronômetro por cinco minutos, anotando-se o resultado, em comprimento de onda 734 nm.

2.3. Análise estatística

As análises univariadas foram realizadas por meio do software Statistica 9.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), e os gráficos produzidos no software GraphPad Prisma versão 5.01 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Adotou-se o teste *General Linear Models* (GLM), abordagem que possibilita a análise de modelos com combinações de variáveis categóricas e contínuas, com múltiplos fatores preditivos. Assim, estabelecemos os grupos (G1, G2 e G3) como preditores com ajuste para sexo, idade e tabagismo, e os parâmetros bioquímicos avaliados como variáveis dependentes. Para resultados de $P < 0,05$, utilizou-se teste post hoc de Tukey. Teste exato de Fisher ou Qui-quadrado foi aplicado para analisar variáveis qualitativas. Para avaliar o grau de

correlação entre os marcadores do estresse oxidativo, utilizou-se a correlação de Pearson. O nível de significância foi fixado em $P < 0,05$.

3. Resultados

3.1. Perfil sócio-demográfico-clínico e hábitos de vida

A idade foi semelhante entre os grupos ($G1=45,1\pm 13,9$ anos; $G2=38,9\pm 13,8$ anos; $G3=38,4\pm 13,4$ anos ($P>0,05$; Tabela 1). O sexo feminino destacou-se nos pacientes ($G1=52\%$; $G2=57,1\%$), mas sem diferença significativa em relação ao grupo controle ($G3=50\%$; $P>0,05$; Tabela 1). Os grupos mostraram semelhança também para tabagismo ($G1=8\%$; $G2=9,5\%$; $G3=ausente$), DM ($G1=4\%$; $G2=4,8\%$; $G3=2\%$) e HAS ($G1=8\%$; $G3=5,8\%$; $G2=ausente$), enquanto etilismo não foi relatado.

História familiar de epilepsia prevaleceu nos pacientes comparado ao grupo controle ($G1=60\%$; $G2=57,1$; $G3=15,4\%$; $P=0,0002$ e $P=0,0009$, respectivamente, Tabela 1). Em relação ao perfil social, houve menor renda financeira em pacientes ($G1=48\%$; $G2=42,9\%$), comparado ao controle ($G3=90,4\%$; $P=0,0003$ e $P<0,0001$; respectivamente). O mesmo ocorreu para escolaridade em nível superior ($G1=4\%$; $G2=4,8\%$; $G3=63,5\%$; $P<0,0001$ e $P<0,0001$; respectivamente; Tabela 1). Para estado civil, em relação a possuir companheiro (a), não houve diferença entre os grupos ($P>0,05$; Tabela 1).

A Tabela 2 apresenta a caracterização clínica mostrando o tempo de doença de $32,1\pm 17,4$ anos em $G1$ e $28,2\pm 10,9$ anos em $G2$ ($P=0,3813$). Destacaram-se nos pacientes com epilepsia e TP, depressão (47,6%) seguido de transtorno de ansiedade generalizado (38,1%). Lesão precipitante não foi observada em 52% de $G1$ e 47,6% de $G2$ ($P=1,0$), porém crise febril ou meningoencefalite ocorreu em 16% (para ambos) de $G1$, e crise febril em 28,6% de $G2$, seguido de trauma crânio-encefálico em $G1$ (12%) e hipóxia perinatal em

G2 (14,3%), no entanto, sem diferença significativa ($P>0,05$). Lesão no lado esquerdo prevaleceu em G1 (72%) e G2 (61,9%) ($P=0,5376$). Entre os pacientes, 56% de G1 e 66,7% de G2 faziam uso de três ou mais medicamentos (0,5510).

3.2. Marcadores de estresse oxidativo

Os níveis de CAT (Figura 1A) mostraram-se aumentados em pacientes (G1=15.901±5.395,5U/mL; G2=16.334±5.815,8U/mL) comparado ao controle (G3=10.155±4.286,2U/mL; $P<0,0001$). Já para GR houve semelhança entre os grupos ($P=0,0631$; Figura 1B). Níveis de GPx (Figura 1C) e G6PD (Figura 1D) apresentaram valores significativamente reduzidos nos pacientes (G1=4,81±1,54U/mL; 0,91±0,32U/mL e G2=4,81±1,40U/mL; 0,85 ± 0,24 U/mL; respectivamente), comparado ao grupo controle (G3=7,06±1,81U/mL; 1,10±0,32U/mL; $P<0,0001$ e $P= 0,0057$; respectivamente); assim como valores de GSH-t (Figura 1E) (G1=0,53±0,15mM; G2=0,55±0,15mM; G3=0,66±0,27mM; $P=0,0454$). Quanto aos valores de TEAC apresentaram-se semelhantes entre os grupos ($P=0,062$; Figura 1F), ao contrário de TBARS (Figura 1G), com níveis elevados em G1 (569,73±694,35ng/mL) e G2 (506,13±598,08ng/mL), em relação a G3 (180,23±47,09ng/mL; $P=0,0013$).

3.3 Correlação entre marcadores do estresse oxidativo

As Figuras 2 e 3 apresentam o grau de correlação entre marcadores de estresse oxidativo, considerando os grupos caso (G1 e G2) e controle (G3). O grupo G2 mostrou correlação negativa moderada significativa entre TBARS e GPx ($R=-0,5151$; $P=0,0240$; Figura 2B). Por outro lado, o grupo controle apresentou correlação positiva moderada significativa entre níveis de G6PD e GR ($R=0,2854$; $P=0,0403$; Figura 2F); entre G6PD e GPx ($R=0,3362$; $P=0,0148$; Figura 2I); entre G6PD e GSH-t ($R=0,2950$; $P=0,0338$;

Figura 3C); entre GSH-t e GPx ($R=0,5977$; $P<0,0001$; Figura 3F). Todas as outras correlações apresentaram $P>0,05$.

4. Discussão

Foram estudados pacientes com ELT-EMT, com e sem TP, considerando marcadores envolvidos no estresse oxidativo, abrangendo também aspectos demográficos, sociais e clínicos, assim como comorbidades e hábitos de vida. Destacaram-se entre os pacientes, história familiar de epilepsia, baixa renda financeira, e menor representatividade para nível superior de escolaridade. A análise bioquímica mostrou níveis aumentados de CAT e TBARS e reduzidos de GPx, G6PD e GSH-t em ambos os grupos de pacientes, em relação aos controles. Ainda, o grupo de pacientes com TP (G2) apresentou correlação negativa entre TBARS e GPx. Correlação positiva foi observada entre TBARS e CAT, G6PD e GR, G6PD e GPx, G6PD e GSH-t, e GSH-t e GPx no grupo controle.

Destacou-se o sexo feminino corroborando outros estudos, cuja frequência variou de 57,1% a 60% em pacientes com epilepsia na faixa etária entre 39 anos e 60 anos. ^(40,41) Em relação aos hábitos de vida, não houve associação entre tabagismo e epilepsia, em concordância com outra casuística. ⁽⁴²⁾ No entanto, em outras séries, o tabagismo variou de 21,8% a 38%, comparado a frequência de 19,3% a 23% na população geral. ^(43,44) Ressalta-se, ainda, a relação hipotética entre alguns tipos de epilepsia e tabagismo, considerando que aqueles com epilepsia generalizada idiopática são mais propensos a esse hábito, comparados a pacientes com o tipo focal. ⁽⁴²⁾ Apesar do presente estudo não ter registrado casos de abuso de álcool em ambos os grupos de pacientes, o alcoolismo parece ser um fator importante para o início da epilepsia, pois pode ocasionar lesões cerebrais e facilitar traumas. ⁽⁴⁵⁾ É comum que pacientes com a

doença sejam aconselhados a não consumirem álcool, devido a possível interação com medicamentos prescritos para o tratamento. ⁽⁴⁶⁾

Em relação às comorbidades, para DM e HAS houve semelhança entre pacientes e controles corroborando outra casuística com 11% de DM. ⁽⁴⁷⁾ Ressalta-se que DM é um fator de risco independente para crises convulsivas, principalmente em pacientes idosos, já que a hiperglicemia, assim como hipoglicemia, é comum nessa faixa etária. ⁽⁴⁸⁾ É possível que neste estudo a faixa etária principalmente de pacientes adultos jovens, a baixa frequência de tabagismo e ausência de etilismo tenham influenciado na frequência reduzida de DM. O controle adequado de parâmetros metabólicos se faz necessário não apenas para diminuir as complicações vasculares do DM e HAS, mas também evitar outras complicações. ⁽⁴⁸⁾

Ainda, história familiar de doenças neurológicas prevaleceu nos pacientes, comparado aos controles, corroborando autores que ressaltam a contribuição genética para a epilepsia ⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾, sendo o risco de 1,5 a 5 vezes maior de desenvolver a doença em parentes de pacientes em relação a população geral. ⁽⁵²⁾

Em relação ao perfil social, constatou-se neste estudo menor nível de escolaridade entre os pacientes, assim como de renda financeira. Isso confirma o impacto da epilepsia não apenas restrito a aspectos clínicos e biológicos, mas também psicológicos e sociais, assim como para os familiares, com limitações e piora na qualidade de vida de todos os envolvidos. ^(53,54) Ressalta-se, ainda, o estado civil semelhante para pacientes e controles, discordando de outras séries que demonstram o isolamento decorrente da epilepsia, numa tentativa de esconder a doença de familiares, parceiros e pessoas do convívio profissional. ^(55,56)

Adicionalmente, convulsão tem sido relacionada à indução de estresse oxidativo com morte neuronal. ^(57,58) Neste estudo, pacientes com ELT-EMT mostraram maior

atividade de CAT, comparado ao grupo controle, correlacionado negativamente com TBARS (marcador de peroxidação lipídica). Aumento de níveis de CAT também foram demonstrados em modelos de epilepsia crônica, sugerido como consequência de uma resposta antioxidante enzimática primária para o aumento de RLs. ⁽⁵⁹⁾ Porém, estudo em modelo animal (ratos) demonstrou diminuição dos níveis de CAT comparado ao controle, sugerindo uma limitação da defesa antioxidante, pelo consumo excessivo em virtude da alta taxa de estresse oxidativo e não adequação do organismo para essa condição. ⁽⁶⁰⁾

Entretanto, outro estudo realizado em tecido de hipocampo humano pós morte, também encontrou aumento da atividade de CAT, além de outras enzimas, como GPx e GR. Níveis elevados dessas enzimas, com ação na recuperação de glutathiona reduzida, com papel antioxidante, indicam exposição excessiva ao estresse oxidativo e, por isso, esse efeito como resposta. ⁽⁶¹⁾ No entanto, neste estudo observou-se níveis semelhantes de GR em pacientes e controles, mas níveis reduzidos de GPx nos pacientes. É importante destacar que essas enzimas estão relacionadas com a degradação do peróxido de hidrogênio. ^(62,63)

Em paciente com ELT, o sistema antioxidante como o da glutathiona e SOD podem estar alterados, sendo indicativos de estresse oxidativo. ⁽⁶⁴⁾ No presente estudo, os marcadores GPx e GSH-t (GSH+GSSG) apresentaram-se reduzidos nos pacientes, assim como em modelo animal sugerindo presença de estresse oxidativo e o estado não compensatório dos antioxidantes. ⁽⁶⁵⁾ Ainda, a correlação positiva apresentada entre GPx e TBARS, infere a importância desse antioxidante enzimático como resposta ao aumento de RLs e dano oxidativo celular. Adicionalmente, estudo em córtex cerebral de ratos, também demonstrou diminuição significativa dos níveis de GSH e GSSG,

provavelmente relacionada à redução das enzimas GPx e GR que catalisam reações nessa via metabólica. ⁽⁶⁶⁾

Níveis reduzidos de G6PD também foram encontrados nos pacientes, em relação ao grupo controle comprometendo, possivelmente, os níveis de GSH, de ação antioxidante. A atividade enzimática da G6PD é de extrema importância, pois origina NADPH, agente redutor na recuperação de GSH a partir de GSSH. ⁽⁶⁷⁾ A deficiência de G6PD está relacionada à hemólise celular, tendo em vista que compromete o sistema antioxidante de eritrócitos representado pela GSH, o que expõe essas células a ação de RLs e, conseqüentemente, à hemólise. ^(68,69) Ainda, no presente estudo, a correlação positiva entre G6PD e GR, G6PD e GPx, G6PD e GSH-t, GPx e GSH-t é demonstrada pelo fato de que participam em conjunto da via da glutatona. ⁽²¹⁾ Esse sistema, assim como a CAT, também catalisa a dismutação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, sendo que a glutatona opera em ciclos entre sua forma oxidada e reduzida. ⁽⁷⁰⁾ Ainda, em relação à análise de correlação, os controles apresentaram perfil previsto, entretanto, os pacientes mostraram padrão diferente sugerindo a influência de outros fatores na interação de vias redox.

Desse modo, todos apresentam o propósito de prevenção impedindo e/ou controlando a formação de RLs e espécies não-radicalares, envolvidos com a ocorrência de danos oxidativos. ⁽²¹⁾ Nesse contexto, a correlação negativa apresentada no grupo de pacientes com TP entre GPx e TBARS, um marcador de peroxidação lipídica, indica a importância desse antioxidante enzimático como resposta ao aumento de RLs e dano oxidativo celular.

Neste estudo, embora não considerados os tipos de FAEs utilizados na ELT-EMT, ressalta-se o efeito protetor do tratamento medicamentoso na epilepsia, tendo em vista a modulação neuronal, com redução da hiperexcitabilidade e, conseqüentemente,

menor dano tecidual, ^(13,72) o que poderia contribuir na estabilidade do estado redox. Entretanto, a casuística ora estudada apresentou alteração de marcadores de estresse oxidativo como CAT, GPx, GSH-t, G6PD, e TBARS, o que pode ter ocorrido devido ao caráter refratário dos pacientes com ou sem TP. Têm sido crescentes os estudos de estresse oxidativo, tanto experimentais como clínicos, na elucidação de mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos na epilepsia. Nesse contexto, destacam-se os estudos experimentais com antioxidantes. ⁽⁷²⁾ Ressalta-se que a semelhança entre ambos os grupos de pacientes, sugere que o TP não potencializa o estresse oxidativo, representado pelos referidos marcadores. Além disso, os critérios de inclusão foram rigidamente controlados, o que dificultou o aumento da casuística, porém conferiu homogeneidade aos grupos.

Em conclusão, valores reduzidos de GPx, GSH-t e G6PD e aumentados de CAT indicam demanda de antioxidantes no combate ao estresse oxidativo na ELT-EMT com ou sem TP, porém, não são necessariamente eficazes tendo em vista o aumento de TBARS, um marcador de peroxidação lipídica. A correlação entre marcadores do estresse oxidativo reflete a integração de enzimas antioxidantes e compostos da via da glutathiona, cuja alteração pode influenciar na peroxidação lipídica como indicado pela correlação negativa entre GPx e TBARS. Ainda, renda financeira insatisfatória e nível de escolaridade baixo em pacientes com ELT-EMT confirmam a presença de estigmas sociais já pré-estabelecidos para epilepsia. Ressalta-se, também, o caráter genético da doença pelo histórico familiar de epilepsia principalmente nos pacientes, comparado à indivíduos sem a doença.

Agradecimentos

A todos os colaboradores do Laboratório Núcleo de Pesquisa em Bioquímica e Biologia Molecular-NPBIM, ao Professor Gerardo Maria de Araújo Filho pela ajuda clínica, ao Professor Danilo Humberto Gruning da Silva, pela contribuição com as análises laboratoriais e de estatística, a Professora Doroteia Rossi Silva Souza, por participar de todas as etapas, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto-FAMERP, pelo suporte técnico-científico e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPQ pelo apoio financeiro na execução deste trabalho (Processo: 443742/2014-6).

Conflitos de Interesse

Os autores confirmam não haver relações financeiras ou pessoais com pessoas ou organizações inapropriadas que poderiam influenciar esse trabalho. Ainda, os autores declaram não terem conflitos de interesse.

Referências

- [1] World Health Organization - WHO. Epilepsy. 2018; <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>.
- [2] Zhou P, He N, Zhang JW, Lin ZJ, Wang J, Yan LM, et al. Novel mutations and phenotypes of epilepsy-associated genes in epileptic encephalopathies. *Genes Brain Behav* 2018; 17(8).
- [3] Puttachary S, Sharma S, Stark S, Thippeswamy T. Seizure – induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *BioMed Research International* 2014;15:1-20.

- [4] Ge YX, Tian XZ. Clc-2 Knockout attenuated experimental temporal lobe epilepsy in mice by tonic inhibition mediated by GABA_A receptors. *Brain Res Bull* 2016;121:209-14.
- [5] Rosa DV, Rezende VB, Costa BS, Mudado F, Schütze M, Torres KC, et al. Circulating CD4 and CD8 T cells expressing pro-inflammatory cytokines in a cohort of mesial temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis. *Epilepsy Res* 2015;120:1-6.
- [6] De Araújo Filho GM, Martins DP, Lopes AM, de Jesus Brait B, Furlan AER, Oliveira CIF, et al. Oxidative stress in patients with refractory temporal lobe epilepsy and mesial temporal sclerosis: Possible association with major depressive disorder? *Epilepsy Behav* 2018;80:191-6.
- [7] World Health Organization - WHO. Epilepsy. 2016; <http://www.who.int>.
- [8] Brasil, Portaria 1.319 de 25 de novembro de 2013. Dispõe sobre o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Epilepsia. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 25 nov 2013;* http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2013/prt1319_25_11_2013.html.
- [9] Borges MA, Min LL, Guerreiro CAM, Yacubian EMT, Cordeiro JÁ, Tognola WA, Borges APP et al. Urban prevalence of epilepsy: populational study in São José do Rio Preto, a medium-sized city in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 2004; 62(2-A):199-205.
- [10] Méndez-Armenta M, Nava-Ruíz C, Juárez- Rebollar D, Rodríguez-Martínez E, Gómez PY. Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. *Oxid Med Cell Longev* 2014;14:01-12.

- [11] Craiu D, Barborica A, Motoescu C, Donos C, Ciuera J, Mindruta I. Presurgical evaluation and epilepsy surgery in MRI negative resistant epilepsy of childhood with good outcome. *Turk Neurosurg* 2015;25(6):905-13.
- [12] Puttachary S, Sharma S, Stark S, Thippeswamy T. Seizure – induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *BioMed Research International* 2014;15:1-20.
- [13] Nitrini R, Bacheschi LA. *A neurologia que todo médico deve saber*. 3 ed. São Paulo (SP): Atheneu; 2015.
- [14] Andrade-Valença LPA, Valença MM, Velasco TR, Leite JP. Epilepsia do lobo temporal mesial associada à esclerose hipocampal. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2006;12(1):31-6.
- [15] Sidhu MK, Stretton J, Winston GP, McEvoy AW, Symms M, Thompson PJ, Koepp MJ et al. Memory network plasticity after temporal lobe resection: a longitudinal functional imaging study. *Brain* 2016;139:415-30.
- [16] De Araújo Filho GM, Tarifa B, Santos RE, Dias ALO, Ulliano JRL, Marques LHN. Clinical and sociodemographic variables associated with interictal dysphoric disorder and interictal personality in patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy: A controlled study. *Epilepsy Behav* 2017;69:100-3.
- [17] De Araújo Filho GM, Furlan AER, Ribeiro AESA, Marques LHN. Psychiatric disorders as “hidden” contraindications for presurgical VEEG in patients with refractory epilepsy: A retrospective cohort study in a tertiary center. *Epilepsy & Behavior* 2015;45:35-8.
- [18] Ciobica A, Olteanu Z, Padurariu M, Hritcu L. The effects of pergolide on memory and oxidative stress in a rat model of Parkinson’s disease. *J Physiol Biochem* 2012;(68):59-69.

- [19] Gemelli T, Andrade RB, Castro AL, Garcia LP, Funchal C. Estresse oxidativo como fator importante na fisiopatologia da doença de Alzheimer. *Rev Uniara* 2013;16(1):67-78.
- [20] Ramírez A, Vázquez-Sánchez AY, Carrión-Robalino N, Camacho J. Ion channels and Oxidative Stress as a Potential Link for the Diagnosis or Treatment of Liver Diseases. *Oxid Med Cell Longv* 2015;16:01-17.
- [21] Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, De Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr.* 2010;23(4):629-43.
- [22] Lima EM, Abdalla DSP. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 2001;37(3):293-303.
- [23] Ho YH, Lin YT, Wu CWJ, Chao YM, Chang AYW, Chan JYH. Peripheral inflammation increases seizure susceptibility via the induction of neuroinflammation and oxidative stress in the hippocampus. *J Biomed Sci* 2015;46(22):01-14.
- [24] Pecorelli A, Natrella F, Belmonte G, Miracco C, Cervellati F, Ciccoli L, Mariottioni A et al. NADPH oxidase activation and 4-hydroxy-2-nonenal/aquaporin-4 2 adducts as possible new players in oxidative neuronal damage 3 presents in drug-resistant epilepsy. *Biochim Biophys Acta* 2015,1852(3):507-19.
- [25] Cardenas-Rodriguez N, Huerta-Gertrudis B, Rivera-Espinosa L, Montesinos-Correa H, Bandala C, Carmona-Aparicio L, Coballase-Urrutia E. Role of Oxidative Stress in Refractory Epilepsy: Evidence in Patients and Experimental Models. *Int J Mol Sci* 2013;14:1455-76.

- [26] Tutanc M, Aras M, Dokuyucu R, Altas M, Zerem C, Arica V, Ozturk OH et al. Oxidative status in epileptic children using carbamazepine. *Iran J Pediatr* 2015;25(6):3885.
- [27] Pôrto WG. Radicais livres e neurodegeneração - entendimento fisiológico: base para nova terapia? *Rev Neurociências* 2001;9(2):70-6.
- [28] Vasconcelos SML, Goulart MOF, Moura JBF, Manfredini VBMS, Kubota LT. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. *Quim Nova* 2007;30:1323-38.
- [29] Xie ZZ, Liu Y, Bian JS. Hydrogen sulfide and cellular redox homeostasis. *Oxi Med Cell Longevi* 2016;16:01-12.
- [30] Merdin A, Avci F, Guzelay N. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency presented with convulsion: a rare case. *Hematology Reports* 2014;6:5266.
- [31] Olusanya BO, Emokpae AA, Zamora TG, Slusher TM. Addressing the burden of neonatal hyperbilirubinaemia in countries with significant glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Acta Paediatrica* 2014;103:1102-09.
- [32] Beutler E. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*. Grune & Stratton 1975.
- [33] Sies HKO, Martino E, Boveris A. Increased biliary glutathione disulfide release in chronically ethanol-treated rats. *FEBS Lett* 1979;103(2):287-90.
- [34] Beutler, E. Effect of flavin compounds on glutathione reductase activity: in vivo and in vitro studies. *The Journal of Clinical Investigation* 1969;48(10):1957-66.
- [35] Tietze, F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969;27:502-22.

- [36] Akerboom TPM, Sies H. Assay of glutathione disulfide and glutathione mixed disulfide in biological samples. *Meth Enzymol* 1981;77:373-82.
- [37] Beutler E. G6PD deficiency. *Blood* 1994;84(11):3613.
- [38] Liencres CG, Tas C, Brown EC, Erdin S, Onur E, Cubukcoglu Z et al. Oxidative stress in schizophrenia: a case-control study on the effects on social cognition and neurocognition. *BMC Psychiatry* 2014;14:268.
- [39] Gilca M, Piriú G, Gaman L, Delia C, Iosif L, Atanasiu V, Stoian I. A study of antioxidant activity in patients with schizophrenia taking atypical antipsychotics. *Psychopharmacology* 2014;231(24):4703-10.
- [40] Góis JO. Epilepsia do lobo temporal com atrofia hipocampal: funções neuropsicológicas, qualidade de vida e adequação social [dissertação]. São Paulo (SP): Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2010.
- [41] Bruscky IS, Leite RAA, Correia CC, Ferreira MLB. Caracterização da epilepsia com início após os 60 anos de idade. *Rev Bras Geriatr Gerontol* 2016;19(2):343-47.
- [42] Torriani O, Vuilleumier F, Perneger T, Despland PA, Maeder M, Heritier-Barras AC, et al. Epilepsy and tobacco smoking: a cross-sectional study. *Journal Of Neurology* 2016;263(10):2057-64.
- [43] Ferguson PL, Chiprich J, Smith G, Dong B, Wannamaker BB, Kobau R, Thurman DJ, Selassie AW. Prevalence of selfreported epilepsy, health care access, and health behaviors among adults in South Carolina. *Epilepsy Behav* 2008,13(3):529-34.
- [44] Cui W, Zack MM, Kobau R, Helmers SL. Health behaviors among people with epilepsy-results from the 2010 National Health Interview Survey. *Epilepsy Behav* 2015,44:121-26.

- [45] Samokhvalov AV, Irving H, Mohapatra S, Rehm J. Alcohol consumption, unprovoked seizures, and epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Epilepsia* 2010;51(7):1177-84.
- [46] Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Epilepsia. 2013; <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/fevereiro/07/pcdt-epilepsia-2013.pdf>.
- [47] Filho HSM, Costa CRM, Gomes MM. Epilepsia e saúde mental na infância. *J Epilepsy Clin Neurophysiol* 2006;12(2):79-88.
- [48] Baviera M, Roncaglioni MC, Tettamanti M, Vannini T, Fortino I, Bortolotti A, et al. Diabetes mellitus: a risk factor for seizures in the elderly-a population-based study. *Acta Diabetologica* 2017;54(9):863-70.
- [49] Peltola J, Kulmala P, Isojärvi J, Saiz A, Latvala K, Palmio J, et al. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with therapy-resistant epilepsy. *Neurology* 2000;55(1):46-50.
- [50] Myers CT, Mefford HC. Advancing epilepsy genetics in the genomic era. *Genome Medicine* 2015;7(1):01-11.
- [51] Greco A, Rizzo MI, De Virgilio A, Conte M, Gallo A, Attanasio G, et al. Autoimmune epilepsy. *Autoimmunity Reviews* 2016;15(3):221-5.
- [52] Lopes-Cendes I. A genética das epilepsias. *Jornal de Pediatria* 2008;84(4).
- [53] Albuquerque M, Scorza FA. Atividade profissional e qualidade de vida em pessoas com epilepsia. *Epilepsia e Qualidade de Vida* 2007.
- [54] Hopker CC, Berberian AP, Massi G, Willig MH, Tonocchi R. A pessoa com epilepsia: percepções acerca da doença e implicações na qualidade de vida. *CoDAS* 2016;29(1):01-8.

- [55] Boer HM, Mula M, Sander JW. The global burden and stigma of epilepsy. *Epilepsy Behav* 2008;12(4):540-6.
- [56] Elliott JO, Lu B, Shneker B, Charyton C, Layne MJ. Comorbidity, health screening, and quality of life among persons with a history of epilepsy. *Epilepsy Behav* 2009;14(1):125-9.
- [57] Erakovic V, Zupan G, Varljen J, Ja J, Simoncic A. Anterograde activities of rat brain metabolic enzymes by pentylenetetrazol kindling and pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsy Res* 2001;43:165-173
- [58] Kaneko K, Itoh K, Berliner LJ, Miyasaka K, Fujii H. Consequences of nitric oxide generation in epileptic-seizure rodent models as studied by in vivo EPR. *Magn Reson Med* 2002;48:1051-56.
- [59] Barros DO, Xavier SM, Barbosa CO. Effects of vitamin E in catalase activities in hippocampus after status epilepticus induced by picrotoxin in Wistar rats. *Neurosci Lett* 2007;416(3):227-30
- [60] Folbergrová J, Otáhal J, Druga R. Brain superoxide anion formation in immature rats during seizures: protection by selected compounds. *Exp Neurol* 2012;233(1):421-29.
- [61] Ristic AJ, Savic D, Sokic D, JB Pristov, Nestorov J, Bascarevic V, Raicevic S, Savic S, Spasojevic I. Hippocampal antioxidative system in mesial temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2015;56(5):789-99.
- [62] Drechsel DA, Patel M. Respiration-dependent H₂O₂ removal in brain mitochondria via the thioredoxin/peroxiredoxin system. *J Biol Chem* 2010;285:27850-58.

- [63] Kudin AP, Augustynek B, Lehmann AK, et al. The contribution of thioredoxin-2 reductase and glutathione peroxidase to H₂O₂ detoxification of rat brain mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 2012;1817:1901-06.
- [64] Pearson-Smith JN, Patel M. Metabolic Dysfunction and Oxidative Stress in Epilepsy. *Int J Mol Sci* 2017;18:2365.
- [65] Shin EJ, Ko KH, Kim WK, Chae JS, Yen TPH, Kim HJ, et al. Role of glutathione peroxidase in the ontogeny of hippocampal oxidative stress and kainate seizure sensitivity in the genetically epilepsy-prone rats. *Neurochem Int* 2008;52:1134-47.
- [66] Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT, Georgiou CD, Angelatou F, Matsokis NA. Thiol, redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neurosci Lett* 2004;357:83-6.
- [67] Merdin A, Avci F, Guzelay N. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency presented with convulsion: a rare case. *Hematology Reports* 2014;06:5266.
159. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis* 2009;42(3):267-78.
- [68] Ministério da Saúde. Portaria Conjunta nº 17, de 21 de junho de 2018; <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/17/Portaria-Conjunta-n17-Epilepsia-RETIFICADO.pdf>
- [69] Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova* 2006;29(1):113-23.

- [70] World Health Organization-WHO. Carbamazepine In Childhood Epilepsy. 2006;<http://archives.who.int/eml/expcom/expcom15/applications/paediatrics/formulations/Carbamazepine.pdf>.
- [71] Geronzi U, Lotti F, Grosso S. Oxidative stress in epilepsy. *Expert Review of Neurotherapeutics* 2018;18(5):427–34.

Tabelas e Figuras

Tabela 1. Perfil sócio-demográfico, hábitos de vida e comorbidades em pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2), refratários ao tratamento medicamentoso e indivíduos sem a doença (G3).

Característica	G Total (N=98)		G1 (N=25)		G2 (N=21)		G3 (N=52)		*◇Valor-P		
Idade (anos) Média±DP	-		45,1±13,9		38,9±13,8		38,4±13,4		0,1185◇		
	N	%	N	%	N	%	N	%	G1 x G2	G1 x G3	G2 x G3
Sexo											
Masculino	47	47,9	12	48	9	42,9	26	50	0,9588	0,8694	0,7686
Feminino	51	52,1	13	52	13	57,1	26	50			
Hábito de vida											
Tabagismo	4	4,1	2	8	2	9,5	0	0	1,0	0,2447	0,1970
Etilismo	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-
Comorbidades											
DM	3	3,1	1	4	1	4,8	1	2	1,0	0,5468	0,4954
HAS	5	5,1	2	8	0	0	3	5,8	0,4928	0,6574	0,5523
História familiar	35	35,7	15	60	12	57,1	8	15,4	0,8446	0,0002	0,0009
Perfil Social											
Com renda (empregado/ aposentado)	68	69,4	12	48	9	42,9	47	90,4	0,8574	0,0003	<0,0001
Escolaridade (nível superior)	35	35,7	1	4	1	4,8	33	63,5	1,0	<0,0001	<0,0001
Estado civil (com companheiro/a)	43	43,9	12	48	10	47,6	21	40,4	0,08939	0,6992	0,6367

P=Nível de significância; ◇Teste ANOVA; *Teste Qui-quadrado ou Fisher; N=Número de indivíduos; DM=Diabetes mellitus; HAS=Hipertensão arterial sistêmica; DP=Desvio Padrão.

Tabela 2. Caracterização clínica de pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2), refratários ao tratamento medicamentoso.

	G1 (N=25)		G2 (N=21)		P*◇
Tempo de doença em anos (média±DP)	32,1±17,4		28,2±10,9		0,3813◇
Subtipo do Transtorno	N	%	N	%	
Psicose pós ictal	-	-	2	9,5	-
Psicose interictal	-	-	1	4,8	-
Depressão	-	-	10	47,6	-
Transtorno de ansiedade generalizado	-	-	8	38,1	-
Lesão Precipitante					
Sem lesão	13	52	10	47,6	1,0
TCE	3	12	-	-	0,2972
Meningoencefalite	4	16	2	9,5	0,8335
Crise Febril	4	16	6	28,6	0,5023
Hipóxia perinatal	1	4	3	14,3	0,4790
Lateralidade					
Direito	7	28	8	38,1	0,5376
Esquerdo	18	72	13	61,9	
Medicamento					
Até 2	11	44	7	33,3	0,5510
3 ou mais	14	56	14	66,7	

P=Nível de significância; *Teste Qui-quadrado ou Fisher; ◇Teste T; DP=Desvio padrão; N=Número de indivíduos; - = ausência; TCE=Trauma crânio-encefálico.

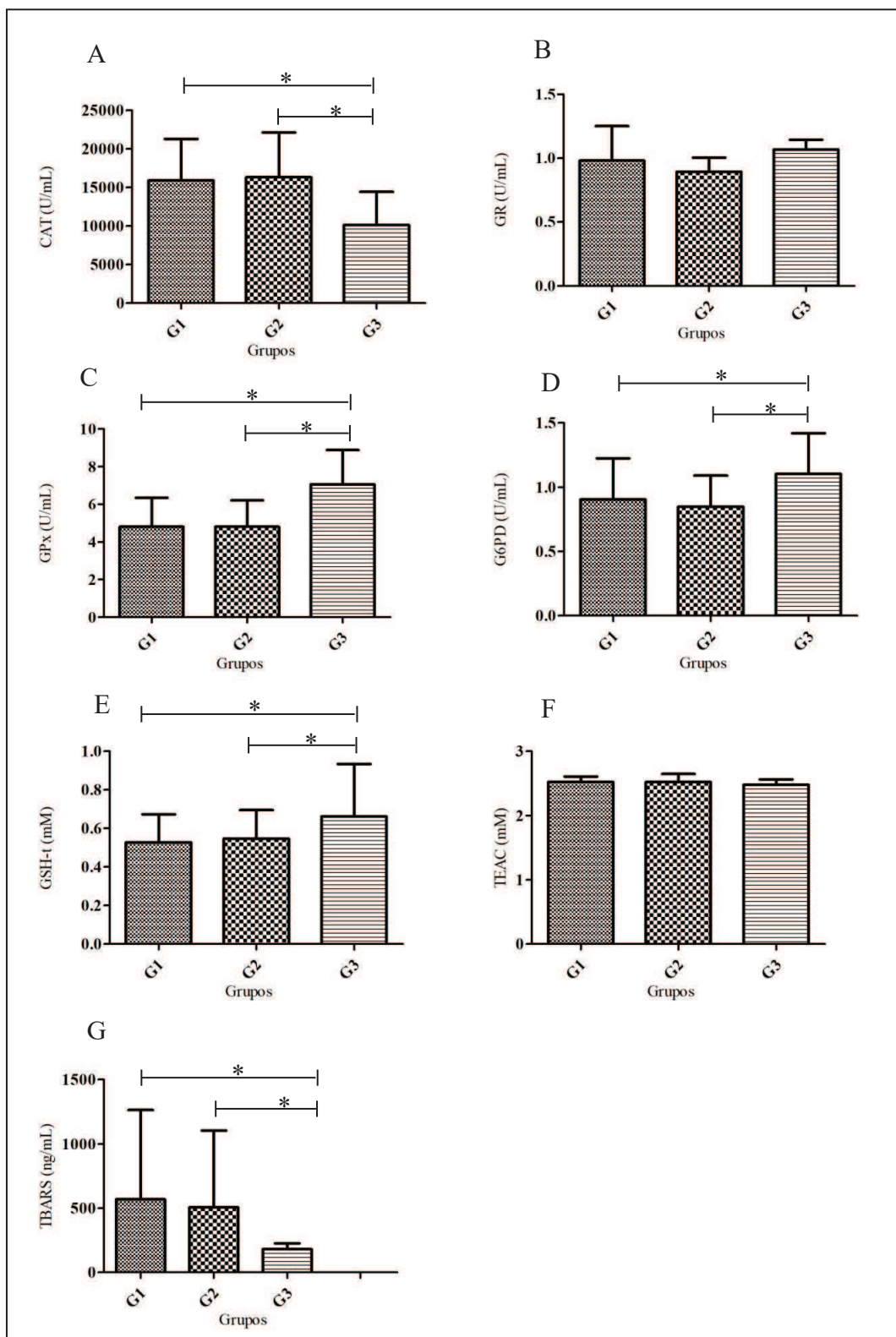


Figura 1. Marcadores de estresse oxidativo. Marcadores de estresse oxidativo em pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose mesial sem (G1) e com transtorno psiquiátrico (G2) refratários ao tratamento medicamentoso, e indivíduos sem a doença (G3) representados com média±DP. A) ♦ Catalase (CAT): G1 e G2 > G3: $P < 0,0001$. B) ■ Glutathione reductase (GR): $P > 0,05$. C) ♦ Glutathione peroxidase (GPx): G1 e G2 < G3 ($P < 0,0001$). D) ♦ Glutathione-6-fosfato desidrogenase (G6PD): G1 e G2 < G3; $P = 0,0057$. E) ♦ Glutathione total (GSH-t): G1 e G2 < G3 ($P = 0,0454$). F) ♦ Capacidade antioxidante total (TEAC): $P > 0,05$. G) Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): G1 e G2 > G3 ($P = 0,0013$). ♦ G1: N=24; G2: N=19 e G3: N=52. ■ G1: N=24; G2: N=19 e G3: N=50. DP= Desvio Padrão.

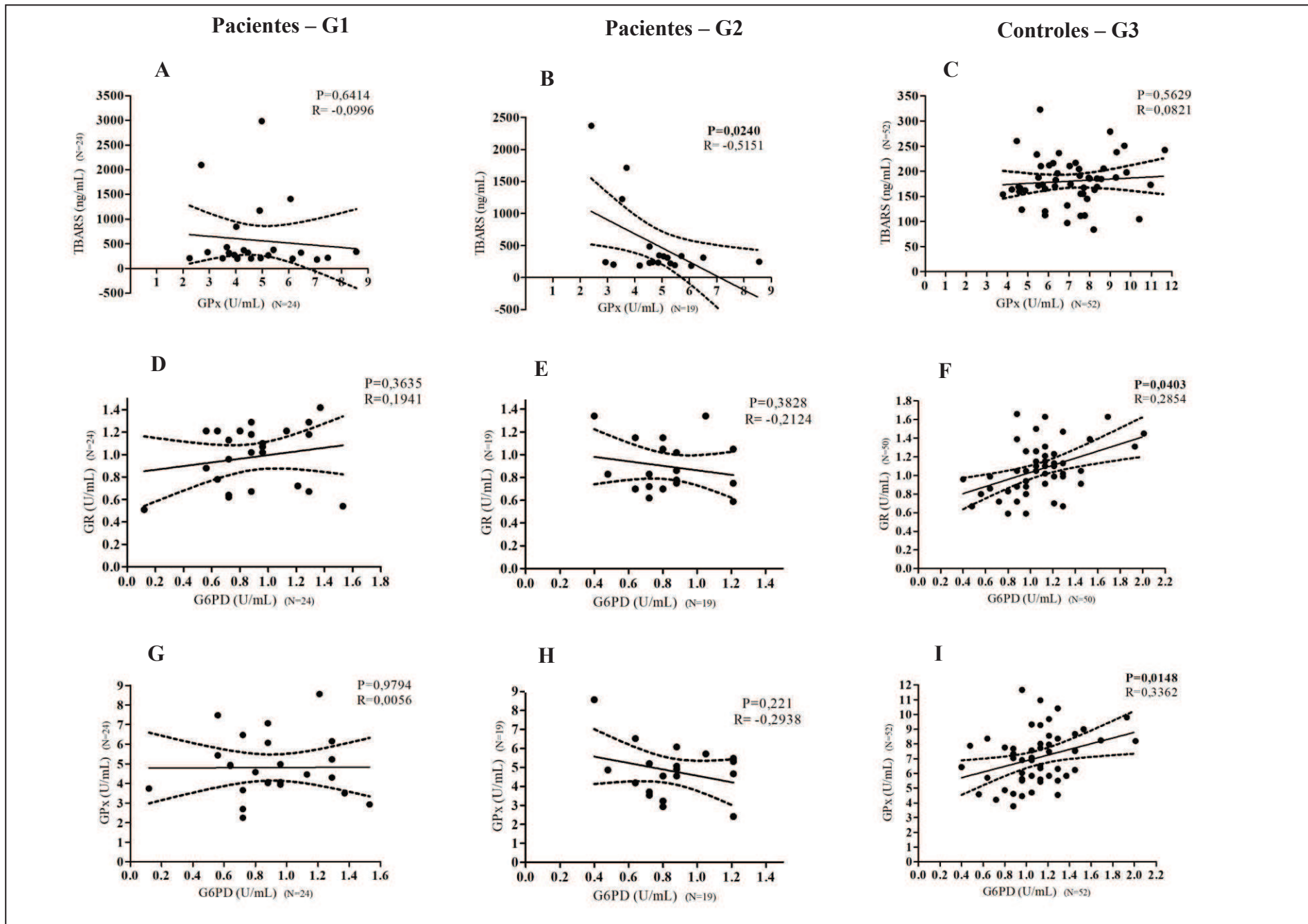


Figura 2. Correlação entre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com epilepsia do lobo temporal por esclerose mesial temporal com ou sem transtorno psiquiátrico e indivíduos sem a doença (grupo controle). TBARS=substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; GPx=glutaciona peroxidase; GR=glutaciona redutase; G6PD=glicose-6-fosfato desidrogenase. R=índice de correlação; P=nível de significância.

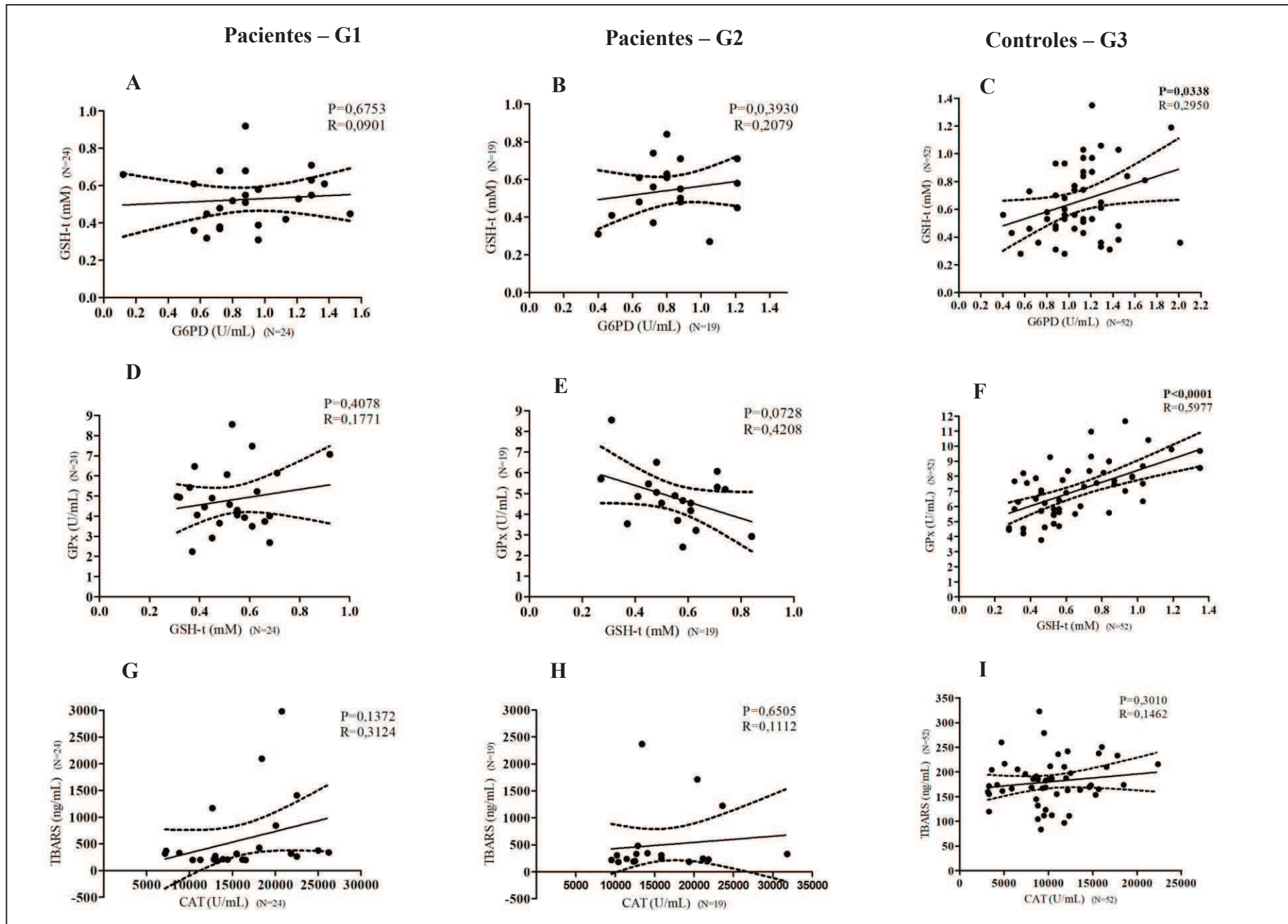
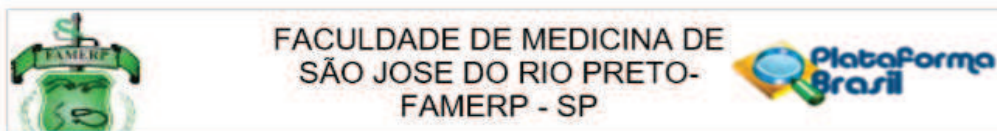


Figura 3. Correlação entre marcadores de estresse oxidativo em pacientes com epilepsia do lobo temporal por esclerose mesial temporal com ou sem transtorno psiquiátrico e indivíduos sem a doença (grupo controle). GSH-t=glutaciona reduzida somada à glutaciona oxidada; G6PD=glucose-6-fosfato desidrogenase; GPx=glutaciona peroxidase; TBARS=substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; CAT=catalase. R=índice de correlação; P=nível de significância.

Anexos

ANEXO I – Aceite do Comitê de Ética em Pesquisa da FAMERP



Continuação do Parecer: 1.713.966

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da FAMERP a inclusão do grupo de participante, Questionário Clínico-Demográfico e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido conforme encaminhamento datado em 01/09/2016, referente ao estudo CAAE: 30797214.0.0000.5415 sob a responsabilidade de Gerardo Maria de Araújo Filho com o título: "Caracterização clínica, psiquiátrica, genética e bioquímica de pacientes com epilepsia do lobo temporal"

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_785613 ET.pdf	01/09/2016 14:42:25		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Emenda_CEP_PRONTO.doc	01/09/2016 14:37:04	GERARDO MARIA DE ARAUJO FILHO	Aceito
Outros	Questionario.docx	01/09/2016 14:34:34	GERARDO MARIA DE ARAUJO FILHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	01/09/2016 14:27:21	GERARDO MARIA DE ARAUJO FILHO	Aceito
Outros	Folha de declaração CEP_29.07.14.jpg	29/07/2014 09:21:25		Aceito
Folha de Rosto	folha de rosto 001.jpg	30/04/2014 13:04:53		Aceito

Situação do

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO JOSE DO RIO PRETO, 09 de Setembro de 2016

Assinado por:

Beatriz Barco Tavares Jontaz Irigoyen
(Coordenador)

Endereço: BRIGADEIRO FARIA LIMA, 5416

Bairro: VILA SAO PEDRO CEP: 15.090-000

UF: SP Município: SAO JOSE DO RIO PRETO

Telefone: (17)3201-5813 Fax: (17)3201-5813 E-mail: cepfamerp@famerp.br

Anexo II - Termo de Consentimento Livre e Pós-Esclarecido

1) Dados de identificação do paciente

Nome/Iniciais _____
 Sexo: _____ Data de Nascimento: _____
 Estado Civil _____
 Prontuário _____
 Procedência _____
 CEP: _____ Telefone: _____
 Escolaridade _____
 Profissão _____

2) Dados sobre a pesquisa científica:

Título do projeto: Investigação de Metabólitos e Marcadores de Estresse Oxidativo em Epilepsia do Lobo Temporal por Esclerose Mesial Temporal.

Pesquisador: Prof. Dr. Gerardo Maria de Araújo Filho

Instituição: Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Endereço: Avenida Brigadeiro Faria Lima, 5416

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa intitulada “ Investigação de Metabólitos e Marcadores de Estresse Oxidativo em Epilepsia do Lobo Temporal por Esclerose Mesial Temporal”, que faz parte de um projeto mais amplo intitulado “Caracterização clínica, psiquiátrica, genética e bioquímica de pacientes com epilepsia do lobo temporal”. Esta pesquisa inclui pacientes com diagnóstico de epilepsia com dificuldade em responder ao tratamento com remédios ou não, tendo ou não transtornos psiquiátricos, assim como indivíduos sem essa doença, que constituirá o grupo controle. É importante para verificar se existem substâncias alteradas no organismo, relacionadas com a doença. Sua participação consiste na autorização para análise das imagens do seu exame de ressonância magnética e a doação de uma pequena amostra de sangue para fazer exames de laboratório. Essa amostra de sangue será utilizada e guardada caso seja necessário repetir a análise ou complementar a pesquisa e, depois devidamente descartada. Os riscos são mínimos e conhecidos, como discreta dor de picada de agulha e, às vezes, uma mancha arroxeadada no local da punção, que desaparece em poucos dias. No caso de anormalidades nos exames você será comunicado e orientado para tratamento, se necessário. Queremos deixar claro que o seu nome nunca será divulgado, nem a origem das informações que você fornecer. Este trabalho é coordenado pelo Prof. Dr. Gerardo Maria de Araújo Filho, que está à sua disposição para tirar qualquer dúvida a respeito do trabalho também pelo telefone (17) 3201-5864, na Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP. Você não terá nenhuma despesa com a pesquisa. Caso você não aceite ou desista de participar deste trabalho, isto não influenciará em hipótese alguma no seu atendimento e tratamento. Se você tiver alguma dúvida sobre esse acordo ou sobre seus direitos, você poderá ainda entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, pelo telefone (17) 3201-5813.

Data:/...../.....

 Pesquisador Responsável

 Assinatura do paciente ou responsável

Anexo III – Questionário Sócio-Demográfico e Clínico

() Caso Respondedor () Refratário () Controle () Amostra: _____

1. Identificação

Nome/Iniciais _____
 Sexo: _____ Data de Nascimento: _____
 Estado Civil _____ Prontuário _____
 Endereço _____
 CEP: _____ Telefone: _____
 Escolaridade _____
 Profissão _____

2. Histórico Médico e Hábitos de Vida

Apresenta outras comorbidades:

I.() Hipertensão II.() Diabetes III.() Colesterol IV.() Depressão V() Doença neurológica (epilepsia, transtornos psiquiátricos) VI () Uso de agrotóxicos

Qual? _____

Outras doenças/obs.: _____

Toma medicação para as comorbidades () Sim () Não

Tabagismo () Sim () Não Etilismo () Sim () Não

Uso de bebida alcoólica Sim () Não () - Frequência 1x/Semana () 2X () mais ()

Atividade Física (3X/semana) () Sim () Não

Está de jejum? _____ Qual a última refeição? _____

Qual alimento consome com maior frequência? _____

Data que iniciou o uso da medicação (para as comorbidades): _____

Data que parou o uso da medicação (para as comorbidades): _____

Data em que recebeu o diagnóstico da epilepsia: _____

Qual o número de convulsões quando recebeu o diagnóstico de epilepsia: _____

Quantas convulsões apresenta atualmente: _____

Data da última convulsão _____

Procedimento cirúrgico (epilepsia): () Sim () Não Ano: _____

Medicação para epilepsia _____

Data de início ____/____/____ Data de término ____/____/____

3. História Familiar

Apresenta familiar em 1º grau (pais, filhos) com ELT-EMT? _____

Outros tipos de doenças neurológicas _____

 Pesquisador responsável

...../...../.....