



Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

Álefe Brito Monteiro

O álcool cinâmico reduz a excitotoxicidade, o estresse oxidativo e a neuroinflamação em camundongos submetidos a modelos de crises epilépticas induzidas por pentilenotetrazol

João Pessoa - PB

2021

Álefe Brito Monteiro

O álcool cinâmico reduz a excitotoxicidade, o estresse oxidativo e a neuroinflamação em camundongos submetidos a modelos de crises epilépticas induzidas por pentilenotetrazol

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Área de concentração: Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida

Coorientador: Prof. Dr. Cícero Francisco B. Felipe

João Pessoa - PB

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M775á Monteiro, Álefe Brito.

O álcool cinâmico reduz a excitotoxicidade, o estresse oxidativo e a neuroinflamação em camundongos submetidos a modelos de crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol / Álefe Brito Monteiro. - João Pessoa, 2021.

162 f. : il.

Orientação: Reinaldo Nóbrega de Almeida.

Coorientação: Cícero Francisco Bezerra Felipe.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Óleos essenciais. 2. Cinnamomum. 3. Fenilpropanoides. 4. Derivado cinâmico. 5. Neuroproteção. 6. Antioxidante. 7.

Antineuroinflamatório. I. Almeida, Reinaldo Nóbrega de. II. Felipe, Cícero Francisco Bezerra. III. Título.

UFPB/BC

CDU 47.913(043)

Álefe Brito Monteiro

O álcool cinâmico reduz a excitotoxicidade, o estresse oxidativo e a neuroinflamação em camundongos submetidos a modelos de crises epilépticas induzidas por pentilenotetrazol

Aprovado em: 14/04/2021.

Banca Examinadora



Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida (Orientador/Presidente)
PPgPNSB/UFPB



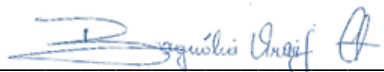
Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe (Coorientador)
PPgNeC/UFPB



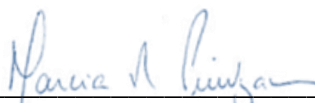
Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa (Examinadora externa)
PPgF/UFC



Profa. Dra. Temilce Simões de Assis Cantalice (Examinadora externa)
PPgDITM/UFPB



Profa. Dra. Bagnólia Araújo Costa (Examinadora interna)
PPgPNSB/UFPB



Profa. Dra. Marcia Regina Piuvezam (Examinadora interna)
PPgPNSB/UFPB

João Pessoa - PB

2021

“É somente através da gratidão que a vida se torna rica.”

Dietrich Bonhoeffer (1906–1945)

Pastor Luterano

“Falar da gratidão é amável e aprazível, praticar a gratidão é generoso e nobre, mas viver a gratidão é tocar o Céu.”

Johannes A. Gaertner (1912–1996)

Professor, Teólogo e Poeta

Dedico com amor à minha família.

Agradecimentos

Ao **Universo** que me criou e me guia por caminhos que me permitem prosperar.

À minha **família e amigos** pelo amor e apoio incondicional.

Ao meu orientador e modelo **Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida** pela absoluta participação no desenvolvimento deste trabalho e aos seus gentis ensinamentos que levarei durante a minha vida profissional e pessoal. Um exemplo de professor que reúne qualidades que são singelamente doadas, entre elas o compromisso, a ética, o respeito, a sabedoria e a humildade. Terei sempre o privilégio e a honra de dizer que fui seu orientando. Gratidão pela confiança.

Ao meu coorientador e mentor **Prof. Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe** pela gentil, solícita e valiosa dedicação na construção e desenvolvimento deste trabalho, mas principalmente pela confiança e oportunidade que me destes para vir a João Pessoa realizar este sonho. Um modelo de professor que tenho o privilégio de ser discípulo e a honra de chamar de amigo. Eterna gratidão.

Aos amigos do Laboratório de Psicofarmacologia da UFPB, em especial a **Érika da Cruz Guedes e Humberto Hugo Nunes de Andrade** pela amizade, apoio e companheirismo durante essa jornada.

Aos alunos de iniciação científica do Laboratório de Farmacologia e Bioquímica Experimental da UFPB, em especial **Anne Caroline Ribeiro Portela e Hugo Fernandes Oliveira Pires** pelo apoio, compromisso e dedicação no desenvolvimento desta pesquisa.

Aos colaboradores **Profa. Dra. Adriana M. Fernandes de Oliveira Golzio, Prof. Dr. Adriano Francisco Alves e Maria Janice P. Lopes** pela amizade, apoio e valiosa contribuição através de análises que agregaram extremo valor a esta pesquisa.

Aos membros da banca examinadora, a quem tive a honra de conhecer, conviver e aprender: **Profa. Dra. Francisca Cléa F. de Sousa** uma referência da Neuropsicofarmacologia, pela gentil disponibilidade e contribuições importantes para

a versão final desta tese. **Profa. Dra. Bagnólia A. Costa, Profa. Dra. Temilce S. de Assis Cantalice** e **Profa. Dra. Marcia R. Piuvezam** a quem tenho imensa admiração e respeito, pela gentil disponibilidade e valiosas contribuições. **Prof. Dr. Lucindo J. Quintans Júnior** e **Prof. Dr. Ricardo D. de Castro** pela disponibilidade e colaboração.

À minha querida amiga e orientadora do mestrado **Profa. Dra. Marta Regina Kerntopf**, a primeira a acreditar no meu potencial, que aceitou o desafio de me lapidar e gentilmente me ofereceu caminhos para prosperar. A senhora mudou a minha vida. Essa conquista eu a devo imensamente. Eterna gratidão.

Ao **Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa** do Laboratório de Química Farmacêutica da UFPB por ceder o composto objeto de estudo desta tese.

À minha grande amiga de jornada **Thamara Rodrigues de Melo** pela amizade e positividade que tornaram essa caminhada mais leve.

Aos demais professores e colegas do doutorado do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB).

Às secretárias do PPgPNSB **Caroline Medeiros Mangueira** e **Nilmar Níncia Neves de Medeiros** por todo o suporte administrativo.

Ao amigo **Sr. Josué** pelo apoio durante a rotina do laboratório e aos funcionários da Unidade de Produção Animal do IPeFarM, em particular a **José Crispim Duarte** e a **Roberta Nunes Parentoni** pelo apoio técnico.

Aos animais utilizados nesta pesquisa. Meu respeito.

À Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA (Brasil) pela doação de drogas utilizadas nesta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – nº 141581/2017-4) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal da Paraíba pelo apoio institucional.

Gratidão!

O álcool cinâmico reduz a excitotoxicidade, o estresse oxidativo e a neuroinflamação em camundongos submetidos a modelos de crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol.

(Tese – PPgPNSB/CCS/UFPB, 2021)

Monteiro, Á. B.

RESUMO

Álcool cinâmico (AC) é um fenilpropanoide encontrado no óleo essencial das cascas de espécies do gênero *Cinnamomum* spp. Schaeff. (Lauraceae Juss.), popularmente conhecidas como canela. O objetivo principal foi avaliar o efeito antiepilético e neuroprotetor do AC e seus possíveis mecanismos de ação em camundongos submetidos a modelos de crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ). Camundongos machos Swiss foram pré-tratados com AC (0,3 - 25 mg/kg, i.p.) e, 60 minutos após, cada animal recebeu o PTZ (80 mg/kg ou 30 mg/kg, i.p.) para indução dos modelos agudo e de abrasamento químico, respectivamente. No modelo agudo, os parâmetros comportamentais analisados foram: latência para primeira crise epilética tônico-clônica generalizada (LC), intensidade da primeira crise (IC) e latência para a morte (LM). Por sua vez, no modelo de abrasamento químico foi registrado a latência para a primeira crise epilética tônico-clônica bilateral focal (LCF), durante 21 dias. Para investigar o mecanismo de ação do AC foram realizados testes de antagonismo por flumazenil (antagonista benzodiazepínico), análises neuroquímicas (malondialdeído - MDA, nitrito e glutathiona reduzida - GSH) e histomorfométricas em amostras de hipocampo de camundongos submetidos ao modelo agudo. O tratamento com o AC aumentou a LC (até 81,7%) e a LM (82,7%), mas sem alterar a IC em relação ao grupo veículo. O pré-tratamento com flumazenil reverteu parcialmente os efeitos do AC frente à LC (76,0%) e a LM (86,4%). As análises neuroquímicas indicaram que o AC reduziu a concentração de MDA (34,8%) e nitrito (46,3%) e aumentou a concentração de GSH (50,5%). As análises histomorfométricas mostraram uma redução da inflamação e aumento da preservação neuronal (22,7%) no hipocampo dos camundongos pré-tratados com o AC e submetidos ao modelo agudo. Os resultados do modelo de abrasamento químico, também, mostraram significativa proteção registrada pelo aumento da LCF (33,9 - 47,3%) em relação ao grupo veículo. Portanto, os possíveis mecanismos envolvidos na atividade antiepilética e neuroprotetora do AC envolvem, pelo menos em parte, a interação com o receptor GABA_A e diminuição da excitotoxicidade, redução do estresse oxidativo e do processo neuroinflamatório. Os achados desse trabalho indicam que o AC é um composto dotado de efeitos farmacológicos sobre o sistema nervoso central, com potencial efeito neuroprotetor frente a doenças neurodegenerativas, como as epilepsias.

Palavras-chave: Óleos essenciais. *Cinnamomum*. Fenilpropanoídes. Derivado cinâmico. Neuroproteção. Antioxidante. Antineuroinflamatório.

Cinnamic alcohol reduces excitotoxicity, oxidative stress and neuroinflammation in mice submitted to a pentylenetetrazole induced epileptic seizure models.

(Thesis – PPgPNSB/CCS/UFPB, 2021)

Monteiro, Á. B.

ABSTRACT

Cinnamic alcohol (CA) is a phenylpropanoid found in the essential oil of the bark of species of the genus *Cinnamomum* spp. Schaeff. (Lauraceae Juss.), popularly known as cinnamon. The aim was to evaluate the antiepileptic and neuroprotective effect of CA and its possible mechanisms of action in mice submitted to a pentylenetetrazole (PTZ) induced epileptic seizure models. Swiss male mice were pre-treated with CA (0.3 - 25 mg/kg, ip) and, 60 minutes later, each animal received PTZ (80 mg/kg or 30 mg/kg, ip) to induce acute and chemical kindling models, respectively. In the acute model, the behavioral parameters analyzed were: latency for the first generalized tonic-clonic epileptic seizure (LC), intensity of the first seizure (IC) and latency for death (LM). In turn, in the chemical kindling model, the latency for the first focal bilateral tonic-clonic epileptic seizure (LCF) was recorded for 21 days. Flumazenil antagonism test, neurochemical (malondialdehyde - MDA, nitrite and reduced glutathione - GSH) and histomorphometric tests were performed to investigate the CA mechanism of action in samples of the hippocampus of mice submitted to the acute model. Treatment with CA increased the LC (up to 81.7%) and the LM (82.7%), but without changing the IC in relation to the vehicle group. Pretreatment with flumazenil partially reversed the effects of CA compared to LC (76.0%) and LM (86.4%). The neurochemical analyzes indicated that the CA reduced the concentration of TBARS (34.8%) and nitrite (46.3%) and increased the concentration of GSH (50.5%). Histomorphometric analyzes showed a reduction in inflammation and an increase in neuronal preservation (22.7%) in the hippocampus of mice pretreated with CA and submitted to the acute model. The results of the chemical kindling model, also, showed significant protection registered by the increase in LCF (33.9 - 47.3%) in relation to the vehicle group. Therefore, the possible mechanisms involved in the antiepileptic and neuroprotective activity of CA involve, at least in part, the interaction with the GABA_A receptor and decreased excitotoxicity, reduction oxidative stress and the neuroinflammatory process. The findings of this study indicate that CA is a compound with pharmacological effects on the central nervous system, with a potential neuroprotective effect against neurodegenerative diseases, such as epilepsy.

Keywords: Essencial oils. *Cinnamomum*. Phenylpropanoids. Cinnamic derivative. Neuroprotection. Antioxidant. Anti-neuroinflammatory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismos de excitotoxicidade, estresse oxidativo e neuroinflamação durante crises epiléticas.....	28
Figura 2 - Interconversão da glutatona nas formas reduzida e oxidada.	34
Figura 3 - Células da glia (gliócitos).	39
Figura 4 - Mecanismo de ação do PTZ.	59
Figura 5 - <i>Cinnamomum cassia</i> Nees ex Blume (Canela-chinesa ou Cássia).....	66
Figura 6 - Álcool cinâmico.	67
Figura 7 - Rota biossintética e metabólica do álcool cinâmico (simplificada).	68
Figura 8 - Síntese dos protocolos experimentais.....	74
Figura 9 - Desenho experimental do modelo agudo.....	75
Figura 10 - Desenho experimental do teste de antagonismo por flumazenil.	76
Figura 11 - Desenho experimental das análises neuroquímicas.	77
Figura 12 - Desenho experimental das análises histomorfométricas.	79
Figura 13 - Desenho experimental do modelo de abrasamento químico.	80
Figura 14 - Cortes histológicos do hipocampo corado em hematoxilina e eosina. ...	91
Figura 15 - Proposta de mecanismo da ação antiepilética e neuroprotetora do AC em neurônios hipocampais de camundongos submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas por PTZ.	102

LISTA DE GRÁFICOS

Gráficos 1 - Efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (A), intensidade da 1ª crise epiléptica (B) e latência para a morte (C) (n=8).....	83
Gráfico 2 - Curva dose-resposta do AC sobre a latência para a morte (n=8)	85
Gráficos 3 - Efeito do AC, na presença flumazenil, sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (A), intensidade da 1ª crise epiléptica (B) e a latência para a morte (C) (n=8)	86
Gráfico 4 - Efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de MDA em homogenato de hipocampo de camundongos (n=8)	88
Gráfico 5 - Efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de nitrito em homogenato de hipocampo de camundongos (n=8)	89
Gráfico 6 - Efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{g/g}$) de GSH em homogenato de hipocampo de camundongos (n=8).....	90
Gráfico 7 - Grau de preservação de neurônios hipocampais	92
Gráfico 8 - Efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica bilateral focal (n=8), durante 21 dias	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (LC), intensidade da 1ª crise epiléptica (IC) e latência para a morte (LM)	84
Tabela 2 - Porcentagem dos camundongos que sobreviveram após 72h	84
Tabela 3 - Coluna estatística do efeito do AC, na presença flumazenil, sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (LC), intensidade da 1ª crise epiléptica (IC) e latência para a morte (LM)	87
Tabela 4 - Porcentagem dos camundongos que sobreviveram após 72h	87
Tabela 5 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de MDA	88
Tabela 6 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de nitrito	89
Tabela 7 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{g/g}$) de GSH	90
Tabela 8 - Coluna estatística do grau de preservação de neurônios hipocampais ($\text{área}/\mu\text{m}^2$).....	92
Tabela 9 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica bilateral focal, durante 21 dias	93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação dos tipos de crises epiléticas e epilepsias de acordo com a Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE).....	25
Quadro 2 - Classificação das DAEs e mecanismo de ação	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BDNF:	Fator neurotrófico derivado do cérebro.
BHE:	Barreira hematoencefálica.
CREB:	Proteína de ligação ao elemento de resposta à adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc).
DAEs:	Drogas antiepilépticas.
DL₅₀:	Dose letal média (dose de uma substância necessária para matar 50% de uma população em teste).
EDTA:	Ácido etilenodiamino tetra-acético.
ERK:	Cinases reguladas por estímulos extracelulares.
GABA:	Ácido γ -aminobutírico.
GABA_A:	Receptor ionotrópico do GABA subtipo A.
GPCRs:	Receptores acoplados à proteína G.
GSH:	Glutationa reduzida.
GSH-Px:	Glutationa peroxidase.
i.p.:	Via intraperitoneal.
ICAM-1:	Molécula de adesão intercelular-1.
iNOS:	Óxido nítrico sintase induzida.
MAPK:	Proteínas cinases ativadas por mitógenos.
MDA:	Malondialdeído.
MPO:	Mieloperoxidase.
NFKB:	Fator nuclear KB.
NMDA:	N-metil D-aspartato.
NO:	Óxido nítrico.
NT-3:	Neurotrofina 3.
NTRK2:	Gene do receptor neurotrófico tirosina cinase 2.
p21^{rac}:	Pequena proteína G proto-oncogene (<i>small G</i>).
PGE₂:	Prostaglandina E ₂ .
PKA:	Proteína cinase A.
PKC:	Proteína cinase C.
RNS:	Espécies reativas de nitrogênio.
ROS:	Espécies reativas de oxigênio.

- SOD:** Superóxido dismutase.
- SPK:** Proteínas cinases da família Src.
- TBARS:** Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.
- TK:** Tirocinas cinases.
- TNF α :** Fator de necrose tumoral alfa.
- VCAM-1:** Molécula de adesão de células vasculares-1.

Observação: as abreviaturas utilizadas neste trabalho e que não constam nesta lista encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
2.1. Epilepsias e crises epiléticas	23
2.1.1. Tipos de crises epiléticas.....	24
2.1.2. Tipos de epilepsias	26
2.2. Principais mecanismos moleculares neurotóxicos das crises epiléticas	27
2.2.1. Excitotoxicidade glutamatérgica	29
2.2.2. Estresse oxidativo.....	32
2.2.3. Neuroinflamação.....	37
2.2.3.1. Componentes celulares da neuroinflamação.....	38
2.2.3.2. Componentes moleculares da neuroinflamação.....	41
2.2.3.2.1. Sistema complemento.....	42
2.2.3.2.2. Eicosanóides e cicloxigenases.....	42
2.2.3.2.3. Citocinas	48
2.2.3.2.3.1. Interleucina-1 β (IL-1 β)	50
2.2.4. Participação dos fatores neurotróficos (neurotrofinas).....	52
2.3. Modelos de crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol	54
2.4. Farmacologia dos antiepiléticos	60
2.5. Fenilpropanoides e álcool cinâmico	65
3. OBJETIVOS.....	69
3.1. Objetivo geral.....	71
3.2. Objetivos específicos.....	71
4. MATERIAIS E MÉTODOS	72
4.1. Animais e aspectos éticos	73
4.2. Drogas	73

4.3. Protocolos experimentais	74
4.3.1. Modelo agudo de crises epilépticas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ)	74
4.3.2. Teste de antagonismo por flumazenil.....	75
4.3.3. Análises neuroquímicas	76
4.3.3.1. <i>Quantificação de TBARS</i>	77
4.3.3.2. <i>Quantificação de nitrito</i>	78
4.3.3.3. <i>Quantificação de GSH</i>	78
4.3.4. Análises histomorfométricas	78
4.3.5. Modelo de abrasamento químico induzido por PTZ (<i>kindling</i> químico)	79
4.4. Análise estatística	80
5. RESULTADOS	81
5.1. Crises epilépticas induzidas por PTZ	82
5.2. Curva dose-resposta	84
5.3. Antagonismo por flumazenil	85
5.4. Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS - MDA)	88
5.5. Concentração de nitrito	89
5.6. Concentração de glutatona reduzida (GSH)	90
5.7. Análises histomorfométricas do hipocampo	91
5.8. Abrasamento químico	92
6. DISCUSSÃO	94
7. CONCLUSÕES	104
8. PERSPECTIVAS	105
APÊNDICES	108
REFERÊNCIAS	113
ANEXOS	157



INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As epilepsias são doenças neurodegenerativas caracterizadas, primariamente, por uma predisposição para gerar crises epiléticas recorrentes e espontâneas, associadas a mecanismos moleculares neurotóxicos (TAI *et al.*, 2018; FISHER *et al.*, 2018). Por sua vez, as crises epiléticas são condições transitórias de sinais e/ou sintomas em resposta a uma sincronia neuronal anormal ou a uma atividade cerebral excessiva (FALCO-WALTER; SCHEFFER; FISHER, 2018; FISHER *et al.*, 2005).

Os distúrbios epiléticos afetam cerca de 1% (> 50 milhões) da população mundial (WHO, 2020; ACEVEDO *et al.*, 2019) com consequências negativas sobre os aspectos neurobiológicos, cognitivos, psicológicos e sociais dos indivíduos (FISHER *et al.*, 2014; FISHER *et al.*, 2005). Entre as terapias clínicas disponíveis, o tratamento medicamentoso é o mais comum. As drogas antiepiléticas (DAEs) são usadas profilaticamente, para reduzir a gravidade e o número de crises, sendo dotadas, no entanto, de efeitos adversos, incluindo sedação, náuseas e vômitos, que comprometem a qualidade de vida dos pacientes (YACUBIAN; COTRERAS-CAICEDO; RÍOS-POHL, 2014; PERUCCA; GILLIAM, 2012). Além disso, aproximadamente 30% dos pacientes apresentam epilepsias refratárias à maioria das DAEs e, conseqüentemente, não desenvolvem uma resposta adequada ao tratamento farmacológico (ENGEL, 2016; KWAN *et al.*, 2010).

Portanto, torna-se cada vez mais relevante a busca por compostos com prováveis atividades antiepilética e/ou neuroprotetora, que futuramente possam ser avaliadas clinicamente como possíveis novas DAEs para o controle, eficaz e seguro, das crises epiléticas e redução da neurodegeneração associada às epilepsias. Nesse contexto, os óleos essenciais e seus constituintes químicos têm se mostrado como uma alternativa promissora para o tratamento de diversas doenças do sistema nervoso central (SNC) (GULLUNI *et al.*, 2018; ALI *et al.*, 2015; DOBETSBERGER; BUCHBAUER, 2011; EDRIS, 2007). Em particular, alguns estudos destacam o potencial benefício do uso de fitoconstituíntes de óleos essenciais para o controle clínico das crises epiléticas (AUDITEAU *et al.*, 2019; LEWIS *et al.*, 2018; REDDY; GOLUB, 2016; GOLDSTEIN, 2016; ABDOLLAHI FARD; SHOJAI, 2013; SPINELLA; 2001).

O álcool cinâmico (AC), ou álcool cinamílico, é um fenilpropanoide encontrado no óleo essencial das cascas de espécies do gênero *Cinnamomum* spp. Schaeff. (Lauraceae Juss.), tais como *Cinnamomum verum* J.Presl (Canela-verdadeira ou Canela real do Ceilão) e *C. cassia* Nees ex Blume (Canela-chinesa ou Cássia) (RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2017; ANDRADE *et al.*, 2012; ARCHER, 1988; KOKETSU *et al.*, 1997; GROSS; BOLKART; ZENK, 1968). Estudos farmacológicos não clínicos reportaram importantes atividades do AC sobre o SNC, tais como efeitos ansiolítico-símile e antinociceptivo (DE ANDRADE *et al.*, 2020), sedativo e antidepressivo-símile (SAKINA; DANDIYA, 1990), antineuroinflamatório (THEODOSIS-NOBELOS *et al.*, 2015; HO; CHANG; CHANG, 2013; LIAO *et al.*, 2012; LEE, 2009) e neuroprotetor (STAVINOHA; VATTEM, 2015; ESSA *et al.*, 2012). Assim, diante do potencial neurofarmacológico desse composto, a presente tese visou avaliar o efeito antiepilético e neuroprotetor do AC e seus possíveis mecanismos de ação em camundongos submetidos a modelos de crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol.



REFERENCIAL TEÓRICO

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Epilepsias e crises epilépticas

De acordo com registros escritos (~400 a.C.), as epilepsias estão entre as doenças mais antigas reconhecidas na humanidade, as quais durante séculos foram rotuladas como maldições dos Deuses, possessão, magia e bruxaria, mas que ainda hoje são motivos de estigma social para muitos pacientes (GOMES, 2006; MASIA; DEVINSKY, 2000).

As epilepsias são doenças cerebrais crônicas (neurodegenerativas) caracterizadas, primariamente, por uma predisposição para gerar crises epilépticas (ou convulsões – termo em desuso) imprevisíveis, recorrentes e espontâneas. Por sua vez, crises epilépticas são manifestações transitórias de sinais e/ou sintomas em decorrência de uma atividade neuronal anormal e excessiva (FALCO-WALTER; SCHEFFER; FISHER, 2018; FISHER *et al.*, 2014; FISHER *et al.*, 2005). Clinicamente, as crises epilépticas podem variar desde breves lapsos de atenção e espasmos até contrações musculares vigorosas e graves (WHO, 2020).

Os distúrbios epilépticos estão entre as doenças neurológicas crônicas mais comuns. Estima-se que aproximadamente 1% da população mundial (> 50 milhões) possua algum tipo de epilepsia, destes quase 80% vivem em países de baixa e média renda, onde cerca de 140 por 100.000 pessoas são diagnosticadas com epilepsia a cada ano. A taxa de mortalidade global anual estimada varia de 1 a 8 por 100.000 habitantes, enquanto este mesmo índice na América Latina é de 1,1, superior ao dos Estados Unidos e Canadá que é de 0,4 (WHO, 2020; ACEVEDO *et al.*, 2019).

Há poucos estudos sobre a prevalência ou incidência de epilepsias no Brasil. No entanto, de acordo com dados internacionais estima-se que no Brasil haja, aproximadamente, 1,8 milhões de pessoas com epilepsia ativa (estimativa de 1% de prevalência pontual) e 9 milhões de pessoas que já apresentaram crises epilépticas alguma vez ao longo da vida (GALLUCCI NETO; MARCHETTI, 2005). A prevalência em países de baixa e média renda se deve, provavelmente, ao maior risco de infecção por doenças endêmicas, como malária ou neurocisticercose, assim como a uma maior incidência de lesões cerebrais causadas por acidentes no trânsito, lesões relacionadas ao parto e à baixa disponibilidade de programas preventivos de saúde;

esses são alguns dos fatores associados ao desenvolvimento de epilepsias (WHO, 2020; ACEVEDO *et al.*, 2019; DE BOER; MULA; SANDER, 2008).

Nesse contexto, as principais etiologias aceitas envolvem seis categorias: (1) alteração estrutural, em razão de uma lesão cerebral de causas pré-natais, perinatais ou acidentais; (2) fatores genéticos, como canalopatias¹, anomalias congênitas ou condições genéticas com malformações cerebrais associadas; (3) neuroinfecção, como meningite ou neurocisticercose²; (4) distúrbio metabólico, como a deficiência cerebral de folato; (5) doença autoimune, como encefalite límbica; e (6) causas desconhecidas, cuja etiologia permanece incerta. Essas causas não são exclusivas ou hierárquicas, porém são as mais aceitas e podem estar presentes concomitantemente e auxiliar no diagnóstico do tipo de crise e do tipo de epilepsia (FALCO-WALTER; SCHEFFER; FISHER, 2018).

A Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE – *International League Against Epilepsy*) em 2018 propôs uma classificação atualizada dos diferentes tipos de crises epiléticas e epilepsias. Essas novas classificações permitem a inclusão de alguns tipos de crises anteriormente não classificáveis e utilizam uma terminologia mais acessível (FALCO-WALTER; SCHEFFER; FISHER, 2018).

2.1.1. Tipos de crises epiléticas

As crises epiléticas são classificadas a partir do tipo do seu início, podendo ele ser focal, generalizado, desconhecido ou não classificado (Quadro 1).

As crises focais (anteriormente denominadas como parciais) ocorrem quando o início da atividade neuronal anormal e excessiva envolve apenas uma região do cérebro. Crises focais são opcionalmente classificadas naquelas em que não há prejuízo da "consciência" ou naquelas com "consciência prejudicada", mas não perdida. Esses termos substituem os termos anteriores "simples" e "complexo", respectivamente. Após a consideração do nível de consciência, a crise focal será classificada naquela com início "motor" ou "não motor", cada uma dessas com

¹ Canalopatias: doenças adquiridas ou hereditárias resultantes de uma atividade defeituosa de um ou mais canais iônicos após mutações em genes que codificam as subunidades desses canais (DA SILVA; DE SOUZA; DA SILVA, 2014).

² Neurocisticercose: infecção do sistema nervoso central, causada pela forma cística da tênia do porco (*Taenia solium*) (TAKAYANAGUI; LEITE, 2001).

específicas subclassificações. As crises generalizadas secundárias (também conhecidas como parcial com ataques secundários tônico-clônico generalizados) agora são denominadas de “crises tônico-clônicas bilaterais focais”, com o intuito de restringir o termo “generalizado” apenas para as crises com início generalizado.

Por sua vez, as crises generalizadas ocorrem quando os dois hemisférios cerebrais são ativados no início da crise, ou seja, a disseminação da atividade neuronal anormal e excessiva é difusa e bilateral. Diferente das crises focais a consciência é prejudicada na maioria das crises generalizadas. A classificação em “motor” ou “não motor (ausência)” também é usada, cada uma dessas contendo subclassificações.

As crises desconhecidas referem-se àquelas onde o início da atividade neuronal anormal e excessiva é desconhecido, mas podendo manifestar efeitos “motores” ou “não motores”. Por fim, as crises não classificadas permanecem como uma categoria, embora o seu uso possa diminuir devido à presença da categoria “início desconhecido”.

Quadro 1 - Classificação dos tipos de crises epiléticas e epilepsias de acordo com a Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE).

Crises epiléticas			
Início focal Consciência / Consciência prejudicada	Início generalizado	Início desconhecido	Não classificado
Início motor	Início motor	Início motor	
Atônico	Clônico	Espasmos epiléticos	
Automatismos	Espasmos epiléticos	Tônico-clônico	
Clônico	Mioclônico	Início não motor	
Espasmos epiléticos	Mioclônico-atônico	Parada comportamental	
Hipercinético	Mioclônico-tônico-clônico		
Mioclônico	Tônico		
Tônico	Tônico-clônico		
Início não motor	Início não motor		
Autonômico	Atípico		
Cognitivo	Mioclonia palpebral		
Emocional	Mioclônico		
Parada comportamental	Típico		
Sensorial			
Tônico-clônica bilateral focal			
Epilepsias			
Focais	Generalizadas	Combinadas (focal e generalizada)	Desconhecidas

Fonte: adaptado de FISHER *et al.* (2018).

2.1.2. Tipos de epilepsias

Após a classificação do tipo de crise epiléptica, é importante identificar o tipo de epilepsia. Inicialmente, para classificar o tipo de epilepsia o paciente deve enquadrar-se nos critérios de definição de epilepsia descrita por Fisher e colaboradores em 2014: doença cerebral caracterizada por: (1) pelo menos duas crises não provocadas que ocorrem em intervalo maior que 24h; (2) uma crise não provocada e uma probabilidade de novas crises semelhantes ao risco geral de recorrência (pelo menos 60%) após duas crises não provocadas ocorrendo nos próximos 10 anos; ou (3) diagnóstico de uma síndrome epiléptica: síndrome de *Doose*³, síndrome de *West*⁴, síndrome de *Dravet*⁵, síndrome de *Lennox-Gastaut*⁶. Pacientes que não atendem a esses critérios são classificados apenas quanto ao tipo de crise epiléptica (FALCO-WALTER; SCHEFFER; FISHER, 2018; FISHER *et al.*, 2014).

De acordo a ILAE, as epilepsias são classificadas dentro das categorias: focal, generalizada, combinada (generalizada e focal) e desconhecida (Quadro 1). O grupo de epilepsia combinada generalizada e focal foi determinado em função de que existem síndromes epilépticas, como a síndrome de *Dravet* e a síndrome de *Lennox-Gastaut*, nas quais é comum ter crises generalizadas e focais. No entanto, os tipos de epilepsias são uma designação diferente da síndrome epiléptica, e os dois não devem ser confundidos. Síndrome epiléptica é um conjunto de características eletroencefalográficas e clínicas incorporadas ao tipo de crise do paciente, bem como a idade de início e remissão, fatores gatilhos de crises, variação ao longo do dia e prognóstico, que podem estar associados à comorbidades específicas, intelectuais e psiquiátricas. Porém, embora bem reconhecidas, ainda

³ Síndrome de *Doose*: síndrome familiar rara que se manifesta por crises epilépticas mioclônicas generalizadas.

⁴ Síndrome de *West*: encefalopatia epiléptica que surge na lactância caracterizada por espasmos infantis.

⁵ Síndrome de *Dravet*: epilepsia mioclônica grave da infância. É uma encefalopatia progressiva associada a crises de difícil controle.

⁶ Síndrome de *Lennox-Gastaut*: tipo raro de epilepsia da infância, caracterizada primariamente por crises epilépticas frequentes de diversos tipos.

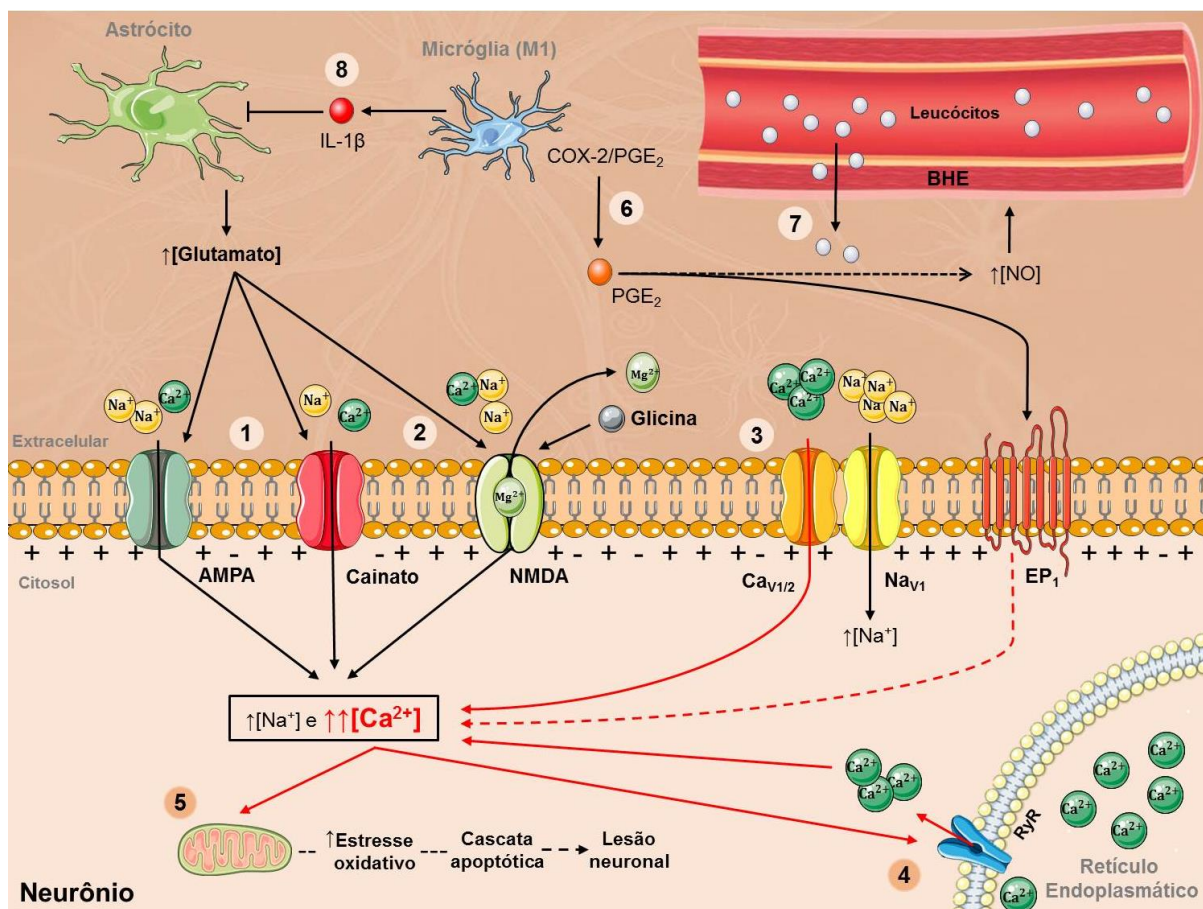
não há uma lista de classificação de síndromes de epilepsia formalmente estabelecida pela ILAE (SCHEFFER *et al.*, 2017; BERG *et al.*, 2010).

2.2. Principais mecanismos moleculares neurotóxicos das crises epiléticas

Pacientes epiléticos tendem a manifestar, em logo prazo, sintomas de degeneração cerebral, como declínio cognitivo e demência (TAI *et al.*, 2018; FISHER *et al.*, 2018). Estudos mostraram que indivíduos com epilepsia do lobo temporal (ELT), não controlada, podem desenvolver neurodegeneração progressiva, em resposta a ciclos recorrentes de excitotoxicidade, estresse oxidativo e neuroinflamação, em razão das recorrentes crises epiléticas, sendo estes fatores altamente indutores de morte neuronal com conseqüente perda do volume da substância cinzenta, resultando principalmente em atrofia cortical e hipocampal (TAI *et al.*, 2018; THOMPSON *et al.*, 2015; BLACK *et al.*, 2010; BELL *et al.*, 2011; HELMSTAEDTER; ELGER, 2009).

A seguir são descritos os três principais mecanismos moleculares que são gerados durante crises epiléticas e que também contribuem na manutenção e agravamento das crises, bem como no desenvolvimento de processos de morte neuronal (Figura 1). Apesar de serem apresentados individualmente, é importante enfatizar que esses mecanismos agem de forma concomitante e influenciam na geração um do outro através de ciclos de *feedback* positivo.

Figura 1 - Mecanismos de excitotoxicidade, estresse oxidativo e neuroinflamação durante crises epilépticas.



Setas preenchidas indicam ativação direta. Setas tracejadas indicam ativação indireta. Setas vermelhas estão associadas ao aumento da concentração de Ca^{2+} citosólico. A pré-despolarização desencadeada pela ativação dos receptores AMPA e Cainato pelo glutamato (1) irá contribuir para a plena ativação dos receptores NMDA (2), esses receptores catiônicos promoverão o aumento do influxo de íons Na^+ e Ca^{2+} e subsequente despolarização das membranas neuronais que ativará canais de Na^+ e Ca^{2+} dependentes de voltagem (3) promovendo um influxo maior desses íons. Por sua vez, a alta concentração de Ca^{2+} citosólico ativará os receptores de rianodina (RyR), presentes no retículo endoplasmático, e promoverá a liberação de mais Ca^{2+} (4). A alta concentração de Ca^{2+} citosólico irá contribuir para desencadear o aumento do estresse oxidativo e ativação da cascata apoptótica na mitocôndria, que resultarão em lesão intracelular e peroxidação lipídica da membrana, causando morte neuronal aguda (5). A morte neuronal irá promover o desenvolvimento de um processo neuroinflamatório pela ativação da micróglia em seu perfil M1. A micróglia M1 ativada irá promover o aumento na expressão e liberação de mediadores pró-inflamatórios, tais como NO, via COX-2/PGE₂ e a interleucina-1 β (IL-1 β). A ativação da via COX-2/PGE₂ (6) irá facilitar as crises epilépticas, através da ativação dos receptores GPCRs EP₁ que irão modular positivamente e indiretamente o aumento da concentração de Ca^{2+} citosólico que, por sua vez, irá favorecer o aumento do estresse oxidativo e a neurotransmissão pré-sináptica excitatória pelo aumento da exocitose de glutamato. A PGE₂, também, irá favorecer indiretamente a expressão de NO que mediará reações vasculares,

como a dilatação e o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) permitindo a migração de células inflamatórias periféricas (leucócitos granulócitos e agranulócitos) para o parênquima cerebral, potencializando a inflamação cerebral (7). Concomitantemente, a alta expressão de IL-1 β pela micróglia M1 irá mediar diretamente a perda dos transportadores de glutamato astroglial (8). Os transportadores de aminoácidos excitatórios presente nos astrócitos têm papel importante na recaptura de glutamato da fenda sináptica, portanto o bloqueio desses transportadores irão aumentar as concentrações de glutamato livre e assim contribuir para manter o ciclo excitotóxico. Imagem: Hugo Fernandes Oliveira Pires e Álefe Brito Monteiro, 2021.

2.2.1. Excitotoxicidade glutamatérgica

O glutamato é o aminoácido excitatório mais abundante no sistema nervoso central (SNC). Fisiologicamente, esse neurotransmissor atua na plasticidade sináptica, modulando o desenvolvimento neural, aprendizado, memória e a sensação da dor (VALLI; SOBRINHO, 2014; TRAYNELIS *et al.*, 2010).

A excitotoxicidade é um processo em que o glutamato excessivo induz mecanismos citotóxicos que causam disfunção e degeneração neuronal. É bem aceito que as implicações da atividade excessiva do glutamato são muitas, desde insultos neurodegenerativos agudos, como crises epiléticas, isquemia e lesão cerebral traumática, a distúrbios neurodegenerativos crônicos, como epilepsias, esclerose lateral amiotrófica, esclerose múltipla, *Parkinson* e *Alzheimer* (VALLI; SOBRINHO, 2014; LAU; TYMIANSKI, 2010). Estudos mostram que o excesso de glutamato extracelular está diretamente relacionado como um fator crucial no desenvolvimento e manutenção das crises epiléticas e morte neuronal em pacientes com epilepsia (COULTER; STEINHÄUSER, 2015; SEIFERT; STEINHÄUSER, 2013; SEIFERT; CARMIGNOTO; STEINHÄUSER, 2010; LAU; TYMIANSKI, 2010; DINGLEDINE; MCBAIN; MCNAMARA, 1990). Esse fato é bem ilustrado em modelos animais de epilepsia onde o aumento da atividade glutamatérgica é um importante mecanismo desencadeador de crises epiléticas (MORIMOTO, 1989).

O glutamato é sintetizado a partir da glutamina por ação da enzima glutaminase. Na membrana pós-sináptica o glutamato promove suas ações através de interações com receptores metabotrópicos (mGluRs) e ionotrópicos (iGluRs). Em particular, quando o glutamato se liga aos domínios extracelulares de subunidades de iGluRs, as proteínas que formam o canal sofrem alterações de conformação que

permitem o fluxo de cátions (Na^+ , Ca^{2+} e K^+) através da membrana plasmática, a favor do seu gradiente eletroquímico, o que geralmente leva a despolarização da célula pós-sináptica. Existem três subtipos principais de canais iônicos regulados pelo glutamato que são classificados de acordo com a sua ativação pelos agonistas seletivos AMPA (ácido propiônico α -amino-3-hidroxi-5-metilsoxazol-4), cainato e NMDA (N-metil D-Aspartato). Fisiologicamente, os receptores AMPA e cainato estão relacionados à transmissão sináptica rápida no SNC e são caracterizados pelas expressivas cinéticas de ativação e desativação mediadas pelo influxo majoritário de íons Na^+ e Ca^{2+} e efluxo de K^+ , respectivamente. A pré-despolarização mediada por esses receptores, também, é essencial para a ativação dos receptores NMDA. O receptor NMDA forma um canal iônico cujo poro está constitutivamente bloqueado pelo íon Mg^{2+} . A pré-despolarização mediada pelos receptores AMPA e cainato promove a saída do íon Mg^{2+} do poro e, portanto, sua ativação plena pelos agonistas glutamato, aspartato e NMDA. A ativação dos receptores NMDA pelos agonistas específicos, também são dependentes da ligação do aminoácido glicina que atua como um modulador alostérico. Diferente dos receptores AMPA ou cainato, os receptores NMDA tendem a permanecer abertos por mais tempo e permitem um influxo significativo de íons Ca^{2+} e Na^+ , bem como o efluxo de K^+ , porém a permeabilidade deste receptor pode variar conforme a organização das quatro subunidades proteicas que formam o canal e da sua localização (PAOLETTI; BELLONE; ZHOU, 2013). Portanto, é fato que a ativação do receptor NMDA pode iniciar principalmente cascatas fisiológicas de sinalização intracelular dependentes de Ca^{2+} , como a exocitose de neurotransmissores e proteínas (LAU; TYMIANSKI, 2010). No entanto, em situações específicas, o alto influxo de Ca^{2+} para os neurônios, através deste receptor, pode resultar na ativação de cascatas de eventos bioquímicos citotóxicos, em função do aumento da concentração citosólica de Ca^{2+} , tais como a hiperativação de sistemas enzimáticos (lipases, fosfolipases, endonucleases, sintetases de óxido nítrico e xantina oxidase) que podem desencadear a produção de radicais livres de oxigênio. O estresse oxidativo pode lesionar e causar disfunção de organelas e macromoléculas importantes (proteínas e lipídios) e, diretamente, o DNA, diminuindo a viabilidade de células neuronais (AGUIAR *et al.*, 2012). No entanto, vale ressaltar que a excitotoxicidade não é considerada uma canalopatia. Em vez disso, pode ser uma resposta fisiológica normal a um insulto ao SNC ou resultante da falha de mecanismos que retiram o

glutamato da fenda sináptica e diminuem a sua biodisponibilidade (VALLI; SOBRINHO, 2014).

Há pouca ou nenhuma reação metabólica do glutamato na fenda sináptica, pois não há uma enzima extracelular que o degrade, como ocorre com outros neurotransmissores. Desse modo o glutamato pode continuamente interagir com seus receptores até que seja removido. Os dois principais mecanismos que retiram o glutamato do meio extracelular e regulam sua atividade são: a recaptação por transportadores específicos e a degradação enzimática intracelular (COULTER; STEINHÄUSER, 2015).

Nesse contexto, os transportadores de aminoácidos excitatórios (EAATs) são essenciais para regular a concentração e o tempo de atuação do glutamato na fenda sináptica. Existem cinco tipos de EAATs, que diferem ligeiramente de acordo com a função e localização: transportador de aspartato-glutamato (GLAST ou EAAT1), transportador de glutamato (GLT ou EAAT2) em astrócitos, transportador de aminoácido excitatório 3 (EAAC ou EAAT3), mais amplamente distribuído no cérebro e em regiões não sinápticas, e os transportadores de aminoácidos excitatórios EAAT4 e EAAT5, encontrados nas células de *Purkinje* e neurônios retinianos, respectivamente (BRIDGES; PATEL, 2008; SHIGERI; SEAL; SHIMAMOTO, 2004). A rápida retirada do glutamato da sinapse por seus transportadores é essencial para a neurotransmissão excitatória normal e prevenção contra a toxicidade induzida pelo glutamato (YERNOOL *et al.*, 2004). Estudos mostraram que a baixa atividade dos transportadores de aminoácidos excitatórios, como o EAAT1 e EAAT2, em astrócitos é uma característica comum das epilepsias (TAKAHASHI; FOSTER; LIN, 2015; KONG *et al.*, 2012; SARAC *et al.*, 2009). Um importante fator que reduz a captação de glutamato por astrócitos através de EAATs envolve a ação de citocinas, como a IL-1 β . A IL-1 β pode mediar diretamente a perda do transportador de glutamato astrogliial, aumentando as suas concentrações extracelulares podendo, assim, manter crises epilépticas e facilitar a lesão cerebral por meio de recorrentes ciclos excitotóxicos (BEDNER *et al.*, 2015; PROW; IRANI, 2008; HU *et al.*, 2000).

Como observado, a captação do glutamato é principalmente mediada por transportadores localizados nas membranas astrocíticas. Uma vez absorvido pelos astrócitos, o glutamato deve ser degradado. Parte desse processo de degradação é realizada através da atividade da glutamato desidrogenase, que catalisa a formação do α -cetoglutarato, fornecendo um intermediário no ciclo do ácido tricarbóxico (ciclo

de *Krebs*), permitindo seu uso como combustível metabólico (MALTHANKAR-PHATAK *et al.*, 2006). Uma segunda via enzimática predominante no processo de degradação do glutamato, envolve a glutamina sintetase (GS), localizada predominantemente em astrócitos no cérebro. A GS catalisa a conversão enzimática do glutamato de volta à glutamina. A glutamina é então transportada para os neurônios através de transportadores específicos, onde pode ser reconvertida em glutamato pela enzima mitocondrial glutaminase ativada por fosfato. O ciclo glutamina-glutamato é crítico na síntese do glutamato neuronal para uso como neurotransmissor (TANI *et al.* 2014) e para a sua subsequente descarboxilação para formar o neurotransmissor inibitório, ácido γ -aminobutírico (GABA), por meio do ciclo glutamina-glutamato-GABA principalmente em interneurônios (LIANG; CARLSON; COULTER, 2006; FRICKE; JONES-DAVIS; MATHEWS, 2007). A falha na degradação do glutamato, também, é um mecanismo que leva ao seu acúmulo e aos efeitos deletérios na função e sobrevivência dos neurônios. Estudos claramente mostram a relação da perda da glutamina sintetase no hipocampo epileptogênico humano como possível mecanismo para o aumento do glutamato extracelular e perda de neurônios hipocámpais na epilepsia do lobo temporal mesial (VAN DER HEL *et al.*, 2005; EID *et al.*, 2004).

Portanto, observa-se que a captação de glutamato por astrócitos e a regulação da sua concentração por vias enzimáticas são importantes mecanismos fisiológicos de controle de sua atividade. Logo, condições em que há aumento da atividade glutamatérgica através de falhas nos mecanismos de regulação são consideradas razões relevantes nos processos fisiopatológicos de doenças cerebrais. No entanto, apesar dos avanços em pesquisas sobre os mecanismos de excitotoxicidade, atualmente não existem intervenções farmacológicas diretas capazes de fornecer neuroproteção significativa no cenário clínico de doenças cerebrais sustentadas pela atividade excessiva glutamatérgica (LAU; TYMIANSKI, 2010).

2.2.2. Estresse oxidativo

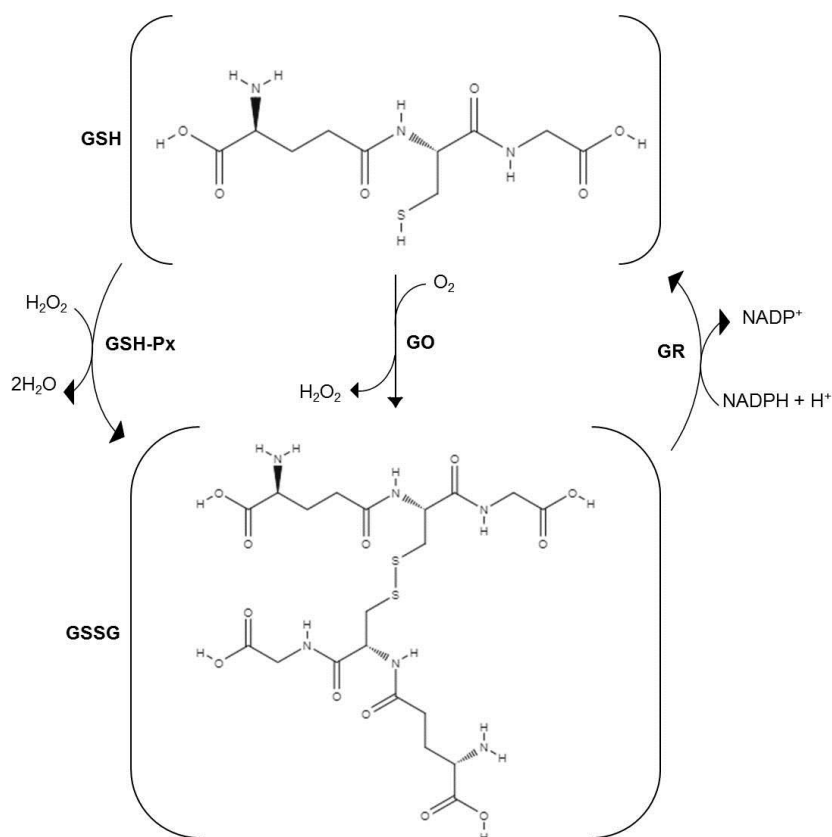
Os efeitos citotóxicos da atividade excessiva do glutamato estão diretamente associados ao aumento do estresse oxidativo, principalmente em razão do aumento da concentração citosólica de íons Ca^{2+} . O estresse oxidativo no cérebro é cada vez

mais reconhecido como uma via comum de morte celular em muitas doenças neurológicas crônicas, como as epilepsias (AGUIAR *et al.*, 2012).

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre os níveis celulares mais elevados de espécies reativas de oxigênio (ROS) (O_2^- , $\cdot OH$, H_2O_2) e nitrogênio (RNS) (NO , NO_3^- , $ONOO^-$) e os sistemas de defesa antioxidante celular. A geração das ROS é ubíqua, são oriundas do oxigênio molecular a partir do metabolismo aeróbico mitocondrial ou do sistema xantina oxidase (XO). Por outro lado, de modo a eliminar ou neutralizar as espécies reativas, existem sistemas antioxidantes endógenos de defesa no cérebro, tais como os sistemas enzimáticos e não enzimáticos. Os sistemas enzimáticos envolvem as enzimas do ciclo redox da glutathiona, particularmente a glutathiona peroxidase (GSH-Px), glutathiona redutase (GR) e glutathiona oxidase (GO). Outros sistemas enzimáticos de defesa antioxidantes incluem a catalase e a superóxido dismutase (SOD) (SHIM; KIM, 2013; ROVER JÚNIOR *et al.*, 2001). A SOD reduz rápida e especificamente o O_2^- ao peróxido de hidrogênio (H_2O_2), por sua vez a catalase e a GSH-Px age na desintoxicação ao reduzir o H_2O_2 em água e oxigênio. Outra enzima que age conjuntamente com a GSH-Px é a enzima GR. Esta enzima não age diretamente na remoção de espécies radicalares, porém é responsável pela regeneração da glutathiona à sua forma reduzida (GSH) na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), tendo como objetivo impedir a paralisação do ciclo metabólico da glutathiona. A glutathiona é um antioxidante tripeptídico tiol (composto por três aminoácidos: glutamato, cisteína e glicina) que existe no organismo em suas formas reduzida (GSH) e oxidada/dissulfeto (GSSG), atuando direta ou indiretamente em muitos processos biológicos importantes, incluindo a síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular (RAE; WILLIAMS, 2017; MEISTER; ANDERSON, 1983). Para que a atividade protetora da glutathiona seja mantida, a GSH precisa ser regenerada através de um ciclo catalítico. A GO e GSH-Px catalisam a oxidação da GSH à GSSG, através da redução de espécies oxidantes (O_2 e H_2O_2), enquanto a GR é responsável pela regeneração da GSH, a partir da GSSG, na presença de NADPH (Figura 2) (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008). A glutathiona têm seus níveis negativamente afetados em situações de alta concentração de Ca^{2+} citosólico e a perda do suporte antioxidante da GSH é um fator que pode tornar as células cerebrais susceptíveis a danos neurotóxicos

associados a doenças neurodegenerativas (ABRAMOV; CANEVARI; DUCHEN, 2003).

Figura 2 - Interconversão da glutatona nas formas reduzida e oxidada.



Glutaciona reduzida (GSH); Glutaciona oxidada (GSSG); Glutaciona peroxidase (GSH-Px); Glutaciona oxidase (GO); Glutaciona redutase (GR). Fonte: Adaptado de ROVER JÚNIOR *et al.* (2001). Estruturas químicas adquiridas do *PubChem Compounds*, 2021.

Por sua vez, a defesa não enzimática é realizada por pequenas moléculas, de origem alimentar, dentre as quais estão as vitaminas E (α -tocoferol) e C (ácido L-ascórbico), bem como os carotenóides, dentre os quais a pró-vitamina A (β -caroteno) é o carotenóide mais abundante e de maior atividade. O β -caroteno exibe uma boa capacidade de captura de radicais livres e é comumente encontrado na maior parte dos tecidos biológicos sob condições fisiológicas (PALIYATH; BAKOVIC; SHETTY, 2011; CARDOSO, 1997).

Os sistemas antioxidante-oxidante estão em equilíbrio em condições normais. No entanto, quando ROS ou RNS não são efetivamente neutralizadas, podem causar lesão celular oxidativa, através da peroxidação dos fosfolipídios de membrana, proteínas (receptores e enzimas) e do DNA, resultando em apoptose

neuronal já que o tecido cerebral não pode ser efetivamente reparado, pois não há replicação celular ativa (POH LOH *et al.*, 2006). O parênquima cerebral é altamente vulnerável às espécies reativas. O cérebro gera grandes níveis de ROS devido ao seu alto metabolismo aeróbio e perfusão sanguínea elevada, ao passo que possui um sistema de defesa antioxidante enzimático relativamente pobre. Além disso, é rico em lipídios (bainha de mielina, por exemplo) (O'BRIEN; SAMPSON, 1965) que são preferencialmente suscetíveis ao dano oxidativo (BIELSKI; ARUDI; SUTHERLAND, 1983).

É sabido que o óxido nítrico (NO) tem papéis diversos em sistemas celulares, agindo como oxidante ou, às vezes, como antioxidante eliminando o ânion superóxido (O_2^-) (COLEMAN, 2001). Nos mamíferos existem três isoformas funcionais da enzima óxido nítrico sintase (NOS): nNOS, eNOS e iNOS (ALDERTON; COOPER; KNOWLES, 2001). A nNOS (NOS I - neuronal) e a eNOS (NOS III - endotelial) foram inicialmente descritas em neurônios e células endoteliais vasculares, respectivamente. Contudo, essa distribuição não é restrita a esses tipos celulares. A nNOS pode ser encontrada na musculatura estriada esquelética, epitélio brônquico e traqueia (KOBZIK *et al.*, 1993), enquanto a eNOS também é descrita em plaquetas e neurônios (NATHAN; XIE, 1994; MURAD, 1999). A nNOS e eNOS têm sua atividade regulada primariamente pelos níveis de cálcio (Ca^{2+}), uma vez que só se ligam à calmodulina na presença de altas concentrações citosólicas desse cátion bivalente. Quando estimuladas, estas isoformas produzem pouca quantidade de NO (concentrações picomolares), durante alguns minutos, o suficiente para que exerça suas funções fisiológicas (ALDERTON, COOPER; KNOWLES, 2001).

Por outro lado, a iNOS (ou NOS II) é tipicamente expressa em resposta a estímulos agressivos, químicos ou biológicos, tais como lipopolissacarídeos (LPS), toxinas bacterianas (MCKAY *et al.*, 1999) e mediadores pró-inflamatórios (NATHAN; XIE, 1994). Embora seja designada induzível esta isoforma pode estar presente de forma constitutiva em alguns tecidos, como nos pulmões (DWEIK *et al.*, 1998). Uma vez ativada, a iNOS produz grandes quantidades de NO por períodos prolongados de tempo (concentrações nano a micromolares por até 5 dias) (MENDES *et al.*, 2002). Ao contrário das isoformas constitutivas, a iNOS encontra-se ligada à calmodulina mesmo em baixas concentrações de Ca^{2+} citosólico, tornando sua atividade independente das flutuações dos níveis de Ca^{2+} , sendo, portanto, considerada uma enzima independente de fatores reguladores (DAVIS *et al.*, 2001).

O NO, um radical livre difusível e de curta duração, é uma espécie reativa de nitrogênio radicalar cujas propriedades físico-químicas e biológicas são determinadas por seu pequeno tamanho (30 Da), ausência de carga e um elétron desapareado (COLEMAN, 2001). O elétron desapareado o torna um radical livre extremamente instável à procura de moléculas que aceitem ou compartilhem este elétron (BILLIAR, 1995). Embora muito importante em funções fisiológicas no sistema nervoso, onde age como um neurotransmissor, a produção desregulada de NO está associada a vários distúrbios neurodegenerativos, como *Parkinson* e *Huntington* (CHRISTOPHERSON; BREDET, 1997), e ao dano neuronal associado à toxicidade do glutamato, por ativar receptores de rianodina tipo 1 aumentando a liberação e a concentração de Ca^{2+} citosólico, um fator desencadeador para a morte celular neuronal induzida por crises epiléticas (MIKAMI *et al.*, 2016; VISHNOI; RAISUDDIN; PARVEZ, 2016; DAWSON *et al.*, 1991).

A micróglia e células neuronais, em situações de estresse, geram NO e ânion superóxido (O_2^-). O O_2^- , uma molécula de oxigênio com um elétron livre, é produzido fisiologicamente durante a respiração celular normal e neutralizada pela superóxido dismutase ao ser convertida em oxigênio e peróxido de hidrogênio. Na excitotoxicidade do glutamato, esse sistema tampão é sobrecarregado, e o O_2^- se difunde para o citoplasma, por meio de vários canais aniônicos, incluindo o canal aniônico dependente de voltagem nas mitocôndrias (HAN *et al.*, 2003). O NO e O_2^- podem, então, se unir para formar o ânion peroxinitrito ($ONOO^-$). O peroxinitrito é um poderoso oxidante capaz de iniciar a peroxidação lipídica, danificando diretamente a membrana plasmática; danificar diretamente o DNA, causando modificação nas bases nitrogenadas; causar disfunção proteica e oxidar antioxidantes lipossolúveis (LAU; TYMIANSKI, 2010; HOGG; KALYANARAMAN, 1999; RADJ *et al.*, 1991). Logo, essas respostas podem potencializar a morte celular apoptótica mediada por caspases (LAU *et al.*, 2006).

Por sua vez, a morte celular induzida pelo aumento do estresse oxidativo pode estimular células imunes residentes no tecido cerebral a desencadear uma resposta neuroinflamatória com o objetivo inicial de resolução e restauração da funcionalidade tecidual, mas que caso permaneça poderá agravar a lesão através de mecanismos de neuroinflamação neurotóxicos (VEZZANI *et al.*, 2011).

2.2.3. Neuroinflamação

A neuroinflamação é um fator importante de defesa, mas que pode colaborar na manutenção da lesão neuronal de diversos distúrbios agudos e crônicos que atingem o SNC. É bem descrito que a expressão de diversos mediadores inflamatórios está aumentada em doenças neurodegenerativas presentes em humanos ou induzidas experimentalmente em modelos não clínicos (LYMAN *et al.*, 2014; ALLAN; ROTHWELL, 2003).

Condições neurodegenerativas agudas (crises epiléticas, isquemia cerebral, lesão cerebral traumática) e crônicas (epilepsias, *Alzheimer*, *Parkinson*, *Huntington*) são caracterizadas por insultos graves ao cérebro, que levam à perda substancial de células nervosas com consequentes déficits funcionais. Como descrito anteriormente, vários processos estão implicados no dano neuronal, incluindo distúrbios na homeostase iônica em função do aumento da atividade do glutamato (excitotoxicidade) e o estresse oxidativo. Adicionalmente, dados substanciais demonstraram o envolvimento direto da inflamação na manutenção dessas doenças. Em particular, análises mostraram a ativação de células imunes residentes e a invasão de células inflamatórias periféricas, bem como o aumento da expressão de fatores de transcrição pró-inflamatórios no tecido cerebral epilético (VEZZANI *et al.*, 2011; ALLAN; ROTHWELL, 2003).

Nos últimos anos têm-se dado uma importância maior ao papel fisiopatológico da neuroinflamação no desenvolvimento das epilepsias. A expressão aumentada de mediadores inflamatórios no cérebro e na barreira hematoencefálica podem afetar a função neuronal e a excitabilidade e, assim, contribuir na suscetibilidade a crises epiléticas (RANA; MUSTO, 2018). Portanto, sabe-se que associada à atividade excitotóxica do glutamato e ao aumento do estresse oxidativo, as crises epiléticas induzem um processo neuroinflamatório altamente neurotóxico e intimamente relacionado ao dano neuronal progressivo (KOŁOSOWSKA *et al.*, 2014; VELASCO-RAMIREZ *et al.*, 2013; LICINIO, 1997).

A morte neuronal pode ser necrótica, onde as células são destruídas por isquemia aguda ou trauma, ou apoptótica, que é a morte celular programada que faz parte da fisiologia saudável, mas que também pode ocorrer na neurodegeneração aguda e crônica. Muitas vias pró-apoptóticas são mediadas por moléculas de sinalização que são produzidas em excesso durante a neuroinflamação, o que

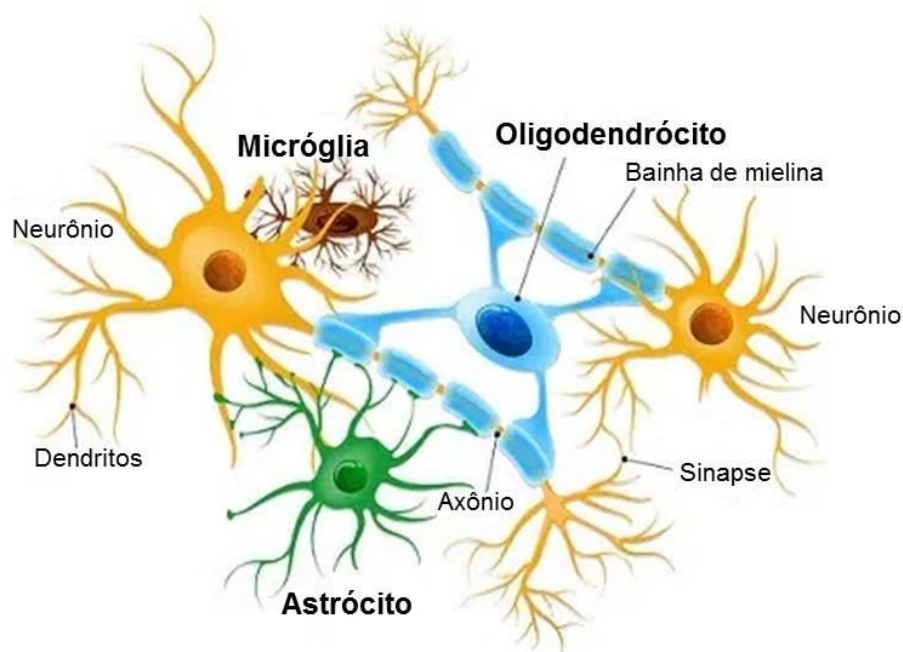
sugere que a neuroinflamação pode influenciar diretamente a apoptose neuronal e, portanto, causar dano neurológico agudo e acelerar a neurodegeneração de longo prazo. As moléculas liberadas na inflamação são capazes de iniciar e manter as vias individuais de morte neuronal. No entanto, a verdadeira extensão da neurodegeneração apoptótica depende do equilíbrio das moléculas sinalizadoras pró- e antiapoptóticas liberadas da glia, da patologia existente e de vários outros fatores que constituem a complexa interação da inflamação no cérebro humano (LYMAN *et al.*, 2014).

2.2.3.1. Componentes celulares da neuroinflamação

A neuroinflamação compreende a ativação das células da glia, células endoteliais capilares cerebrais e migração de células imunológicas periféricas circulantes que irão produzir mediadores pró-inflamatórios em resposta a uma variedade de estímulos, entre eles a lesão neuronal, infecção cerebral e reações autoimunes (RAWAT *et al.*, 2019).

Vários tipos celulares estão implicados na manutenção e sobrevivência dos neurônios. As células que formam a glia desempenham um papel ativo na fisiologia cerebral, mas, em particular, três destas tem papel chave na inflamação desse tecido (Figura 3). Os oligodendrócitos são importantes para a mielinização dos neurônios centrais, mas também são fontes de moléculas inflamatórias específicas, tais como citocinas. Os astrócitos são células que desempenham papéis fisiológicos essenciais de sustentação aos neurônios a partir do controle da concentração iônica e molecular do ambiente (regulação de íons K^+ extracelular e captação de glutamato livre, por exemplo), bem como são fontes importantes de moléculas neuroprotetoras (por exemplo, neurotrofinas) e eliminação de radicais livres, mas, no entanto, também são fontes de moléculas inflamatórias. Os astrócitos reativos, em um processo conhecido como astrogliose, produzem e liberam mediadores inflamatórios, tais como citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento que sustentam a neuroinflamação após sucessivas crises epiléticas em indivíduos com epilepsia (DEVINSKY *et al.*, 2013; LITTLE; O'CALLAGHAN, 2001).

Figura 3 - Células da glia (gliócitos).



Fonte: adaptado de vestmapamental.com.br

Por sua vez, a menor célula da glia e que está implicada primariamente na inflamação cerebral é a micróglia. Micróglia são as células imunes residentes no cérebro que constituem o sistema imune inato do SNC. A micróglia pertence à linhagem dos monócitos/macrófagos e se destacam por sua capacidade fagocitária. Fisiologicamente a micróglia patrulha ativamente o ambiente circundante, regula a neurogênese promovendo a sobrevivência dos neurônios, induz a formação de sinapses, modula a mielinização axonal e fagocita neurônios e sinapses desnecessárias. Logo, a micróglia, também, modifica a função cerebral por meio de interações com sinapses e contribuem para a manutenção da função sináptica e formação de sinapses dependentes de aprendizagem (HIRAGI; IKEGAYA; KOYAMA, 2018).

No entanto, como célula imunológica mediadora da neuroinflamação a micróglia apresenta um papel dúbio após desordens neurais, podendo contribuir para a defesa e reparo tecidual, mas também exacerbar o processo lesivo (HIRAGI; IKEGAYA; KOYAMA, 2018; GOMES-LEAL, 2012). Essas células apresentam duas formas fenotípicas, a micróglia inativada (forma morfológica ramificada – M2) responsável pela produção de fatores neuroprotetores, como neurotrofinas (fator neurotrófico derivado do cérebro - BDNF), fator de crescimento dependente de insulina (IGF-1) e citocinas anti-inflamatórias (interleucina-4, -10, -11) (TAYLOR; MAIN; CRACK, 2013); geralmente, a micróglia se apresenta nesse perfil e monitora

constantemente o microambiente cerebral. A segunda forma fenotípica é a micróglia ativada (forma morfológica ameboide – M1); a ativação da micróglia se dar em resposta a diversos estímulos, tais como infecções ou lesões (BANATI; DANIEL; BLUNT, 1998). Como uma célula imune inata, a micróglia ao se tornar ativa pode produzir diversos fatores pró-inflamatórios, como interleucinas (IL-1 β , IL-6, IL-2), fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interferon- γ (IFN- γ), ROS e RNS (DAVID; KRONER, 2011). Porém, apesar da ativação microglial (microgliose) ser necessária e essencial para a defesa do SNC, a ativação exagerada e permanente desse perfil celular é neurotóxica (TAYLOR; MAIN; CRACK, 2013; MARÍN-TEVA *et al.*, 2011; MCGEER; MCGEER, 2010) e tem se mostrado importante na lesão aguda e crônica após crises epiléticas (ZHAO; ZHU; HUANG, 2018; DEVINSKY *et al.*, 2013; VEZZANI *et al.*, 2011). Portanto, é importante frisar que, dado às funções dúbias da micróglia, a microgliose pode exercer efeitos diferentes, pró-epiléticos e antiepiléticos, sobre a função cerebral, dependendo da fase da epileptogênese (HIRAGI; IKEGAYA; KOYAMA, 2018).

Por fim, está se tornando cada vez mais evidente o papel de outros tipos ou subtipos de células na inflamação cerebral após crises epiléticas. Estudos mostraram a presença de leucócitos agranulócitos, como células T CD⁸⁺ (linfócitos T citotóxicos) e CD⁴⁺ (linfócitos T auxiliares) no cérebro de pacientes com epilepsia (VIEIRA *et al.*, 2016; ZATTONI *et al.*, 2011; SILVERBERG *et al.*, 2010). Estas células estavam próximas a capilares sanguíneos, sugerindo uma migração a partir da corrente sanguínea. Tais achados indicaram que células inflamatórias periféricas podem de fato entrar no parênquima cerebral durante crises epiléticas, sugerindo mudanças na integridade da barreira hematoencefálica (BHE). De fato, mudanças patológicas na microanatomia de capilares no cérebro de pacientes com epilepsia já foram relatadas (SOLÍS; LÓPEZ-HERNÁNDEZ; ESTRADA, 2014; CORNFORD, 1999). Existem importantes indícios que indicam a origem dessas mudanças na vasculatura cerebral, entre estes há um consenso que indica que a micróglia ativada libera ROS e prostanoídes, bem como estimula a produção de outros agentes vasorrelaxantes pelas células endoteliais cerebrovasculares, como o óxido nítrico (NO), que por sua vez podem estimular a angiogênese e dilatar os vasos sanguíneos, respectivamente, e aumentar a permeabilidade da BHE favorecendo a adesão e migração de células inflamatória periféricas para o parênquima cerebral (DA FONSECA *et al.*, 2014; SAKURAI *et al.*, 2013; BUSIJA; LEFFLER, 1989).

Portanto, a disfunção da BHE em decorrência de mediadores pró-inflamatório, é um fator que contribui diretamente no infiltrado de outros perfis celulares (por exemplo, leucócitos granulócitos e agranulócitos) que irão potencializar a resposta inflamatória iniciada pela micróglia e, conseqüentemente, agravar os seus efeitos neurotóxicos (STOLP; DZIEGIELEWSKA, 2009).

Embora a atividade inflamatória da micróglia seja maior (LIU *et al.*, 2012b), a resposta combinada de todas as células da glia e células imunes periféricas pode ser muito influente no desenvolvimento da neurodegeneração observada na epilepsia, pois é provável que a resposta neuroinflamatória de um tipo de célula tenha impacto direto sobre outra. Essa inter-relação está intrinsecamente relacionada à ação de mediadores químicos, produzidos e liberados por essas células, que modulam a cascata de eventos inflamatórios (LEHRMANN *et al.*, 2008).

2.2.3.2. Componentes moleculares da neuroinflamação

Os mediadores primários da inflamação, como proteínas (enzimas) que compõe o sistema complemento, eicosanóides, NO, fator de ativação plaquetária (PAF) e citocinas, são expressos e/ou ativados em resposta a vários insultos ao SNC, como crises epiléticas em humanos ou reproduzidos em modelos animais (LYMAN *et al.*, 2014; VEZZANI *et al.*, 2011). Estudos mostraram que há uma grande relação entre mediadores inflamatórios e crises epiléticas e epilepsias. Embora sejam importantes agentes moduladores do reparo tecidual, sua presença constante está relacionada à exacerbação da lesão em razão dos seus efeitos neurotóxicos (VELASCO-RAMIREZ *et al.*, 2013; ALLAN; ROTHWELL, 2003; LICINIO, 1997). Porém, é importante enfatizar que em grande parte da literatura, a contribuição dessas moléculas para a lesão do SNC não é claramente distinguida de seus papéis fisiológicos na inflamação e, portanto, é prudente destacar que o mesmo mediador pode possuir efeitos positivos e negativos na viabilidade das células nervosas. Além disso, têm-se poucas informações sobre a sequência de eventos ou relacionamentos entre as principais etapas dos caminhos que determinam a ordem ou a importância relativa dos mediadores químicos da inflamação. A seguir serão abordados alguns dos principais sistemas de mediadores inflamatórios e suas relações com as crises epiléticas. Mas, embora sejam apresentados de forma

individual, existe uma inter-relação complexa entre eles que sustentam um mecanismo de *feedback* positivo e que garante a manutenção da neuroinflamação.

2.2.3.2.1. Sistema complemento

O sistema complemento consiste em mais de 30 proteínas que interagem de maneira cuidadosamente regulada, que ao se ligarem em receptores específicos da superfície de diferentes células promovem a inflamação aguda através da estimulação da quimiotaxia neutrofílica e degranulação dos mastócitos; efeitos úteis no combate a infecções e prevenção da deposição de complexos imunes no tecido normal. Este sistema complexo pode ser ativado por diversos mecanismos que procedem por vias distintas (Clássica, Lectinas, Alternativa), mas todos convergem em uma via comum final nas quais cinco proteínas (anafilotoxinas) se reúnem em um complexo multimolecular, o complexo de ataque à membrana (MAC), um componente citotóxico do sistema complemento. O MAC se insere nas membranas celulares para formar um poro funcional, resultando em fluxo de íons e, finalmente, lise osmótica, o que torna esse sistema eficaz no combate a infecções (XIONG *et al.*, 2003). No entanto, já foi descrito que a ativação do complemento desempenha ações específicas na neuroinflamação, como na quimiotaxia e funções fagocíticas da micróglia (EIKELNBOOM; VEERHUIS, 1996) e, em particular, a deposição do MAC na substância cinzenta cortical pode contribuir para crises epiléticas e morte neuronal (LIBBEY *et al.*, 2010; XIONG *et al.*, 2003). Tal como acontece com muitos aspectos da imunidade inata, a cascata do complemento é geralmente considerada uma “espada de dois gumes” dentro do SNC, exibindo um efeito protetor em níveis fisiológicos e agudos, mas que pode causar danos se estimulada cronicamente (LYMAN *et al.*, 2014).

2.2.3.2.2. Eicosanóides e cicloxigenases

Os eicosanóides são formados a partir do metabolismo do ácido araquidônico (AA). O AA está esterificado a fosfolípidios da membrana celular, principalmente à fosfatidilcolina e fosfatidilinositol; ao ser liberado desses fosfolípidios por uma reação de quebra do sítio *acil éster* pela enzima fosfolipase A2, o AA livre (não-esterificado) é rapidamente convertido pelas enzimas cicloxigenase, lipoxigenase ou epoxigenase

do citocromo, para formação dos chamados eicosanóides. Especificamente, a via das cicloxigenases levará à formação das prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, coletivamente denominados de prostanóides; a via da lipoxigenase formará os leucotrienos e lipoxinas; e a epoxigenase catalisará a produção de ácidos epoxieicosatetraenóicos (HARIZI; CORCUFF; GUALDE, 2008; SHIMIZU; WOLFE, 1990).

As cicloxigenases (também conhecidas como prostaglandinas-endoperóxido sintase - PTGS ou prostaglandinas H sintase) de mamíferos apresentam-se em duas principais isoformas, COX-1 (PTGS-1) e COX-2 (PTGS-2). As COXs são proteínas associadas à membrana que catalisam duas reações sequenciais: a primeira reação (cicloxigenase) é a “ciclização” dependente de oxigênio do AA para formar a prostaglandina G_2 (PGG_2); a segunda reação (peroxidase) consiste na redução da PGG_2 a PGH_2 . A PGH_2 , por sua vez, é rapidamente convertida por sintases específicas em prostanóides: tromboxano A_2 , $PGF_{2\alpha}$, PGE_2 , prostaciclina (PGI_2) e PGD_2 (SMITH; DEWITT; GARAVITO, 2000). Esses prostanóides atuam pela ativação de receptores acoplados à proteína G (GPCRs): a PGE_2 ativa quatro GPCRs (EP_1 , EP_2 , EP_3 e EP_4), a PGD_2 ativa dois GPCRs (DP_1 e DP_2 – os quais se encontram expressos de maneira constitutiva na membrana dos eosinófilos), o tromboxano A_2 ativa o receptor TxA_2 , a $PGF_{2\alpha}$ ativa o receptor $PTGFR$ e a PGI_2 ativa o receptor denominado IP (SMITH; DEWITT; GARAVITO, 2000).

É digno de comentar que a maioria das células expressa predominantemente uma única prostanóide sintase e, portanto, apenas um único prostanóide principal, isso auxilia na análise de uma resposta complexa do tecido se as sintases puderem ser localizadas (MURAKAMI *et al.*, 2000; FITZGERALD, 2003). A prostaglandina E sintase citosólica (cPGES) e a prostaglandina E sintase-2 microssomal (mPGES-2) são expressas constitutivamente, enquanto a prostaglandina E sintase-1 microssomal (mPGES-1) é induzível e está frequentemente acoplada à COX-2, de modo que a PGE (subtipos 1 e 2) é um produto proeminente da COX-2 induzida. Cada molécula COX-2 sofre inativação após converter cerca de 400 moléculas de substrato de araquidonato, o que permite a essa enzima responder de forma dinâmica a níveis flutuantes da atividade neuronal (SMITH; GARAVITO; DEWITT, 1996).

Embora as COXs (COX-1 e COX-2) compartilhem uma homologia de sequência de 60-65% e possuam estruturas tridimensionais quase superpostas, elas

diferem em sua expressão, localização e função. A COX-1 é expressa constitutivamente em quase todos os tecidos, enquanto a COX-2 é uma enzima induzível localizada principalmente em células imunes, como leucócitos granulócitos e agranulócitos, e é modulada positivamente em condições patológicas (ZIDAR *et al.*, 2009). Assim, acredita-se que a COX-1 seja responsável pela produção homeostática de prostanóides com funções citoprotetora em vários tecidos, enquanto a COX-2 produz prostanóides que são geralmente de natureza imunológica (ROUZER; MARNETT, 2009).

No entanto, ambas as isoformas têm papéis importantes na neuroinflamação (KULKARNI; DHIR, 2009). A COX-1 é altamente expressa na micróglia ativada resultando em uma liberação excessiva de PGE₂, com consequências graves para a função cerebral, causando comprometimento cognitivo e neurodegeneração (MATOUSEK *et al.*, 2010; HOOZEMANS *et al.*, 2001). O forte envolvimento da COX-1 na neuroinflamação em comparação com a COX-2 pode estar relacionado à sua expressão na micróglia, enquanto a superexpressão da COX-2 pode ser exibida apenas em danos neuronais diretos. No entanto, pesquisas têm destacado, em especial, a participação da COX-2 no agravamento das crises epiléticas através de estudos não clínicos e clínicos (RAWAT *et al.*, 2019; ROJAS *et al.*, 2014b; KIM *et al.*, 2008; TAKEMIYA *et al.*, 2003; OKADA *et al.*, 2001).

Fisiologicamente a expressão da COX-2 e de seus produtos (prostaglandinas) está associada ao funcionamento sináptico e à formação da memória (COWLEY; FAHEY; O'MARA, 2008; WANG *et al.*, 2005). Porém, a maioria dos resultados publicados sobre vias de sinalização da inflamação convergem no gene pró-inflamatório comum que gera a expressão da COX-2. A neuroinflamação mediada por COX-2 é um assunto de amplo interesse nas pesquisas sobre as epilepsias. Em 1993 foi descrita pela primeira vez a expressão da COX-2 no hipocampo e córtex cerebral de ratos, após uma crise eletroconvulsiva máxima, estimulada parcialmente por meio da ativação de receptores NMDA. Foi mostrado que a consequente produção de prostaglandinas, especialmente PGE₂ desencadeou dano secundário ao cérebro e amplificou a gravidade das crises epiléticas (YAMAGATA *et al.*, 1993).

A partir desse trabalho os pesquisadores da área passaram a investigar com mais detalhes a participação da via COX-2/PGE₂ no cérebro epilético. Vários estudos em outros tecidos cerebrais de ratos, como no estriado, tronco cerebral e cerebelo, em modelos de crises epiléticas induzidas por ácido caínico (KA) e

choque eletroconvulsivo, também sugeriram dano neuronal resultante da ativação da COX-2 (ADAMS; COLLAÇO-MORAES; DE BELLEROCHE, 1996; MARCHESELLI; BAZAN, 1996; CHEN *et al.*, 1995). Um importante estudo observou que a indução da COX-2, e o consequente aumento da produção de PGE₂ (o principal produto da COX-2) no hipocampo, facilitou a recorrência de crises epiléticas no modelo de abrasamento químico (*kindling*) em camundongos (TAKEMIYA *et al.*, 2003), adicionalmente o aumento dessa prostaglandina esteve intrinsecamente associado à morte de neurônios hipocampais (TAKEMIYA *et al.*, 2006; KAWAGUCHI *et al.*, 2005).

O envolvimento da PGE₂ no agravamento das crises epiléticas e nos seus danos é bem descrito. Foi mostrado que a combinação de PGE₂ com doses subconvulsivas do pentilenotetrazol (PTZ) induziu crises, enquanto que a administração de anticorpos anti-PGE₂ atenuou as crises induzidas por esse modelo, reforçando um papel fundamental da via COX-2/PGE₂ no desenvolvimento de crises epiléticas induzidas pelo PTZ (OLIVEIRA *et al.*, 2008b). Como descrito anteriormente, a PGE₂ liga-se a GPCRs com maior afinidade ao receptor EP₁. A ativação desses receptores irá favorecer o aumento do influxo e da concentração de íons Ca²⁺ que, por sua vez, favorece a neurotransmissão pré-sináptica e aumenta a liberação de aminoácidos excitatórios, como o glutamato (SANG *et al.*, 2005; NISHIHAM *et al.*, 1995). No entanto, estudos questionam se os receptores de prostaglandinas podem ser considerados como potenciais alvos terapêuticos. O receptor EP₁ potencializa a ativação do receptor do ácido caínico via proteína cinase C (PKC) e exacerba o *status epilepticus* (crises epiléticas subentrantes, uma após a outra e sem a recuperação da consciência entre as crises) e o agravamento da crise. No entanto, o nocaute (*knockout*) genético ou a inibição farmacológica desse receptor em camundongos não afetou o limiar convulsivo (ROJAS *et al.*, 2014a; FISCHBORN; SOERENSEN; POTSCHKA, 2010). Os estudos sobre o envolvimento do receptor EP₂ na neuroproteção de crises epiléticas, também, mostraram resultados conflitantes. Foi demonstrado que o antagonismo do receptor EP₂ atenua a neuroinflamação e a lesão neuronal induzida durante um *status epilepticus* (ROJAS *et al.*, 2016; ROJAS *et al.*, 2015; JIANG *et al.*, 2013; JIANG *et al.*, 2012), porém a administração de agonistas desse receptor, também, pode reduzir as crises induzidas por PTZ e pilocarpina, mas causar neurotoxicidade hipocampal (SANTOS *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2008a). O *status epilepticus* induzido eletricamente

mostra suprarregulação bifásica da COX-2 no hipocampo de ratos: uma indução imediata em 1 dia após o *status epilepticus* e indução durante crises recorrentes espontâneas na fase crônica, 4-5 meses após o *status epilepticus* (HOLTMAN *et al.*, 2009). Isso sugere que, em meio à fase aguda e à fase crônica, alguns mecanismos de recuperação são ativados, os quais podem prevenir a exacerbação do dano neuronal induzido por crises, mas falham em prevenir a epileptogênese (RAWAT *et al.*, 2019).

Outros efeitos relacionados à COX-2 envolve a facilitação da migração de leucócitos (granulócitos e agranulócitos) através da barreira hematoencefálica (BHE) que também é influenciada pela produção da PGE₂; essa prostaglandina altera a permeabilidade da BHE e permite a entrada de células do sistema imunológico periférico, como linfócitos T e monócitos/macrófagos, para o cérebro, que contribui para sustentar a neuroinflamação (FIALA *et al.*, 2002).

Alguns estudos indicaram a relação da disfunção da BHE com crises epiléticas em humanos e roedores (MARCHI *et al.*, 2012; TOMKINS *et al.*, 2008; VAN VLIET *et al.*, 2007; MARCHI *et al.*, 2007). Há um consenso que indica que a micróglia ativada expressa COX-2 e conseqüentemente agentes vasorrelaxantes, como prostaglandinas e NO, que em células musculares lisas e endoteliais cerebrovasculares irão dilatar os vasos, aumentando o fluxo sanguíneo, e alterar a permeabilidade da BHE favorecendo a adesão e migração de células inflamatória periféricas para o parênquima cerebral (DA FONSECA *et al.*, 2014; SAKURAI *et al.*, 2013; BUSIJA; LEFFLER, 1989). Outros estudos sugeriram que excitotoxicidade neuronal, a partir da ativação do receptor NMDA pelo glutamato podem aumentar os mecanismos de efluxo da BHE (KOENIG *et al.*, 1992). Foi proposto que o aumento do tônus glutamatérgico causa o efluxo de drogas antiepiléticas (DAEs) administradas. Esse efluxo é demonstrado por evidências *in vivo* que sugeriram que a indução da COX-2 após a crise epilética pode aumentar a regulação do transportador de efluxo de múltiplas drogas, glicoproteína P (gp-P), na BHE e interferir na farmacocinética das DAEs reduzindo a concentração ativa no tecido cerebral, levando assim a uma baixa eficácia (WEIDNER *et al.*, 2018; POTSCHKA, 2010). Foi observado, portanto, que a gp-P é regulada positivamente pela ativação do receptor NMDA pelo glutamato e COX-2 em células endoteliais dos capilares cerebrais (BAUER *et al.*, 2008; ZHU; LIU, 2004). Essas investigações indicaram que a ativação da sinalização via receptores de prostaglandinas durante a crise está de

alguma forma causando a baixa regulação da gp-P, levando assim à diminuição da distribuição do medicamento ao cérebro e aumento da resistência aos medicamentos.

Vários transportadores de efluxo de ligação ao ATP (*ATP-binding cassette transporters - ABC transporters*) entre eles a gp-P, BCRP (*Breast Cancer Resistance Protein*) e MRP (*Multi-Drug Resistance Proteins*) subtipos 1, 4 e 5 (WARREN *et al.*, 2009) comumente expressos nas células endoteliais da BHE, estão associados à resistência a entrada de DAEs no cérebro de pacientes com epilepsia (POTSCHKA, 2010). Destes transportadores, várias investigações revelaram um aumento na expressão e na modulação positiva da gp-P no cérebro e na BHE, em modelos animais (HARTZ *et al.*, 2017; VOLK; LÖSCHER, 2005), bem como em pacientes com epilepsia refratária (FELDMANN *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2012a). Conseqüentemente, as DAEs são expelidas para a circulação pela gp-P, antes mesmo de atingirem o parênquima cerebral, causando assim a baixa resposta farmacológica (LIU *et al.*, 2007).

Por fim, até o momento apenas quatro estudos clínicos investigaram o perfil da expressão de COX-2 no tecido hipocampal de pacientes com epilepsia do lobo temporal resistente a drogas, e concluíram haver alta expressão de COX-2 em neurônios, astrócitos e micróglia do tecido esclerótico do hipocampo (WEIDNER *et al.*, 2018; DAS *et al.*, 2012; HOLTMAN *et al.*, 2009; DESJARDINS *et al.*, 2003). Esses achados corroboram aos estudos não clínicos que descreveram a relação da COX-2 com a lesão tecidual em hipocampos de animais submetidos a diferentes modelos de epilepsia. Tomados em conjuntos, esses estudos permitiram teorizar que fármacos inibidores seletivos da COX-2 podem, portanto, servir como alternativa eficaz para o tratamento das epilepsias ou como adjuvantes à terapia com DAEs em pacientes farmacorresistentes (RAWAT *et al.*, 2019; DEY *et al.*, 2016). No entanto, há controversas se a via COX-2/PGE₂ é epileptogênica ou antiepileptogênica, uma vez que existem estudos contraditórios sobre os efeitos dos inibidores da COX-2 na atividade epiléptica (OKADA *et al.*, 2001). Mas é fato que a grande maioria dos estudos acredita que a via COX-2/PGE₂ é considerada um potencial alvo terapêutico, uma vez que são mediadores chaves da neuroinflamação e da disfunção da BHE. Inibidores da COX-2 têm sido apontados como agentes adjuvantes importantes contra a farmacorresistência a DAEs e, portanto, pode ser

explorada como uma estratégia futura para o tratamento das epilepsias (RAWAT *et al.*, 2019; CITRARO *et al.*, 2015; POLASCHECK *et al.*, 2010; AKULA *et al.*, 2008).

2.2.3.2.3. Citocinas

Vários outros mediadores químicos interagem com a via da COX-2 e vice-versa, o que mostra um dos muitos ciclos de *feedback* positivo que mantém a resposta inflamatória. Citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, induzem a expressão da COX-2 e a biossíntese da PGE₂ em células da glia via estimulação de cinases reguladoras e fatores de transcrição, tais como SPK, TK, PKC, ERK, MAPK e NFκB (LIN *et al.*, 2017; CAO *et al.*, 2014; OGATA *et al.*, 2007; LIN *et al.*, 2004; MARK *et al.*, 2001; MOLINA-HOLGADO *et al.*, 2000).

As citocinas são um grupo de hormônios polipeptídicos que enviam sinais moduladores (estimulatórios ou inibitórios) para as diferentes células do sistema imunológico, exacerbando ou finalizando a inflamação. Citocinas e seus receptores são expressos em vários tecidos, incluindo o sistema nervoso central e periférico (HOPKINS; ROTHWELL, 1995; SCHÖBITZ; DE KLOET; HOLSBOER, 1994).

Em geral, as citocinas têm ações no SNC que podem ser importantes na sua proteção ou lesão. Logo, as citocinas possuem efeitos pró- e anti-inflamatórios, ou neurotóxico e neuroprotetores, respectivamente. Essa distinção não é simples, pois há sobreposição significativa de funções entre diferentes citocinas e, portanto, redundância considerável. Por exemplo, o papel de uma citocina específica pode mudar ao longo do tempo com a expressão precoce após lesão, contribuindo para o agravamento do dano, enquanto a expressão posterior auxilia no processo de reparo e recuperação do tecido. Portanto, distinções pró- e anti-inflamatórias, não devem ser atribuídas de forma definitiva a citocinas específicas em contextos fisiológicos ou patológicos (ALLAN; ROTHWELL, 2003).

Em tese, os efeitos pró- e anti-inflamatórios das citocinas podem depender de fatores como tipo de célula, estágio em que ela foi expressa ou contexto da doença, se são efeitos direto ou indireto, e a localização no SNC. No entanto, os locais de ação são determinados pela presença do receptor na membrana de uma célula específica. A maioria dos receptores de citocinas já foi descrito no SNC (ALLAN; ROTHWELL, 2003; SZELÉNYI, 2001).

Os receptores de citocinas pertencem à família de receptores associados à tirosinocinase que formam uma família distinta de proteínas transmembranas, pois não apresentam atividade enzimática intrínseca e, portanto, precisam recrutar proteínas de sinalização citosólicas. Essas proteínas citosólicas são, também, denominadas tirosinocinases não-receptoras. A ativação desses receptores por uma citocina irá estimular o domínio intracelular a ligar-se a uma tirosinocinase intracelular independente, conhecida como cinase de Janus (JAK). Com a dimerização induzida pelo acoplamento do ligando, as JAKs fosforilam outras proteínas conhecidas como transdutores de sinais e ativadores da transcrição (STATs), que se transferem ao núcleo e regulam a transcrição gênica. A via completa é conhecida como JAK/STAT. Nos mamíferos, existem quatro JAKs e seis STATs que, dependendo do tipo celular e do sinal, combinam-se diferentemente para ativar a transcrição dos genes (BERRIDGE, 2014). Os produtos finais da transcrição gênica estimulada por citocinas irão modular diferentes respostas celulares que poderá se manifestar de forma neuroprotetora ou neurotóxica.

As células da glia são uma fonte primária e alvo de muitas citocinas no SNC e podem liberar substâncias neuroativas neuroprotetoras ou neurotóxicas. Algumas ações protetoras incluem estimular a expressão de neurotrofinas e fatores de crescimento e modular as concentrações de neurotransmissores (noradrenalina, serotonina, GABA, acetilcolina e glutamato) e regular diretamente a condutância iônica entre as membranas, ações que podem promover a sobrevivência neuronal no cérebro lesionado. Por outro lado, muitas substâncias neurotóxicas em potencial, como NO, e outros radicais livres, proteases e aminoácidos excitatórios, podem ser produzidas e superexpressas pela micróglia ativada em resposta a citocinas. A partir disso, pode-se ver que o resultado final em termos de viabilidade neuronal, em resposta a lesão, dependerá do perfil de citocinas e das diferentes substâncias liberadas pelas células da glia em resposta a essas proteínas (HIRAGI; IKEGAYA; KOYAMA, 2018; ALLAN; ROTHWELL, 2003; LICINIO, 1997).

Especificamente, vários estudos têm descrito a relação das citocinas com crises epiléticas e epilepsias. Observa-se um grande aumento na expressão de citocinas, tais como IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-1Ra, TNF α e IFN γ , em pacientes com epilepsia do lobo temporal (ELT) (SHI *et al.*, 2017; ULUDAG *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015; PERNHORST *et al.*, 2013; KANEMOTO *et al.*, 2000; ICHIYAMA *et al.*, 1998; SHENG *et al.*, 1994) e em hipocampo de animais submetidos a modelos de

crises epilépticas induzidas eletricamente ou quimicamente (RAVIZZA *et al.*, 2005; VEZZANI *et al.*, 2002; DE SIMONI *et al.*, 2000).

A liberação inicial de citocinas pode iniciar a produção adicional de outras moléculas de sinalização pró-inflamatória que desempenham atividades pró-apoptóticas. A ativação de receptores de citocinas é um iniciador crítico de uma série de cascatas de transdução de sinal, nomeadamente vias das proteínas cinases ativadas por mitógenos (MAPK) que resultam em muitas respostas pró-inflamatórias e pró-apoptóticas (CHAPARRO-HUERTA *et al.*, 2008; KIM; SMITH; VAN ELDIK, 2004). Um exemplo de uma cascata comum que leva à ativação dessa via é a proteína do domínio da morte associada ao receptor do fator de necrose tumoral tipo 1 (TRADD) e a proteína do fator 2 associada ao receptor para TNF (TRAF2), que recrutam enzimas para ativar o fator de transcrição NF κ B. Essas proteínas induzem as vias da cinase N-terminal c-Jun (JNK), que ativam vários outros fatores de transcrição que modulam as MAPK. A ativação de receptores de citocinas, também, é diretamente pró-apoptótica através da produção mediada pela proteína FADD (*Fas-Associated with Death Domain* - domínio de morte associado ao Fas) da enzima caspase-8, uma enzima fortemente ligada a apoptose e a neurodegeneração (HUANG *et al.*, 2005). Tais estudos apoiam o papel etiológico da neuroinflamação na morte neuronal e, portanto, a afirmação que a neuroinflamação desempenha um papel recíproco na epilepsia, ou seja, como uma consequência da atividade epiléptica, bem como um fator contribuinte no desenvolvimento da neurodegeneração associada à doença.

2.2.3.2.3.1. Interleucina-1 β (IL-1 β)

A IL-1 β pertence à família das interleucinas-1 (IL-1) que compreendem também a IL-1 α e um antagonista natural, a IL-1Ra (antagonista do receptor da IL-1). Fisiologicamente a IL-1 β atua no hipotálamo, exercendo a função de pirógeno endógeno.

A IL-1 β é uma citocina pró-inflamatória expressa por monócitos, macrófagos e células dendríticas. A IL-1 β é sintetizada como uma pró-forma inativa de 31 kDa que se acumula no citosol. A clivagem do pró-IL-1 β na proteína ativa de 17 kDa requer a ativação de inflamassomas, que são complexos de múltiplas proteínas que respondem a patógenos, condições de estresse e outros sinais de perigo. A ativação

do inflamassoma desencadeia o processamento do precursor da caspase-1 em sua forma ativa, que por sua vez cliva o pró-IL-1 β . A IL-1 β não possui um peptídeo de sequência de sinal para a via clássica do retículo endoplasmático para o complexo de Golgi (ER/Golgi) e é secretada ao lado da caspase-1 por meio de um mecanismo alternativo. Embora a IL-1 β seja mais frequentemente secretada em sua forma ativa, a secreção da proteína não clivada pode ser detectável sob algumas condições biológicas. A IL-1 β desencadeia suas respostas através de dois receptores, IL-1RI e IL-1RII, ambos compartilhados com IL-1 α . A atividade β da IL-1 pode ser moderada pelo IL-1Ra, uma proteína produzida por muitos tipos de células que bloqueia a ligação ao receptor através da inibição competitiva. A IL-1 β desempenha um papel importante na defesa inata do hospedeiro, desencadeando a produção de outras citocinas pró-inflamatórias nas células-alvo e iniciando respostas da fase aguda à infecção e lesão. No entanto, níveis elevados de IL-1 β têm sido associados a muitas condições inflamatórias crônicas, como as epilepsias (DE VRIES *et al.*, 2016).

Estímulos epilépticos e/ou excitotóxicos aumentam a produção de IL-1 β (VEZZANI *et al.*, 1999; BARTFAI; SCHULTZBERG, 1993). É bem descrito que drogas pró-convulsivantes aumentam os níveis de mRNA de IL-1 β , receptores (IL-1RI e IL-1RII) e IL-1Ra no cérebro de ratos pouco tempo após a indução de crises epilépticas em células da glia no hipocampo e em outras áreas do sistema límbico (KOŁOSOWSKA *et al.*, 2014; PLATA-SALAMÁN *et al.*, 2000; ERIKSSON; WINBLAD; SCHULTZBERG, 1998; MINAMI *et al.*, 1991; MINAMI *et al.*, 1990). Um estudo mostrou que apenas camundongos que expressam os receptores IL-1RI e IL-1RII manifestaram crises após administração de altas doses de IL-1 β , enquanto camundongos deficientes desses receptores foram resistentes à geração das crises (DUBÉ *et al.*, 2005). Receptores para interleucinas-1 foram encontrados no cérebro de roedores com densidade particularmente alta no hipocampo, onde provavelmente estão localizados em células da glia (BAN *et al.*, 1991).

Um dos principais mecanismos envolvidos nas ações da IL-1 β na geração e agravamento das crises epilépticas envolve sua ação no aumento ou facilitação da função glutamatérgica através dos receptores NMDA e AMPA. A esse respeito, há evidência que a IL-1 β aumenta a disponibilidade extracelular de glutamato e interage com a função do receptor NMDA (VEZZANI *et al.*, 1999; MASCARUCCI *et al.*, 1998; YE; SONTHEIMER, 1996). A IL-1 β pode aumentar a neurotransmissão do glutamato por mecanismos independentes da lesão celular neuronal. A IL-1 β pode atenuar

marcadamente a captação de glutamato por astrócitos via inibição dos transportadores de aminoácidos excitatórios presentes na membrana dessas células (BEDNER *et al.*, 2015; HU *et al.*, 2000). Este efeito pode aumentar biodisponibilidade extracelular do glutamato e potencializar o tônus glutamatérgico (FOGAL; HEWETT, 2008; PROW; IRANI, 2008). A IL-1 β pode, também, estimular indiretamente o receptor NMDA, pois os receptores da IL-1 β estão associados às vias de transdução de sinal, como ativação das proteínas cinases Ser-Thr (PK), PKA e PKC e geração de NO, que é conhecido afetar a resposta dos receptores NMDA a ligantes endógenos (VIVIANI *et al.*, 2003). Indiretamente a IL-1 β , também, aumenta a atividade glutamatérgica ao reduzir a atividade do sistema GABAérgico por diminuir as correntes de Cl⁻ através dos receptores GABA_A, como demonstrado no tecido epileptogênico de pacientes com epilepsia do lobo temporal (ROSETI *et al.*, 2015).

Porém, os efeitos da IL-1 β também podem envolver outras citocinas ou fatores de crescimento. Estudos mostraram que a IL-1 β induz a síntese de IL-6 e TNF α em células da glia (BARTFAI; SCHULTZBERG, 1993). Foi relatado que IL-6 e TNF α afetam a transmissão sináptica e camundongos que as superexpressam estão susceptíveis a desenvolverem crises epiléticas e neurodegeneração (VELASCO-RAMIREZ *et al.*, 2013; LICINIO, 1997).

2.2.4. Participação dos fatores neurotróficos (neurotrofinas)

Fatores neurotróficos, ou neurotrofinas, são importantes proteínas que apoiam o crescimento, sobrevivência e diferenciação dos neurônios em desenvolvimento e maduros. As neurotrofinas são produzidas pelos neurônios e células da glia, no entanto os neurônios produzem mais neurotrofinas sob condições fisiológicas, por outro lado, as células da glia produzem mais neurotrofinas sob condições fisiopatológicas (KOWIAŃSKI *et al.*, 2018). Doenças com suporte trófico anormal e amparado por uma excitabilidade anormal, como as epilepsias, podem estar relacionadas, em alguns casos, à sinalização anormal de fatores neurotróficos (BINDER, 2004).

Sabe-se que a IL-1 β regula positivamente a expressão de fatores neurotróficos, como o fator de crescimento do nervo (NGF - *Nerve Growth Factor*) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF - *Brain-Derived Neurotrophic Factor*)

(RAGE; SILHOL; TAPIA-ARANCIBIA, 2006; SPRANGER *et al.*, 1990; LAPCHAK *et al.*, 1993) e que estes podem estar envolvidos na manutenção das crises epiléticas (IUGHETTI *et al.*, 2018; MCNAMARA; SCHARFMAN, 2012; HEINRICH *et al.*, 2011). Este efeito epileptogênico dos fatores neurotróficos podem ser em consequência dos efeitos em longo prazo da IL-1 β e possivelmente desempenha um papel funcional nas alterações crônicas na plasticidade neuronal induzida no tecido cerebral após um evento epilético agudo (DE SIMONI *et al.*, 2000; LAPCHAK; ARAUJO; HEFTI, 1993).

Portanto, o papel dos fatores neurotróficos na fisiopatologia das crises epiléticas é dúbio. A produção aumentada de fatores neurotróficos foi demonstrada em modelos experimentais de crises epiléticas (GALL, 1993) e no hipocampo de pacientes epiléticos (AKOEV *et al.*, 1996). Estudos mostraram que o BDNF está aumentado em áreas implicadas na epileptogênese, em especial no hipocampo (IUGHETTI *et al.*, 2018; MCNAMARA; SCHARFMAN, 2012; HEINRICH *et al.*, 2011; ELMER *et al.*, 1998; RUDGE *et al.*, 1998). A análise da rede reguladora de genes revelou que a via de sinalização BDNF/receptor de tropomiosina cinase B (TrkB) regula positivamente a inflamação cerebral durante crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol (JIN *et al.*, 2018). Logo, o bloqueio da ligação do BDNF ao receptor TrkB poderia inibir o desenvolvimento do estado epilético (LÄHTEINEN *et al.*, 2002).

Por outro lado, outras análises sugerem que a expressão do BDNF está reduzida nos pacientes com doenças neurodegenerativas (KOWIAŃSKI *et al.*, 2018). Assim, acredita-se que a suplementação em longo prazo com BDNF ou o uso de compostos que aumentam a expressão de BDNF no tecido epilético pode representar uma estratégia terapêutica válida contra as epilepsias (LIN *et al.*, 2019; FALCICCHIA *et al.*, 2018). O BDNF, quando liberado no hipocampo epilético, reduz a frequência de crises generalizadas ao potencializar a transmissão sináptica inibitória por regular seletivamente a transcrição do receptor GABA_A pela ativação da via JAK/STAT (LUND *et al.*, 2008), bem como melhora o desempenho cognitivo e reverte muitas alterações histológicas associadas às epilepsias, incluindo redução das células degeneradas e normalização do volume hipocampal (LIN *et al.*, 2019; FALCICCHIA *et al.*, 2018).

O BDNF é uma neurotrofina presente em grande quantidade no cérebro e atua de maneira autócrina e parácrina em várias classes de neurônios onde regula a

sobrevivência, o crescimento, a diferenciação e a plasticidade sináptica neuronal, bem como desempenha um papel crítico na formação da memória ao ativar a via de transdução de sinal pelo receptor TrkB. O BDNF é sintetizado como pré-pró-BDNF, seguido de clivagem para pró-BDNF. Embora o processamento adicional gere a proteína madura de 14 kDa, o pró-BDNF é biologicamente ativo e é secretado nas vesículas sinápticas juntamente com a forma madura. A sinalização desse fator de crescimento ocorre, principalmente, através do receptor de tropomiosina cinase B (TrkB). O receptor TrkB, também conhecido como receptor de tirosina cinase B é uma proteína que em humanos é codificada pelo gene NTRK2. O receptor TrkB faz parte da grande família de receptores tirosina cinases. Esses receptores possuem um domínio citosólico catalítico que é capaz de adicionar um grupo fosfato a certos resíduos de tirosinas em proteínas alvo. O TrkB pertence a uma subfamília que inclui os receptores TrkA e TrkC. O TrkB medeia os efeitos do BDNF, NT-3 (neurotrofina-3) e NT-4 (neurotrofina-4), porém o TrkA é ativado apenas pelo fator de crescimento do nervo (NGF) e o TrkC pelo NT-3 (HUANG; REICHARDT, 2001).

2.3. Modelos de crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol

A comunidade científica utiliza vários métodos (modelos e testes) experimentais, validados e reproduzíveis, para investigar o potencial farmacológico de compostos químicos de origem natural ou sintético frente a doenças que acometem o sistema nervo central (YADAV; JAIN; DEB, 2010).

Em nível não clínico, os métodos têm como princípio geral o uso de ferramentas de natureza química, elétrica ou mecânica, que permitam ao pesquisador induzir ou reproduzir, em animais, alterações neurológicas próximas às que ocorrem em seres humanos e, assim, permitam realizar análises qualitativas e/ou quantitativas das mudanças comportamentais, histológicas, bioquímicas ou moleculares, na presença do composto experimental (STEWART; KALUEFF, 2015).

Crises epiléticas podem ser induzidas por diferentes mecanismos que, de alguma forma, interfiram na homeostasia entre neurotransmissores ou íons excitatórios (glutamato, aspartato, Na⁺ e Ca²⁺) e inibitórios (GABA, glicina e K⁺) do SNC. Em particular, estudos neuroquímicos apoiam, fortemente, que as crises epiléticas podem ser geradas a partir da hipoatividade do tônus inibitório neuronal ou de processos excitatórios excessivamente aumentados em uma dada população

de neurônios. A hipoatividade inibitória está ligada, principalmente, à insuficiência da neurotransmissão mediada por receptores GABA_A ou das correntes de potássio para o meio extracelular, ao passo que a excessiva atividade excitatória pode resultar da hiperatividade glutamatérgica, em consequência da hipoatividade GABAérgica ou de distúrbios funcionais dos canais de sódio e cálcio dependentes de ligante ou de voltagem (canalopatias). Além disso, polimorfismos, alterações na expressão, perda da função ou mutação dos canais de potássio e cloreto dependentes de ligantes ou de voltagem, bem como desequilíbrio energético celular, estresse oxidativo e processos neuroinflamatórios, também, contribuem diretamente para a hiperexcitabilidade cerebral que resultará na disfunção e morte neuronal (LASONÍ; CHLEBICKA; REJDAK, 2013; ARMIJO *et al.*, 2002; SINGH *et al.*, 2002).

No entanto, o bloqueio do tônus inibitório por compostos químicos (por exemplo, pentilenotetrazol, bicuculina e picrotoxina) é um dos principais mecanismos de ação preferíveis por pesquisadores para induzir crises epiléticas em modelos experimentais (PITKÄNEN *et al.*, 2017; TREIMAN, 2001). Entre estes, o modelo de crises epiléticas induzidas pelo derivado tetrazol, pentilenotetrazol (PTZ), é considerado eficaz para predizer a utilização clínica de novas drogas antiepiléticas (LÖSCHER, 2011).

O PTZ é um composto amplamente utilizado em modelos de distúrbios neurológicos por ser capaz de induzir alterações comportamentais, neurofisiológicas e neuroquímicas. O PTZ é um agente ansiogênico (10-40 mg/kg), epileptogênico e neurotóxico (60-80 mg/kg), ou seja, pode reproduzir, em animais, comportamentos semelhantes a crises de ansiedade, bem como induzir crises epiléticas do tipo mioclônica, tônico-clônica generalizada, crises de ausência, tônico-clônica bilateral focal (abrasamento químico) e causar morte celular neuronal (> 60 mg/kg) a depender do método e da dose aplicada (AKDOGAN; YONGUC, 2011).

Por muitos anos o mecanismo de ação do PTZ permaneceu desconhecido. MacDonald e Barker (1978) foram os primeiros a postular que a ação epilética do PTZ era resultado de um antagonismo não competitivo da atividade pós-sináptica inibitória mediada pelo receptor GABA_A. Em 1982 foi sugerido que o PTZ atuaria antagonizando o mesmo sítio de ação dos benzodiazepínicos nos receptores GABA_A (entre as subunidades α e γ) (REHAVI; SKOLNICK; PAUL, 1982) apoiado por estudos anteriores que relataram que os benzodiazepínicos possuíam potente efeito antiepilético contra crises induzidas pelo PTZ (MÖHLER *et al.*, 1978; SWINYARD;

CASTELLION, 1966). Entretanto, estudos subsequentes sobre os possíveis sítios de ação do PTZ e outras drogas analépticas estruturalmente relacionadas, descobriram que a atividade epiléptica *in vivo*, também, poderia estar fortemente relacionada à afinidade, demonstrada *in vitro*, para o local de ligação da picrotoxina no receptor GABA_A (HUANG *et al.*, 2001; SQUIRES *et al.*, 1984). A picrotoxina é um convulsivante que obstrui o poro do canal do receptor GABA_A (WOODBURY, 1980).

O receptor GABA_A é um complexo proteico heteropentamérico composto de um conjunto de 19 subunidades prováveis (α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , ϵ , θ , π e ρ 1-3) dispostas em torno de um canal central aquoso (ionóforo), o qual permite a passagem seletiva do ânion cloreto (Cl⁻) após ativação dependente da ligação de duas moléculas do neurotransmissor ácido γ -aminobutírico (GABA) entre as subunidades α e β do canal. Essa ação irá promover uma consequente hiperpolarização da membrana em razão do aumento de cargas negativas intracelular. Há um consenso geral que afirma que esses receptores são estruturados, prioritariamente, a partir de duas subunidades α , duas β e uma γ (ou δ) (NAKAMURA *et al.*, 2015; OLSEN; SIEGHART, 2008). Por sua vez, o GABA é um aminoácido neutro e o principal neurotransmissor inibitório do parênquima cerebral, de mamíferos, capaz de contrabalancear com a excitabilidade neuronal (CZUCZWAR; PATSALOS, 2001).

O PTZ é um antagonista não competitivo dos receptores GABA_A, porém irá promover alterações em nível de vários outros sistemas cerebrais, tais como aumento da atividade glutamatérgica e monoaminérgica, disfunção dos sistemas de defesa antioxidante cerebral, além de promover aumento do estresse oxidativo e induzir neuroinflamação. Em conjunto, essas ações resultarão em extensos processos neurotóxicos, principalmente no hipocampo e córtex cerebral, que resultarão em alterações comportamentais e atrofia hipocampal e cortical (ALACHKAR *et al.*, 2020; ERKEC; ARIHAN, 2015; PAVLOVA; STEPANICHEV; GULYAEVA, 2006; PATSOUKIS *et al.*, 2004).

Um estudo, também, se concentrou na forma como o PTZ modula os canais iônicos neuronais dependentes de voltagem. Papp e colaboradores (1987) descobriram que o PTZ aumenta o influxo de cátions (Ca²⁺ e Na⁺), promovendo uma despolarização anormal da célula nervosa. De acordo com os autores, após a aplicação de bloqueadores dos canais de Ca²⁺ houve uma reversão do efeito do PTZ, permitindo concluir que esse analéptico, também, poderia atuar diretamente

nos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem, bem como ser capaz de promover a perda da seletividade do canal permitindo a passagem, também, de íons Na^+ (PAPP; FEHÉR; ERDÉLYI, 1987).

No entanto, os efeitos epiléticos e neurotóxicos do PTZ são em decorrência da sua capacidade de bloquear a atividade inibitória dos receptores GABA_A . A redução do tônus inibitório cerebral irá induzir uma casca de eventos que se iniciam através do desenvolvimento da hiperexcitabilidade cerebral mediada, inicialmente, pela ativação dos receptores AMPA e cainato e mantida pela ativação excessiva dos receptores NMDA pelo glutamato, fenômeno conhecido como excitotoxicidade glutamatérgica (KUMAR *et al.*, 2016; RAKHADE *et al.*, 2012; EKONOMOU; ANGELATOU, 1999; LASONÍ *et al.*, 1998; SCHROEDER *et al.*, 1998; DA SILVA; PEREIRA; ELISABETSKY, 1998).

Sabe-se que a ativação excessiva dos receptores NMDA, canal catiônico, irá causar um aumento do influxo de íons Na^+ e Ca^{2+} (VAN DEN POL; OBRIETAN; BELOUSOV, 1996; KUDO; OGURA, 1986), a subsequente despolarização das membranas neuronais, irá ativar canais de Na^+ e Ca^{2+} dependentes de voltagem (Na_{v1} , Ca_{v1} e Ca_{v2}) promovendo um influxo maior desses íons. A ativação demasiada dos canais Na_{v1} contribui para a propagação do potencial de ação anormal, que caracteriza a crise epilética (ZBILI; RAMA; DEBANNE, 2016), enquanto que a ativação dos $\text{Ca}_{v1/2}$ iniciará os mecanismos de exocitose de neurotransmissores, entre eles mais glutamato (FEW *et al.*, 2012). Por sua vez, o Ca^{2+} citosólico, também, pode ativar os sistemas de liberação de Ca^{2+} induzida por Ca^{2+} (CICR - *calcium-induced calcium release*), como os receptores de rianodina, presentes nas reservas intracelulares (retículo endoplasmático) dos neurônios do hipocampo (MURPHY; MILLER, 1988) e promover a liberação de mais Ca^{2+} (LEHNART *et al.*, 2008). A alta concentração de Ca^{2+} citosólico ($[\text{Ca}^{2+}]_c$) pode contribuir para desencadear uma sincronia neuronal anormal e causar e manter as crises epiléticas (NAGRANI *et al.*, 2011), bem como ativar enzimas (DNases, proteases, cinases, fosfatases e fosfolipases) e a cascata apoptótica na mitocôndria, que resultarão em lesão intracelular e peroxidação lipídica da membrana, causando morte neuronal aguda (RASOLA; BERNARDI, 2011; MANEV *et al.*, 1989). Níveis elevados de Ca^{2+} citosólico, também, podem promover morte neuronal de forma crônica por aumentar a produção de radicais livres e induzir estresse oxidativo celular (PATSOUKIS *et al.*, 2004; EL-ABHAR; EL GAWAD, 2003; RAUCA; ZERBE;

JANTZE, 1999), assim como pelo desenvolvimento de um processo neuroinflamatório pela ativação exacerbada da micróglia M1 (microgliose) (LEITE; PEIXOTO-SANTOS, 2019; SIEGER *et al.*, 2012; BROUGH *et al.*, 2003).

Por sua vez, a micróglia ativada irá promover o aumento na expressão e liberação de vários mediadores pró-inflamatórios no hipocampo, tais como NO, COX-2/PGE₂ e a interleucina-1 β (IL-1 β), fatores chaves da neuroinflamação induzida pelo PTZ (HAN *et al.*, 2016; KOŁOSOWSKA *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2008b). A ativação da via COX-2/PGE₂ irá facilitar as crises epiléticas, através da ativação dos receptores EP₁ (GPCRs) que irão modular positivamente e indiretamente o aumento da [Ca²⁺]_c que, por sua vez, irá favorecer o aumento do estresse oxidativo e a neurotransmissão pré-sináptica excitatória ao aumentar a exocitose de aminoácidos, como o glutamato (SANG *et al.*, 2005; NISHIHAM *et al.*, 1995). A PGE₂, também, irá favorecer indiretamente a expressão de NO que mediará a dilatação e o aumento da permeabilidade da BHE permitindo a migração de células inflamatórias periféricas (leucócitos granulócitos e agranulócitos) para o parênquima cerebral, potencializando a inflamação cerebral (DA FONSECA *et al.*, 2014). Concomitantemente, a alta expressão de IL-1 β irá, também, induzir indiretamente o aumento da [Ca²⁺]_c, mediado por receptores NMDA, por meio da ativação da família de cinases não receptoras citoplasmáticas (como SPK) (VIVIANI *et al.*, 2003), e consequentemente potencializar o desequilíbrio entre a transmissão glutamatérgica e GABAérgica, através de uma sobrecarga neurotóxica relacionada ao aumento do influxo de Ca²⁺ e ativação do sistema CICR (ZHU *et al.*, 2006). A IL-1 β , também, irá mediar diretamente a perda do transportador de glutamato astroglial. Os transportadores de aminoácidos excitatórios presente nos astrócitos têm papel importante na recaptura de glutamato da fenda sináptica, portanto o bloqueio desses transportadores irão aumentar as concentrações de glutamato livre e assim contribuir em manter o ciclo excitotóxico (DOI *et al.*, 2009; PROW; IRANI, 2008).

Portanto, as crises epiléticas induzidas por PTZ geram um ciclo recorrente de excitotoxicidade, estresse oxidativo e inflamação (Figura 4) no tecido cerebral, mecanismos potencialmente neurotóxicos e letais (LÖSCHER, 2011; COSTA, 1994).

exocitose de glutamato. A PGE_2 , também, irá favorecer indiretamente a expressão de NO que mediará reações vasculares, como a dilatação e o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) permitindo a migração de células inflamatórias periféricas (leucócitos granulócitos e agranulócitos) para o parênquima cerebral, potencializando a inflamação cerebral (9). Concomitantemente, a alta expressão de IL-1 β pela micróglia M1 irá mediar diretamente a perda dos transportadores de glutamato astrogliar (10). Os transportadores de aminoácidos excitatórios presente nos astrócitos têm papel importante na recaptura de glutamato da fenda sináptica, portanto o bloqueio desses transportadores irão aumentar as concentrações de glutamato livre e assim contribuir para manter o ciclo excitotóxico. Imagem: Hugo Fernandes Oliveira Pires e Álefe Brito Monteiro, 2021.

2.4. Farmacologia dos antiepilépticos

As drogas antiepilépticas (DAEs) representam uma classe farmacológica capaz de prevenir e reduzir a gravidade das crises epilépticas, sendo rotineiramente mais empregadas em casos de epilepsias; são fármacos que, quando administrados por um período prolongado, diminuem a incidência da transmissão neuronal anormal e excessiva em pacientes com distúrbios epilépticos. As DAEs estão entre os agentes psicotrópicos ativos mais comumente prescritos, apresentando também outras indicações, como para o tratamento de transtornos de ansiedade, transtornos psicóticos, profilaxia da enxaqueca e da dor neuropática (YACUBIAN; COTRERAS-CAICEDO; RÍOS-POHL, 2014; PERUCCA, 2005).

Historicamente, as DAEs podem ser classificadas em quatro gerações (Quadro 2).

Quadro 2 - Classificação das DAEs e mecanismo de ação.

Geração	Classe ou Fármaco	Mecanismo de ação
Primeira	Barbitúricos	Aumento da resposta inibitória mediada pelo receptor GABA _A (↑ tempo de abertura do canal).
	Hidantoínas	Bloqueio de canais de sódio dependentes de voltagem.
	Succinimidas	Bloqueio de canais de cálcio tipo T.
Segunda	Ácido valpróico (valproato)	Aumento dos níveis cerebrais ou sinápticos de GABA e Bloqueio de canais de cálcio tipo T.
	Carboxamidas	Bloqueio de canais de sódio dependentes de voltagem e Bloqueio de canais de cálcio tipo L.
	Benzodiazepínicos	Potencialização da resposta inibitória do GABA mediada pelo receptor GABA _A (↑ frequência de abertura do canal).
Terceira	Gabapentina	Não elucidado.
	Vigabatrina	Inibidor irreversível da GABA-transaminase, enzima responsável pela degradação do GABA.
	Lamotrigina	Bloqueio de canais de sódio dependentes de voltagem.
	Topiramato	Múltiplos.
Quarta	Brivaracetam	Bloqueio seletivo da proteína da vesícula sináptica 2 (SV2) uma glicoproteína da membrana necessária na regulação da exocitose de neurotransmissores estimulada por cálcio.
	Acetato de eslicarbazepina	Bloqueio de canais de sódio dependentes de voltagem.
	Perampanel	Antagonismo não-competitivo dos receptores de glutamato AMPA.
	Ezogabine	Modulação positiva de canais de potássio.

(↑) Aumentar; DAEs: drogas antiepilépticas; GABA: ácido γ-aminobutírico; AMPA: ácido propiônico α-amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4.

Fontes: SIRVEN *et al.*, 2012; BRODIE; SILLS, 2011; LYNCH *et al.*, 2004.

A primeira geração compreende aqueles comercializados entre 1857 e 1959, incluindo o brometo de potássio, e fármacos da classe dos barbitúricos, hidantoínas e succinimidas.

Os barbitúricos foram fármacos amplamente utilizados como ansiolíticos, hipnóticos, sedativos e antiepilépticos. Devido ao risco do seu uso clínico ser mais elevado do que seus benefícios essa classe foi uniformemente substituída. Os barbitúricos induzem depressão respiratória grave, alterações cognitivas e indução de enzimas metabolizadoras de fármacos do citocromo hepático, entre outros efeitos. Representantes: fenobarbital (*Gardena*), protótipo dos barbitúricos;

tiopental, barbitúrico de ação rápida, um dos fármacos usados na injeção letal; e pentobarbital (LÖSCHER; ROGAWSKI, 2012; HO; HARRIS, 1981).

As hidantoínas e seus derivados são uma classe de substâncias que despertaram grande interesse, por apresentarem importantes atividades farmacológicas, tais como efeitos antiepiléptico, antiarrítmico e no tratamento de complicações diabéticas crônicas. Representantes: fenitoína, primeiro fármaco não sedativo no arsenal de drogas antiepilépticas com um amplo espectro de ação; fosfenitoína, um pró-fármaco; e etotoína (OLIVEIRA *et al.*, 2008c).

As succinimidas são fármacos antiepilépticos efetivos para tratar crises de ausência, obtidos durante a busca por drogas mais específicas. Representantes: etossuximida, uma droga bastante efetiva e de baixa toxicidade; fensuximida e metossuximida (GOMORA *et al.*, 2001).

A segunda geração inclui o fármaco ácido valpróico (valproato) e fármacos da classe das carboxamidas e benzodiazepínicos, introduzidos entre 1960 e 1975.

O ácido valpróico (valproato) foi inicialmente utilizado como solvente de substâncias químicas orgânicas e teve sua ação antiepiléptica elucidada nos laboratórios de *Meunier*, na França, no início da década de 1960. Em 1963, durante a preparação de uma série de compostos heterocíclicos que, em decorrência de sua baixa solubilidade, precisavam ser dissolvidos em vários solventes, entre eles o valproato, verificou-se que várias destas moléculas apresentavam propriedade antiepiléptica e que essa ação era dependente do solvente. Rapidamente, o valproato revelou-se um fármaco muito eficaz e de primeira escolha para o controle das crises epilépticas generalizadas idiopáticas e, algumas décadas mais tarde, também das epilepsias focais, sendo reconhecido por seu amplo espectro de ação, entre eles também efeito antipsicótico (GENTON; SEMAH; TRINKA, 2006).

As carboxamidas são drogas eficazes para o tratamento antiepiléptico e antipsicótico. Representantes: carbamazepina, um dos antiepilépticos mais amplamente usados, sendo um derivado químico dos antidepressivos tricíclicos; e oxacarbazepina, menos potente que a carbamazepina (TROUPIN, 1978; CEREGHINO *et al.*, 1974).

Os benzodiazepínicos substituíram largamente os barbitúricos em muitas áreas, principalmente por não deprimirem os centros respiratórios, apresentando por isso um uso mais seguro. É um grupo de fármacos com perfil ansiolítico, antiepiléptico, sedativo, relaxante muscular e hipnótico, efeitos que são alcançados

em função da dose administrada. Representantes: diazepam, mais importante por via endovenosa ou retal em casos de urgência; clobazam e o clonazepam, boas opções para a profilaxia de crises em pacientes com epilepsia refratária a múltiplos antiepiléticos (OCHOA; KILGO, 2016).

Após 1980, passaram a ser comercializados fármacos da terceira geração, como a progabida, gabapentina, pregabalina (desenvolvido a partir da gabapentina), vigabatrina, tiagabina, lamotrigina e topiramato (SIRVEN *et al.*, 2012).

Atualmente, estão em ascensão as DAEs de quarta geração. As mais recentes aprovações da *Food and Drug Administration* (FDA) são: *briivact* (brivaracetam ou levetiracetam) aprovado em agosto de 2014; *aptiom* (acetato de eslicarbazepina) aprovado em novembro de 2013; *fycompa* (perampanel) aprovada em outubro de 2012; e *potiga* (ezogabine) aprovada em junho de 2011; ambas são indicadas para o tratamento específico de crises epiléticas focais com ou sem crises secundariamente generalizadas (SIRVEN *et al.*, 2012).

Clinicamente entre as gerações de DAEs, o valproato é o fármaco de primeira linha para todos os tipos de crises e com baixa possibilidade de agravá-las. É seguramente um antiepilético de muito largo espectro de ação e de utilização bastante segura. A carbamazepina é eficaz nas crises focais (ligeiramente mais eficaz que o valproato nas crises focais com consciência prejudicada) e nas crises tônico-clônicas generalizadas, mas pode agravar as crises de ausência, as crises mioclônicas, tônicas e atônicas. Por isso, é imprescindível e importante que seja feito o diagnóstico correto do tipo de crise para assegurar escolha do fármaco ideal. Assim, consideram como antiepiléticos de primeira escolha o valproato e a carbamazepina, e reservam os demais antiepiléticos para os pacientes refratários (farmacorresistentes) a estes dois fármacos ou nos quais existem contraindicações (GERSTNER; BELL; KÖNIG, 2008; STORES *et al.*, 1992; LIVINGSTON *et al.*, 1967).

Os efeitos adversos das DAEs são fatores que comprometem a qualidade de vida dos pacientes. Os efeitos secundários mais comuns em curto e longo prazo são: sedação, sonolência, tontura, fadiga, náuseas e vômitos, dor de cabeça, diplopia, alopecia, hirsutismo, hiperplasia gengival, vertigem, ataxia, visão turva, tremor, irritabilidade, ganho de peso, distúrbio da marcha, entre outros (YACUBIAN; COTRERAS-CAICEDO; RÍOS-POHL, 2014; PERUCCA; GILLIAM, 2012). Porém, a farmacorresistência a DAEs é o fator mais limitante dessa classe, aproximadamente

30% dos pacientes com epilepsias são refratários, isto é, não apresentam resposta adequada ao tratamento farmacológico (ENGEL, 2016; KWAN *et al.*, 2010).

Diante desse cenário, têm-se observado importantes esforços globais na busca de novos compostos promissores para o desenvolvimento de DAEs mais eficazes e seguras. No entanto, aqui se faz necessário frisar que essas pesquisas, em sua maioria, estão se baseando em conhecimentos insuficientes a cerca dos mecanismos fisiopatogênicos envolvidos nas epilepsias nos quais muitas vezes omitem ou desconhecem que as epilepsias são doenças neurodegenerativas e que, portanto, pacientes com essa condição apresentam alto estresse oxidativo e neuroinflamação, que podem contribuir para a excitabilidade neuronal aguda e para as alterações moleculares crônicas, e que estas desempenham um papel no desenvolvimento das epilepsias, causando em curto e longo prazo manutenção das crises e progressiva morte neuronal que culmina em prejuízo cognitivo e demência. Assim, observa-se que muitas pesquisas focam apenas em compostos capazes de potencializar a atividade GABAérgica e/ou reduzir os mecanismos de hiperexcitabilidade, através do bloqueio dos canais de sódio e cálcio, estabilizando-os em seu estado inativado, evitando a despolarização e excitabilidade neuronal. Logo, constata-se que a busca por novas DAEs ainda se baseia em uma “comodidade experimental”, ou seja, repetição de análises de mecanismos de ação já realizados por DAEs clássicas (FRANCO; FRENCH; PERUCCA, 2016; BIALER; WHITE, 2010).

Como observado, as DAEs disponíveis na prática clínica não possuem mecanismos que sejam capazes de prevenir ou retardar a progressão da neurodegeneração associada às epilepsias, assim é essencial que as pesquisas de novas drogas com potencial antiepiléptico, também, se foquem em compostos que apresentem perfil neuroprotetor com evidente capacidade de modular alvos moleculares específicos importantes nos mecanismos que induzem e mantêm a morte neuronal e, assim, evitem ou reduzam a progressão dos processos neurotóxicos (excitotoxicidade, estresse oxidativo e neuroinflamação) que sustentam as doenças neurodegenerativas, entre elas as epilepsias (BIALER; WHITE, 2010).

2.5. Fenilpropanoides e álcool cinâmico

As plantas são fontes de compostos químicos biologicamente ativos e são reconhecidas há milênios por seus efeitos benéficos à saúde. Em destaque, as espécies vegetais aromáticas produzem uma vasta coleção de fitoconstituíntes que vêm demonstrando benefícios à saúde humana frente a uma variedade de condições patológicas (FIRMO *et al.*, 2012; SCHREINER *et al.*, 2012).

Os óleos essenciais e seus constituintes químicos têm-se mostrado como uma alternativa medicinal promissora para o tratamento de diversas doenças do sistema nervoso central (GULLUNI *et al.*, 2018; ALI *et al.*, 2015; DOBETSBERGER; BUCHBAUER, 2011; EDRIS, 2007). Em particular, vários estudos destacam o potencial benefício do uso de fitoconstituíntes de óleos essenciais, como os fitocannabinoides, para o controle clínico das crises epiléticas (EMILIE *et al.*, 2019; LEWIS *et al.*, 2018; REDDY; GOLUB, 2016; GOLDSTEIN, 2016; ABDOLLAHI FARD; SHOJAILI, 2013; SPINELLA, 2001).

Os fitoconstituíntes presentes nos óleos essenciais são divididos em duas grandes classes, a saber: terpenos e fenilpropanoides. Em termos fitoquímicos, essas duas classes originam-se de precursores diferentes e são sintetizados por rotas metabólicas distintas. É sabido que os terpenos representam a maior classe de constituintes dos óleos essenciais, no entanto, os fenilpropanoides, também estão presentes em quantidades significativas (SANGWAN *et al.*, 2001).

Como exemplos de fenilpropanoides têm-se o álcool cinâmico (AC), aldeído cinâmico, ácido cinâmico e acetato de cianamila, constituintes presentes no óleo essencial das cascas de espécies do gênero *Cinnamomum* Schaeff. (Lauraceae Juss.), tais como *Cinnamomum verum* J.Presl (sinônimo taxonômico *C. zeylanicum* Blume), originária do Sri Lanka (anteriormente Ceilão - país na Ásia Meridional), popularmente conhecida como “Canela-verdadeira ou Canela real do Ceilão”, e *C. cassia* Nees ex Blume, conhecida como Canela-chinesa ou Cássia (Figura 5) (ANDRADE *et al.*, 2012; KOKETSU *et al.*, 1997; ARCHER, 1988; GROSS; BOLKART; ZENK, 1968).

Figura 5 - *Cinnamomum cassia* Nees ex Blume (Canela-chinesa ou Cássia).



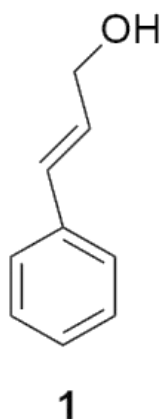
Fonte: expressocanela.com e shutterstock.com

A canela é uma das especiarias mais antigas e importantes aplicada na culinária mundial e medicina tradicional (RIBEIRO-SANTOS *et al.*, 2017; QUINET *et al.*, 2015; PARTHASARATHY; CHEMPAKAM; ZACHARIAH, 2008). A canela é muito apreciada na indústria alimentícia e cosmética dada ao seu aroma particular, mas foi considerada, por civilizações milenares, um fitoterápico muito valioso (RAVINDRAN; NIRMAL-BABU; SHYLAJA, 2003). No decorrer da história a canela foi usada pela medicina tradicional como repelente e para tratar várias condições, tais como as doenças do trato gastrointestinal (úlceras, dispepsia, diarreia), doenças inflamatórias (artrite, asma, sinusite/rinite), diabetes e febre. Essa extensa aplicação medicinal da canela é um representativo da importância dos seus fitoconstituintes como agentes dotados de importantes atividades farmacológicas (LEE; BALICK, 2005). No entanto, o AC, também, pode ser encontrado em outras espécies, tais como *Ficus carica* Linnaeus (figueira) (GIBERNAU *et al.*, 1997; VALLEJO; MARÍN; TOMÁS-BARBERÁN, 2012), *Centella asiatica* Linnaeus (centelha asiática) (BRINKHAUS *et*

al., 2000) e *Rhodiola rosea* Linnaeus (raiz de ouro) (PANOSSIAN; WIKMAN; SARRIS, 2010).

O AC (1), com fórmula química C₉H₁₀O (Figura 6), é derivado da via do ácido chiquímico (chiquimato). O ácido chiquímico é formado pela condensação de dois metabólitos da glicose, o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fostato. O próximo passo dessa via é a formação do ácido corísmico através da junção do ácido chiquímico com uma molécula de fosfoenolpiruvato. O ácido corísmico por sua vez gera os aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina. Este último composto é o precursor de um dos primeiros grupos de compostos fenólicos formados a partir do ácido corísmico, os fenilpropanoides. A principal enzima da via do chiquimato é a fenilalanina amônio-liase (PAL). Essa enzima retira o grupo amino da fenilalanina formando o ácido cinâmico (3). A partir do ácido cinâmico, o éster cinnamil-CoA é formado pela atividade do hidroxicinamato-CoA-ligase. O éster cinnamil-CoA é reduzido a aldeído cinâmico (cinamaldeído, 2) pela hidroxicinamil-CoA-redutase. O aldeído cinâmico, em seguida, pode ser convertido reversivelmente por reações de oxidação em álcool cinâmico (1) e ácido cinâmico (3) pelas enzimas álcool desidrogenase e aldeído desidrogenase, respectivamente (MIRMAZLOUM *et al.*, 2019; AMORIM; PESTANA; MENDES, 2017; GROSS; BOLKART; ZENK, 1968). Por sua vez, ao serem ingeridos por animais, os derivados cinâmicos podem sofrer reações metabólicas e serem β-oxidados no fígado, gerando um metabólito ativo, o benzoato (4) como benzoil-CoA (forma sintética: benzoato de sódio) (Figura 7) (BRAHMACHARI; JANA; PAHAN, 2009).

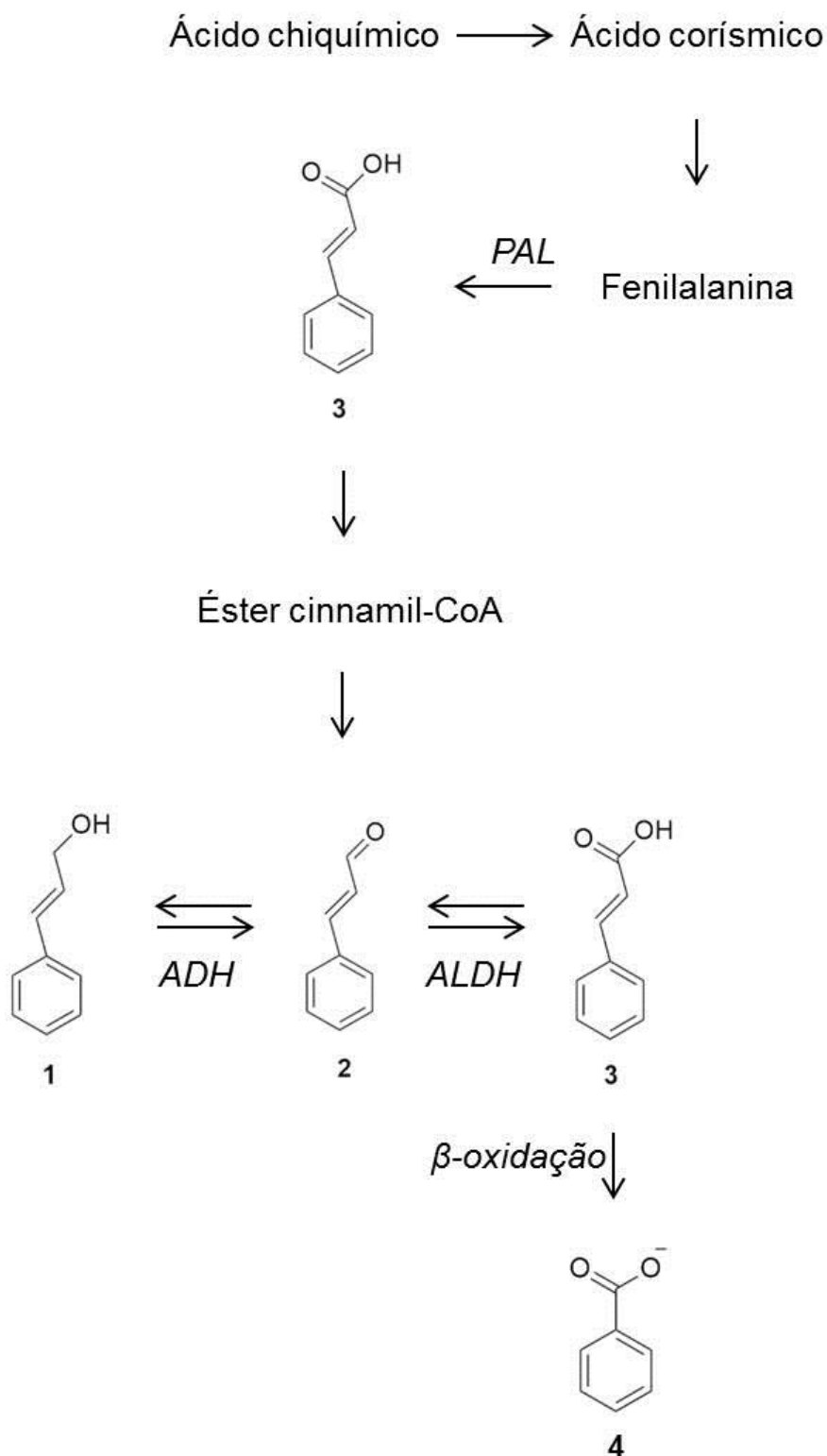
Figura 6 - Álcool cinâmico.



Sinônimos químicos: álcool cinnamílico, cinamol, 3-fenil-2-propen-1-ol.

Fonte: Figura do autor.

Figura 7 - Rota biossintética e metabólica do álcool cinâmico (simplificada).



Álcool cinâmico (1); Aldeído cinâmico (2); Ácido cinâmico (3); Benzoato (4); PAL: fenilalanina amônio liase; ADH: álcool desidrogenase; ALDH: aldeído desidrogenase.

Fonte: Figura do autor.

Os derivados cinâmicos são dotados de importantes propriedades farmacológicas, tais como efeitos antimicrobiano, antioxidante, anti-inflamatório e neuroprotetor (MONTEIRO *et al.*, 2021; RAO; GAN, 2014). Um estudo anteriormente desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa descreveu o AC com efeitos ansiolítico-símile e antinociceptivo e com baixa toxicidade, DL₅₀ estimada em 500 mg/kg de acordo com a diretriz 423 de 2001 da OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) (DE ANDRADE *et al.*, 2020). Em nível de SNC, outros estudos não clínicos descreveram que o AC é um composto capaz de promover efeitos sedativo e antidepressivo-símile (SAKINA; DANDIYA, 1990), antineuroinflamatório (GUNAWARDENA *et al.*, 2015; HO; CHANG; CHANG, 2013; LIAO *et al.*, 2012) e neuroprotetor (STAVINOHA; VATTEM, 2015; ESSA *et al.*, 2012). Esses estudos, portanto, fundamentam novas pesquisas que investigam as potencialidades neurofarmacológicas do AC.



OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito antiepiléptico e neuroprotetor do álcool cinâmico (AC) e seus possíveis mecanismos de ação em camundongos submetidos a modelos de crises epiléticas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ).

3.2. Objetivos específicos

- Investigar o efeito do AC sobre a latência para a primeira crise epilética tônico-clônica generalizada, a intensidade da primeira crise, a latência para a morte e o percentual de sobrevivência em camundongos submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas por PTZ;
- Avaliar o pré-tratamento com o AC sobre a excitotoxicidade via potencialização dos receptores GABA_A em camundongos submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas por PTZ;
- Dosar marcadores do estresse oxidativo e do sistema antioxidante através da quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nitrito e glutathiona reduzida (GSH), respectivamente, em hipocampo de camundongos pré-tratados com o AC e submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas por PTZ;
- Realizar análises histomorfométricas para inflamação e preservação neuronal em hipocampo de camundongos pré-tratados com o AC e submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas por PTZ;
- Investigar o efeito do AC sobre a latência para a primeira crise epilética tônico-clônica bilateral focal em camundongos submetidos ao modelo de abrasamento químico induzido por PTZ (*kindling* químico).



MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais e aspectos éticos

Camundongos machos *Swiss (Mus musculus)*, com peso de 25-30 g e idade aproximada de 2-3 meses, foram adquiridos da Unidade de Produção Animal (UPA) do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Os camundongos foram alojados em gaiolas de polipropileno em condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) e iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas) com livre acesso a água e ração (*Labina Presence*). Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPB, sob o certificado de número #7670220319 (ANEXO I).

Os procedimentos adotados estão de acordo com o Decreto nº 24.645 de 10 de julho de 1934 que asseguram os direitos dos animais, estabelecendo medidas de proteção aos mesmos e com a Lei 11.794, de 08 de outubro de 2008 (Lei Arouca), que regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais. Quando necessário os animais foram eutanasiados e descartados de acordo com critérios estabelecidos na Resolução Normativa nº 37 seção I, de 15 de fevereiro de 2018, que trata da Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).

4.2. Drogas

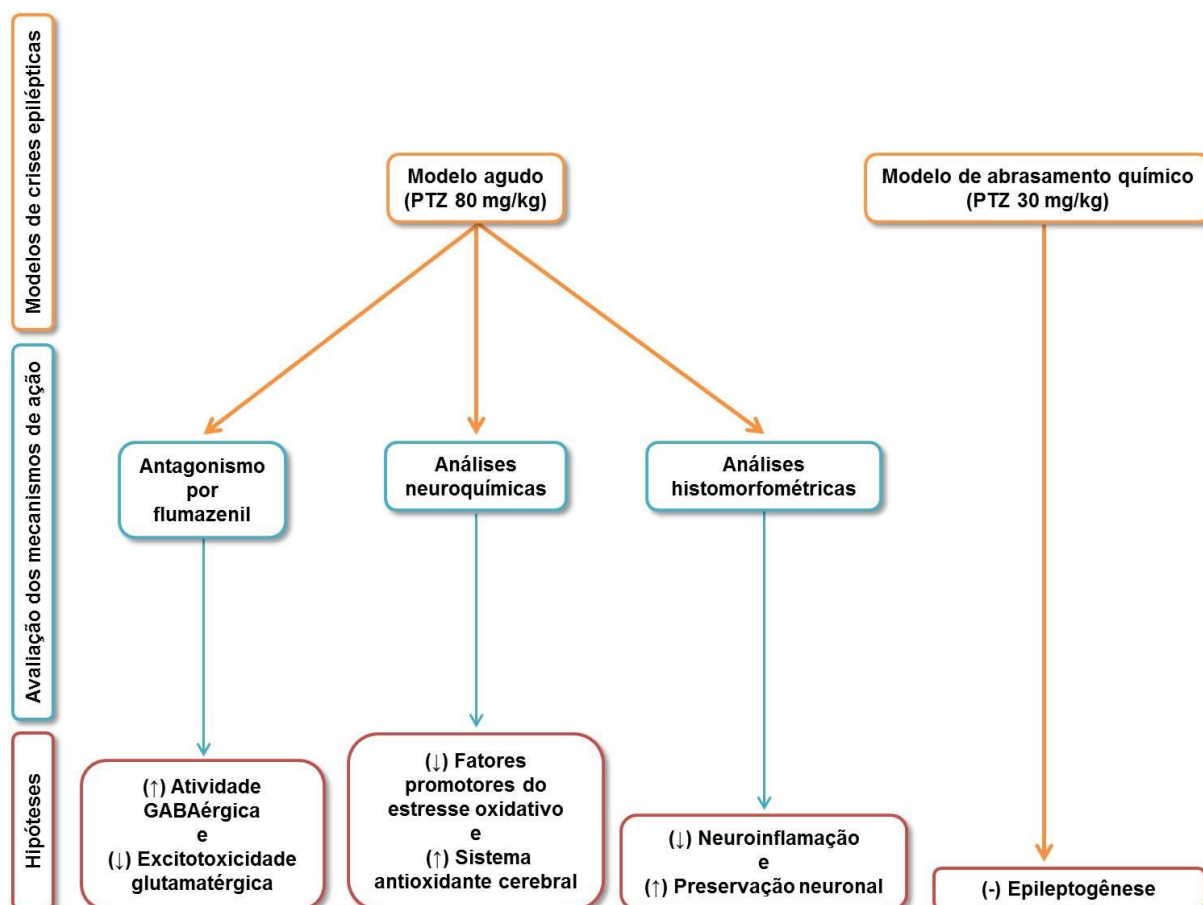
Álcool cinâmico⁷ (AC - #108197), diazepam e pentilenotetrazol foram adquiridos na Merck - Sigma Chemical Co. (Estados Unidos da América - EUA). Flumazenil foi doado pela Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA (Brasil). O AC e o flumazenil foram emulsificados em *Tween* 80 a 5% em solução salina (NaCl 0,9%). As outras drogas foram diluídas/dissolvidas em solução salina. Todas as drogas foram injetadas via intraperitoneal (i.p.) em um volume total de 0,1 mL/10 g de peso do animal.

⁷ CAS 104-54-1 (número de registro da *Chemical Abstracts Service*); Solubilidade em água (2,34 g/L); logP (1,93); pKa (ácido mais forte) = 15,62; pKa (básico mais forte) = -2,5.

4.3. Protocolos experimentais

Os protocolos experimentais e as hipóteses dos efeitos do AC para cada análise são apresentados na figura 8.

Figura 8 - Síntese dos protocolos experimentais.



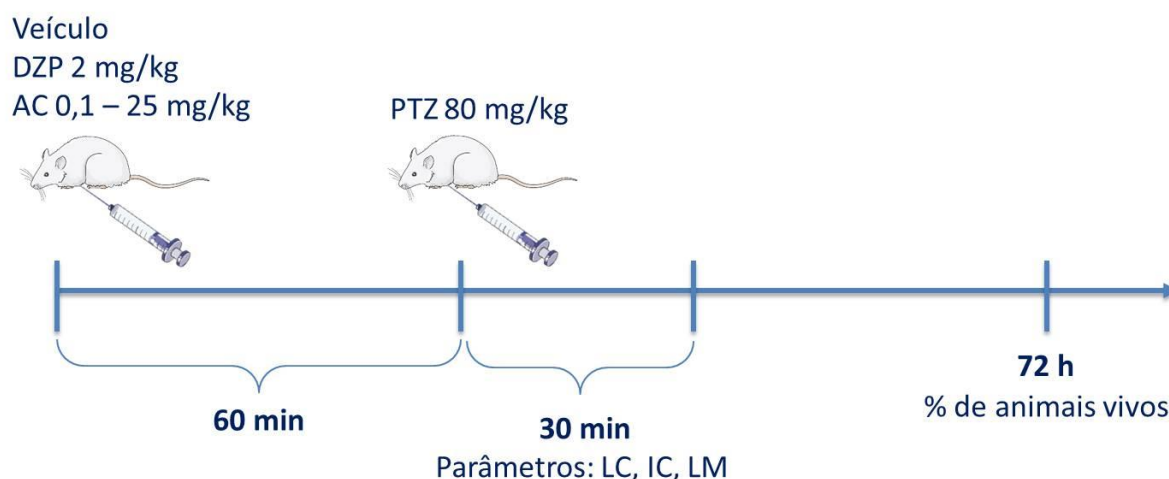
(↑) Aumentar; (↓) Diminuir; (-) Inibir; PTZ: pentilenotetrazol.

4.3.1. Modelo agudo de crises epilépticas induzidas por pentilenotetrazol (PTZ)

Camundongos machos foram distribuídos em grupos (n=8) e pré-tratados (i.p.) com veículo (*Tween* 80 a 5% em solução salina - NaCl 0,9%) ou diazepam (2 mg/kg) ou AC (0,1, 0,3, 0,7, 1,5, 3,1, 6,2, 12,5, 25 mg/kg). Uma hora após, cada animal recebeu uma injeção de PTZ (80 mg/kg, i.p.) para indução das crises epilépticas. Os animais foram observados quanto aos seguintes parâmetros comportamentais: (1) latência, em segundos, para o aparecimento da primeira crise epiléptica tônico-clônica generalizada; (2) intensidade da primeira crise, de acordo

com a escala adaptada de Racine (1 = Normal; 2 = Hiperatividade; 3 = Movimentos verticais repetidos e estereotipados; 4 = Clonia nas patas dianteiras; 5 = Ataque motor completo tônico-clônico generalizado) (adaptado de ITZHAK; MARTIN, 2000); e (3) latência para a morte, em segundos, durante 30 minutos. Os animais que não morreram durante o período do teste foram observados durante 72 horas seguintes e foi registrado o número de animais que sobreviveram após a administração do PTZ (Figura 9); ao final do teste, os camundongos dos grupos veículo, diazepam e AC 0,7 mg/kg foram eutanasiados e os encéfalos foram rapidamente retirados e conservados em solução de formaldeído a 10% em tampão fosfato (pH 7,4) para posterior análises histomorfométricas do hipocampo (adaptado de LÖSCHER *et al.*, 1991).

Figura 9 - Desenho experimental do modelo agudo.



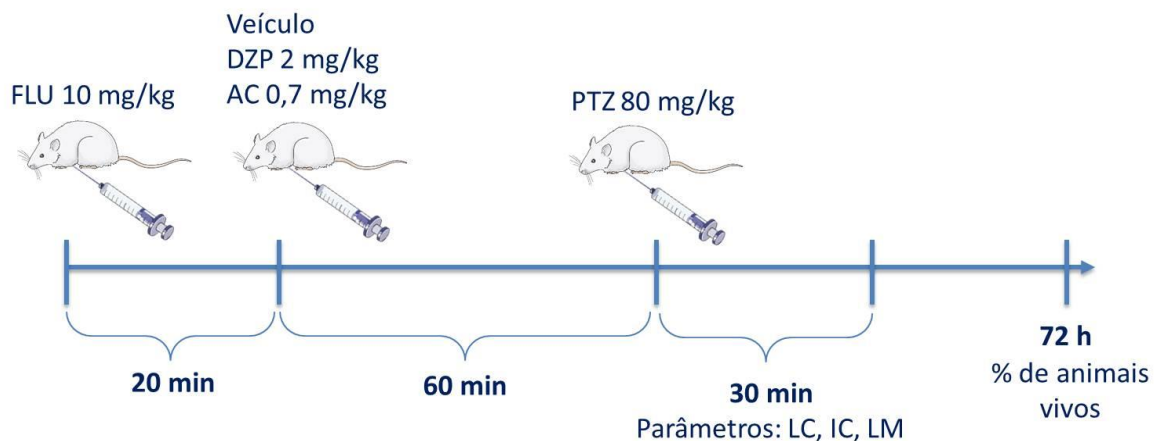
LC: latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada; IC: intensidade da 1ª crise epiléptica; LM: latência para a morte.

4.3.2. Teste de antagonismo por flumazenil

Grupos distintos de camundongos machos foram pré-tratados (i.p.) com o flumazenil (10 mg/kg – antagonista seletivo do sítio de ligação dos benzodiazepínicos no receptor GABA_A) e, após vinte minutos, cada grupo (n=8) foi tratado com diazepam (2 mg/kg) ou AC (0,7 mg/kg), via i.p. Como controle, grupos de animais foram tratados apenas com o veículo (*Tween* 80 a 5% em solução salina) ou diazepam (2 mg/kg) ou AC (0,7 mg/kg). Decorridos 60 minutos, todos os grupos

foram submetidos ao modelo agudo de crises epilépticas induzidas por PTZ (Figura 10) (adaptado de LÖSCHER *et al.*, 1991).

Figura 10 - Desenho experimental do teste de antagonismo por flumazenil.

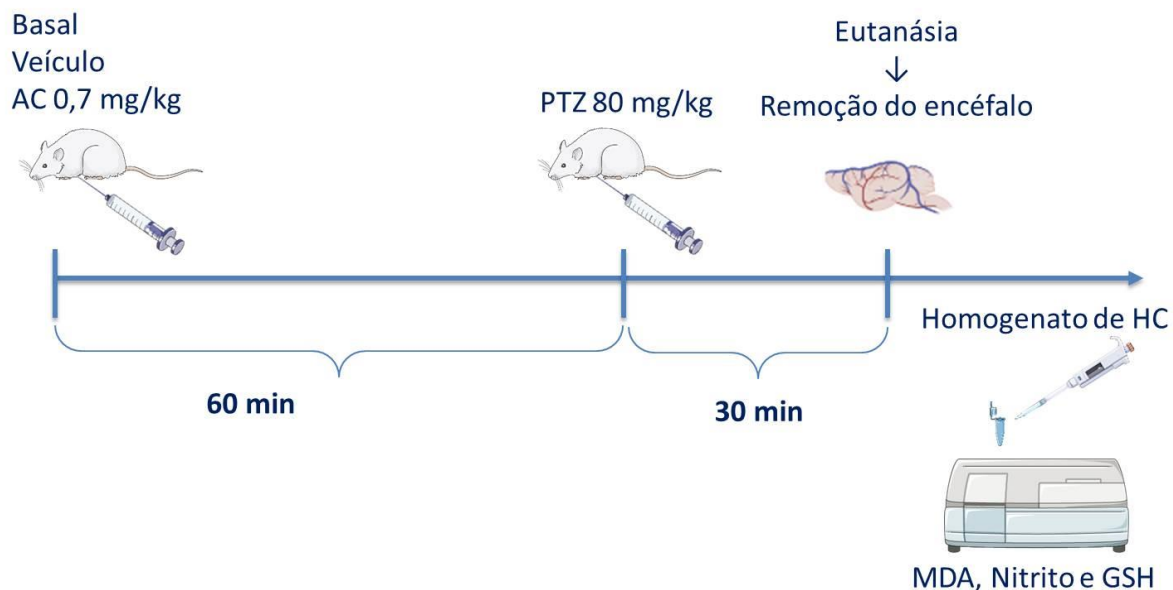


LC: latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada; IC: intensidade da 1ª crise epiléptica; LM: latência para a morte.

4.3.3. Análises neuroquímicas

Camundongos machos foram distribuídos em grupos (n=8) e pré-tratados (i.p.) com (1) solução salina (grupo basal) ou (2) veículo (*Tween* 80 a 5% em solução salina) ou (3) AC (0,7 mg/kg). Uma hora após, os animais dos grupos 2 e 3 receberam uma injeção (i.p.) do PTZ (80 mg/kg); trinta minutos após, todos os camundongos foram eutanasiados e os cérebros foram rapidamente dissecados e o hipocampo foi retirado para quantificação da concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nitrito e glutatona reduzida (GSH), como segue (Figura 11).

Figura 11 - Desenho experimental das análises neuroquímicas.



HC: hipocampo; MDA: malondialdeído; GSH: glutathiona reduzida.

4.3.3.1. Quantificação de TBARS

Para essa análise, foram preparados homogenatos de hipocampo a 10% p/v em 1,15% p/v de tampão de cloreto de potássio. Em um tubo de ensaio, misturaram-se 50 μL do homogenato em 200 μL de uma solução de ácido tiobarbitúrico a 0,6% p/v em hidróxido de sódio 0,5 N e 200 μL de ácido tricloroacético a 10% p/v. A mistura foi incubada em banho-maria (95-100° C) por 15 minutos. Após esse período, os tubos foram introduzidos em um banho de gelo para interromper a reação. O material arrefecido foi então centrifugado durante 5 minutos a 1.792 g; 100 μL do sobrenadante foram transferidos para uma placa Elisa onde a absorbância do produto da reação foi determinada a um comprimento de onda de 540 nm. Os valores de absorbância foram interpolados em uma curva padrão de malondialdeído (MDA), e os resultados foram expressos em micromol (μmol) de MDA por grama de tecido. O MDA é um subproduto da peroxidação lipídica e, portanto, serve como um marcador da lesão da membrana celular (DRAPER; HADLEY, 1990).

4.3.3.2. Quantificação de nitrito

Para essa análise, foram preparados homogenatos de hipocampo a 10% p/v em 1,15% p/v de cloreto de potássio, os quais foram submetidos à centrifugação por 15 minutos em uma centrífuga refrigerada (4° C) a 25.200 g. A técnica utiliza o reagente de *Griess* (0,1% de N-1-nafiletilenodiamina, água bidestilada, 1% de sulfanilamida e 5% de ácido fosfórico na proporção de 1:1:1:1). Este reagente revela a presença de nitrito em amostras biológicas por meio de uma reação de diazotização que forma um cromóforo cor-de-rosa com um pico de absorvância a 560 nm); 100 µL do reagente de *Griess* foram adicionados em 100 µL do homogenato sobrenadante. Para o teste em branco, foram utilizados 100 µL do reagente *Griess* mais 100 µL de solução salina. Finalmente, 100 µL do branco e as amostras foram transferidas para uma placa Elisa onde a absorvância do produto da reação foi determinada no comprimento de onda de 540 nm. Os resultados foram expressos em µmol/g de tecido. O nitrito é um metabólito do óxido nítrico (NO) comumente dosado como marcador da concentração de NO (GREEN; GOLDMAN, 1981).

4.3.3.3. Quantificação de GSH

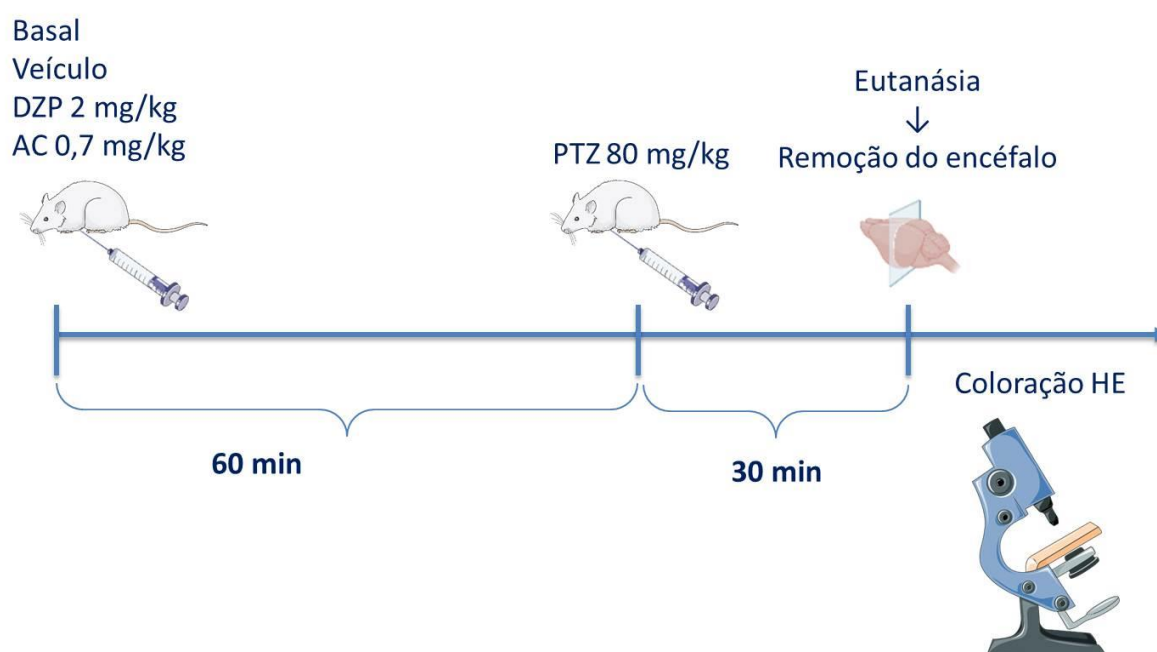
Este teste é baseado na reação do 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) com grupos tiol (método de *Ellman*). Para essa análise, foram preparados homogenatos de hipocampo a 10% p/v em tampão EDTA 0,02 M (10% p/v) e misturado com uma solução de ácido tricloroacético a 50%. As amostras foram centrifugadas (3000 rpm/15 minutos) e o sobrenadante foi coletado e misturado com tampão Tris-HCl 0,4 M, pH 8,9 e DTNB 0,01 M. A concentração de GSH, µg/g de tecido úmido, foi determinada por espectrofotometria a 412 nm (SEDLAK; LINDSAY, 1968).

4.3.4. Análises histomorfométricas

Os animais submetidos ao modelo agudo de crises epilépticas induzidas por PTZ foram eutanasiados de acordo com a Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA (2018). Os cérebros foram removidos e fixados em solução de formaldeído a 10% em tampão fosfato (pH 7,4) para a realização das análises

histomorfométricas. Cortes sagitais, foram feitos em intervalos de 1 mm, obtidos a partir de um corte inicial próximo aos corpos mamilares. Para o estudo microscópico, secções do hipocampo de 4 μM foram feitas, coradas em hematoxilina e eosina (HE), e analisadas com auxílio de um microscópio óptico em um aumento de 40x (Figura 12). Os hipocampos foram observados e classificados de acordo com as descrições do Atlas de Paxinos e Watson (2006). O grau de preservação neuronal foi expresso através de uma escala percentual de 0 (nenhum) a 100 (total) para cada hipocampo analisado. Os animais foram definidos com lesão cerebral quando houve pelo menos 50% de alteração no hipocampo conforme descrito anteriormente por Campêlo *et al.* (2011).

Figura 12 - Desenho experimental das análises histomorfométricas.



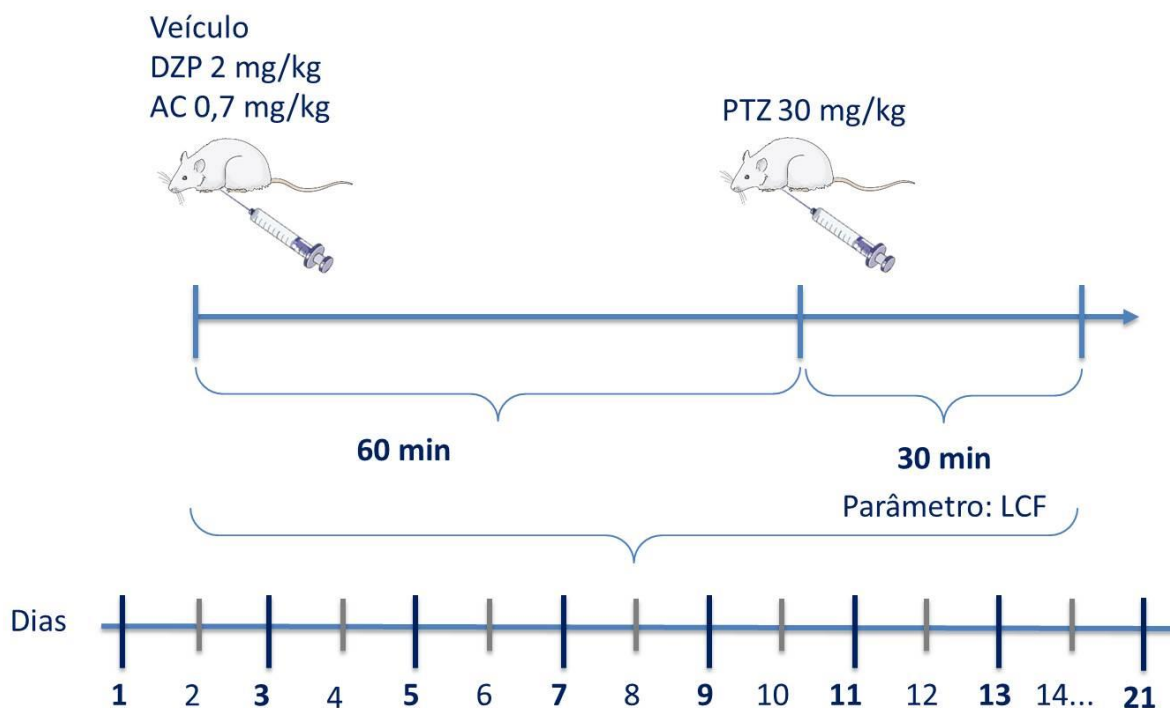
HE: hematoxilina e eosina.

4.3.5. Modelo de abrasamento químico induzido por PTZ (*kindling* químico)

Os roedores foram distribuídos em grupos ($n=8$) e pré-tratados (i.p.) com veículo (*Tween* 80 a 5% em solução salina) ou diazepam (2 mg/kg) ou AC (0,7 mg/kg). Decorridos 60 minutos, cada animal recebeu uma injeção de PTZ (30 mg/kg, i.p.), sendo imediatamente observado quanto à latência, em segundos, para o aparecimento da primeira crise epiléptica tônico-clônica bilateral focal, durante

30 minutos (ERKEC; ARIHAN, 2015; DHIR, 2012). O procedimento acima descrito foi repetidamente realizado em dias alternados, durante 21 dias (Figura 13).

Figura 13 - Desenho experimental do modelo de abrasamento químico.



LCF: latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica bilateral focal.

4.4. Análise estatística

Os resultados que obedeceram a uma distribuição normal de frequência foram analisados por métodos paramétricos (ANOVA de uma ou duas vias), seguida pelo teste de *Tukey* (quando a comparação foi realizada entre três ou mais grupos) ou pelo teste *t* não pareado (quando comparados apenas dois grupos). Nos gráficos, os dados paramétricos foram expressos em média \pm erro padrão da média (E.P.M.).

As variáveis ordinais, por não obedecerem a uma distribuição normal de frequência, foram analisadas por métodos não paramétricos (teste de *Kruskal-Wallis* seguidos pelo teste de *Dunns*) e os resultados foram apresentados em mediana e os percentis 25 e 75. Para todas as análises foi considerado o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade os valores menores que 0,05 ($p < 0,05$). As análises foram realizadas utilizando o *software* GraphPad Prism 6.0.



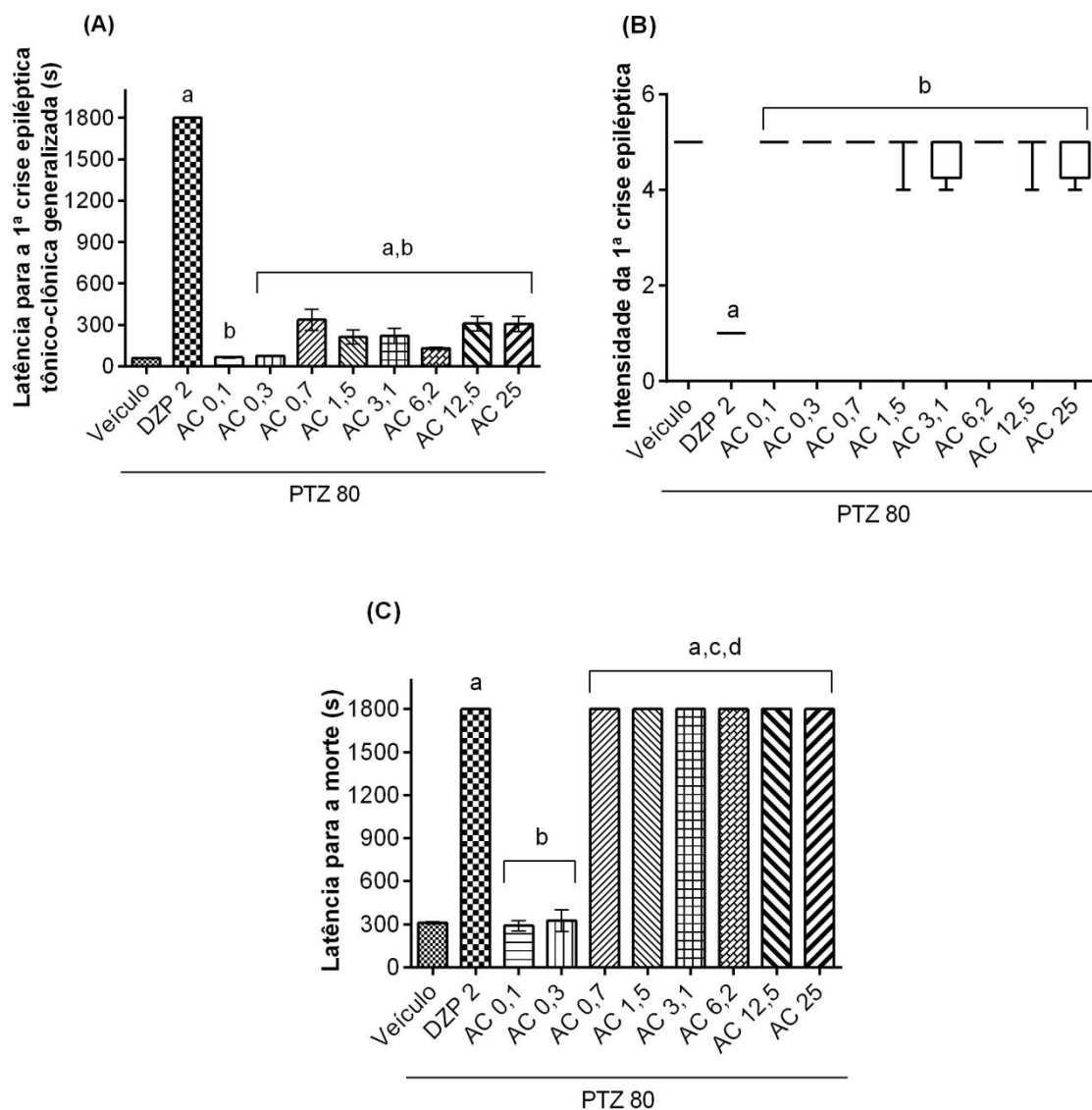
RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Crises epilépticas induzidas por PTZ

O AC + PTZ 80 aumentou a latência para a primeira crise tônico-clônica generalizada em 18,9% (0,3 mg/kg), 81,7% (0,7 mg/kg), 71,1% (1,5 mg/kg), 72,0% (3,1 mg/kg), 52,5% (6,2 mg/kg), 80,0% (12,5 mg/kg) e 79,9% (25 mg/kg) em relação ao grupo veículo + PTZ 80 (Gráfico 1A e Tabela 1). No entanto, não foi observada diferença significativa entre os grupos tratados com o AC + PTZ 80 e o grupo veículo + PTZ 80 em relação à intensidade da crise (Gráfico 1B e Tabela 1). Por outro lado, o AC (0,7 - 25 mg/kg) + PTZ 80 aumentou significativamente a latência para a morte, quando comparado ao grupo veículo + PTZ 80, em 82,7% (Gráfico 1C e Tabela 1). Adicionalmente, 100% dos animais pré-tratados com o AC (0,7 - 25 mg/kg) e que receberam o PTZ 80 sobreviveram 72h após o teste (Tabela 2).

Gráficos 1 - Efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (A), intensidade da 1ª crise epiléptica (B) e latência para a morte (C) (n=8).



Os gráficos 'A' e 'C' representam a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) analisada através da ANOVA de uma via seguido pelo teste de *Tukey* (*post hoc*) e teste *t* não pareado. O gráfico 'B' representa a mediana (percentil 25 - percentil 75) analisada por *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de *Dunns* (*post hoc*). Valores significativos quando $p < 0,05$: "a", "b", "c" e "d" vs Veículo + PTZ 80, DZP 2 + PTZ 80, AC 0,1 + PTZ 80 e AC 0,3 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg. AC: álcool cinâmico. PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

Tabela 1 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (**LC**), intensidade da 1ª crise epiléptica (**IC**) e latência para a morte (**LM**).

Grupos/Tratamentos (n=8)	LC Média ± E.P.M.	IC Mediana	LM Média ± E.P.M.
Veículo + PTZ 80 (a)	61,6 ± 0,9s	5,0	310,3 ± 6,9s
DZP 2 + PTZ 80 (b)	1800 ± 0,0s ^(a)	1,0 ^(a)	1800 ± 0,0s ^(a)
AC 0,1 + PTZ 80 (c)	65,7 ± 5,5s ^(b)	5,0 ^(b)	291,2 ± 36,3s ^(b)
AC 0,3 + PTZ 80 (d)	76,0 ± 2,5s ^(a,b)	5,0 ^(b)	325,4 ± 74,9s ^(b)
AC 0,7 + PTZ 80 (e)	337,1 ± 76,1s ^(a,b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d)
AC 1,5 + PTZ 80 (f)	213,3 ± 50,6s ^(a,b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d)
AC 3,1 + PTZ 80 (g)	220,3 ± 54,4s ^(a,b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d)
AC 6,2 + PTZ 80 (h)	130,0 ± 7,4s ^(a,b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d)
AC 12,5 + PTZ 80 (i)	309,5 ± 52,8s ^(a,b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d)
AC 25 + PTZ 80 (j)	307,6 ± 55,1s ^(a,b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d)

Valores significativos quando $p < 0,05$: “a”, “b”, “c” e “d” vs Veículo + PTZ 80, DZP 2 + PTZ 80, AC 0,1 + PTZ 80 e AC 0,3 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC: álcool cinâmico; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; E.P.M.: erro padrão da média.

Tabela 2 - Porcentagem dos camundongos que sobreviveram após 72h.

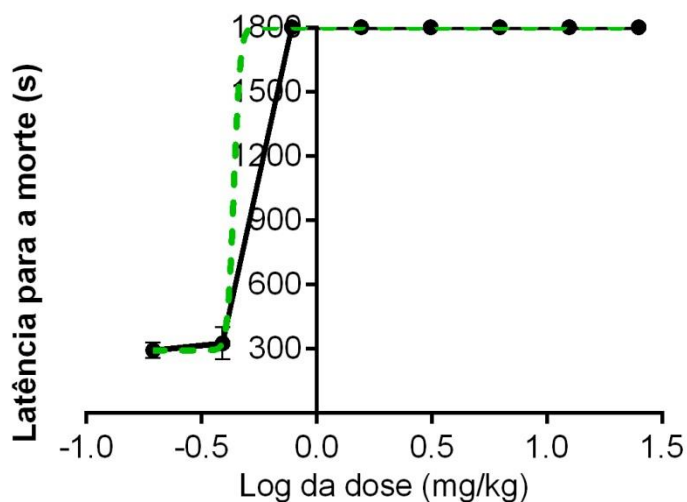
Grupos/Tratamentos (n=8)	% de sobrevivência
Veículo + PTZ 80	0
DZP 2 + PTZ 80	100
AC 0,1 + PTZ 80	25
AC 0,3 + PTZ 80	25
AC 0,7 + PTZ 80	100
AC 1,5 + PTZ 80	100
AC 3,1 + PTZ 80	100
AC 6,2 + PTZ 80	100
AC 12,5 + PTZ 80	100
AC 25 + PTZ 80	100

DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC: álcool cinâmico; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

5.2. Curva dose-resposta

De acordo com os resultados obtidos na latência para a morte, foi construída uma curva dose-resposta (Gráfico 2). Observa-se que a menor dose do AC que apresentou 100% de resposta, frente o parâmetro latência para a morte, foi 0,7 mg/kg (log = -0,1). Baseado nessa informação, todos os testes e análises posteriores foram realizados apenas com a dose supracitada.

Gráfico 2 - Curva dose-resposta do AC sobre a latência para a morte (n=8).

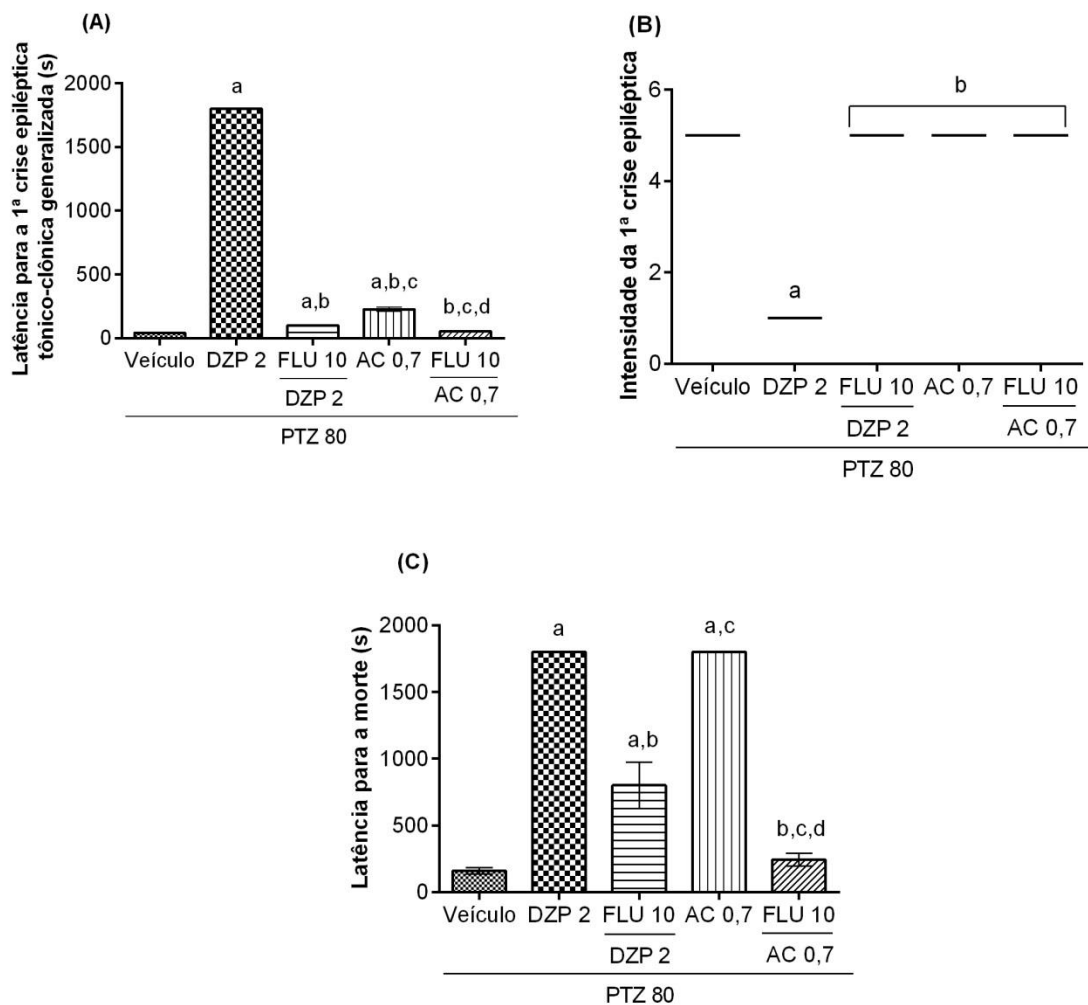


Os círculos preenchidos representam a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) em função do Log da dose (mg/kg) = -0,7 (AC 0,1 mg/kg), -0,4 (AC 0,3 mg/kg), -0,1 (AC 0,7 mg/kg), 0,1 (AC 1,5 mg/kg), 0,4 (AC 3,1 mg/kg), 0,7 (AC 6,2 mg/kg), 1,0 (AC 12,5 mg/kg), 1,3 (AC 25 mg/kg).

5.3. Antagonismo por flumazenil

O AC 0,7 + PTZ 80 aumentou a latência para a primeira crise epiléptica tônico-clônica generalizada em 81,1% em relação ao grupo veículo + PTZ 80. Por outro lado, quando associado ao flumazenil, o efeito do AC 0,7 mg/kg foi reduzido em 76,0% em relação ao grupo que recebeu apenas o AC 0,7 + PTZ 80 (Gráfico 3A e Tabela 3). No entanto, nenhuma alteração foi observada quanto a intensidade da 1ª crise epiléptica dos animais em relação ao grupo veículo + PTZ 80 (Gráfico 3B e Tabela 3). Por fim, o AC 0,7 + PTZ 80 aumentou a latência para a morte em 91,1% em relação ao grupo veículo + PTZ 80. Porém, a associação entre flumazenil e AC 0,7 mg/kg reduziu a latência para a morte em 86,4% em relação ao grupo que recebeu apenas o AC 0,7 + PTZ 80 (Gráfico 3C e Tabela 3). Adicionalmente, a porcentagem de sobrevivência dos animais pré-tratados com a associação flumazenil e AC 0,7 mg/kg foi de 0% em relação ao grupo que recebeu apenas o AC 0,7 + PTZ 80 (100%) (Tabela 4).

Gráficos 3 - Efeito do AC, na presença flumazenil, sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (A), intensidade da 1ª crise epiléptica (B) e a latência para a morte (C) (n=8).



Os gráficos 'A' e 'C' representam a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) analisada através da ANOVA de uma via seguido pelo teste de *Tukey (post hoc)* e teste *t* não pareado. O gráfico 'B' representa a mediana (percentil 25 - percentil 75) analisada por *Kruskal-Wallis* seguido pelo teste de *Dunns (post hoc)*. Valores significativos quando $p < 0,05$: "a", "b", "c" e "d" vs Veículo + PTZ 80, DZP 2 + PTZ 80, FLU 10 + DZP 2 + PTZ 80 e AC 0,7 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; FLU 10: flumazenil 10 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

Tabela 3 - Coluna estatística do efeito do AC, na presença flumazenil, sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (**LC**), intensidade da 1ª crise epiléptica (**IC**) e latência para a morte (**LM**).

Grupos/Tratamentos (n=8)	LC Média ± E.P.M.	IC Mediana	LM Média ± E.P.M.
Veículo + PTZ 80 (a)	43,0 ± 1,2s	5,0	159,4 ± 23,4s
DZP 2 + PTZ 80 (b)	1800 ± 0,0s ^(a)	1,0 ^(a)	1800 ± 0,0s ^(a)
FLU 10 + DZP 2 + PTZ 80 (c)	101,1 ± 6,9s ^(a,b)	5,0 ^(b)	802,1 ± 173,8s ^(a,b)
AC 0,7 + PTZ 80 (d)	228,0 ± 16,4s ^(a,b,c)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c)
FLU 10 + AC 0,7 + PTZ 80 (e)	54,5 ± 1,9s ^(b,c,d)	5,0 ^(b)	244,5 ± 47,5s ^(b,c,d)

Valores significativos quando $p < 0,05$: “a”, “b”, “c” e “d” vs Veículo + PTZ 80, DZP 2 + PTZ 80, FLU 10 + DZP 2 + PTZ 80 e AC 0,7 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; FLU 10: flumazenil 10 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; E.P.M.: erro padrão da média.

Tabela 4 - Porcentagem dos camundongos que sobreviveram após 72h.

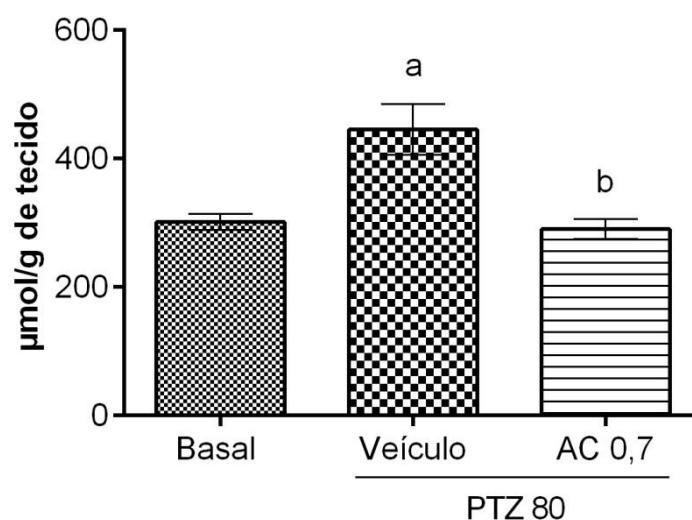
Grupos/Tratamentos (n=8)	% de sobrevivência
Veículo + PTZ 80	0
DZP 2 + PTZ 80	100
FLU 10 + DZP 2 + PTZ 80	12,5
AC 0,7 + PTZ 80	100
FLU 10 + AC 0,7 + PTZ 80	0

DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; FLU 10: flumazenil 10 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

5.4. Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS - MDA)

Nessa análise observou-se que o veículo + PTZ 80 aumentou em 32,3% a concentração de malondialdeído (MDA) em relação ao grupo basal. Por outro lado, o AC 0,7 + PTZ 80 reduziu a concentração de MDA hipocampal em 34,8% em relação ao grupo veículo + PTZ 80 a níveis basais (Gráfico 4 e Tabela 5).

Gráfico 4 - Efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de MDA em homogenato de hipocampo de camundongos ($n=8$).



O gráfico representa a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) analisada através da ANOVA de uma via seguido pelo teste de *Tukey (post hoc)*. Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” e “b” vs Basal e Veículo + PTZ 80, respectivamente. AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; MDA: malondialdeído.

Tabela 5 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de MDA.

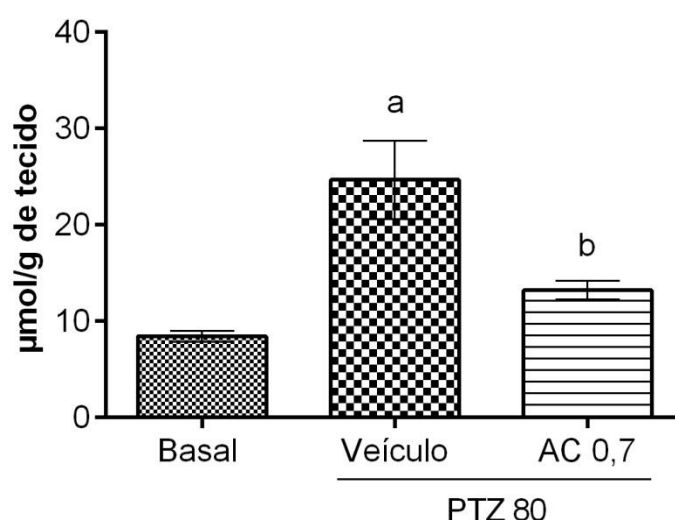
Grupos/Tratamentos (n=8)	Média \pm E.P.M.
Basal (a)	301,2 \pm 12,4 $\mu\text{mol/g}$
Veículo + PTZ 80 (b)	445,5 \pm 39,6 $\mu\text{mol/g}$ ^(a)
AC 0,7 + PTZ 80 (c)	290,4 \pm 15,2 $\mu\text{mol/g}$ ^(b)

Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” e “b” vs Basal e Veículo + PTZ 80, respectivamente. AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; MDA: malondialdeído; E.P.M.: erro padrão da média.

5.5. Concentração de nitrito

O veículo + PTZ 80 aumentou em 65,8% a concentração de nitrito em relação ao grupo basal. Por outro lado, o AC 0,7 + PTZ 80 reduziu a concentração de nitrito no hipocampo em 46,3% em relação ao grupo veículo + PTZ 80 próximo a níveis basais (Gráfico 5 e Tabela 6).

Gráfico 5 - Efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de nitrito em homogenato de hipocampo de camundongos ($n=8$).



O gráfico representa a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) analisada através da ANOVA de uma via seguido pelo teste de *Tukey* (*post hoc*). Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” e “b” vs Basal e Veículo + PTZ 80, respectivamente. AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

Tabela 6 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{mol/g}$) de nitrito.

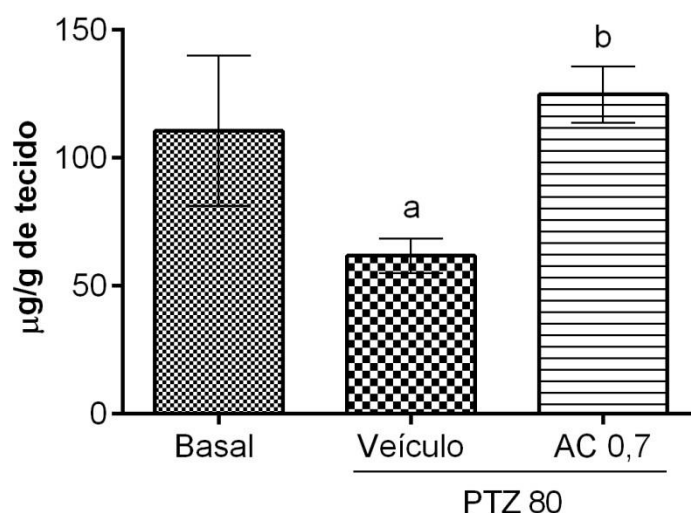
Grupos/Tratamentos (n=8)	Média \pm E.P.M.
Basal (a)	8,4 \pm 0,5 $\mu\text{mol/g}$
Veículo + PTZ 80 (b)	24,6 \pm 4,0 $\mu\text{mol/g}$ ^(a)
AC 0,7 + PTZ 80 (c)	13,2 \pm 0,9 $\mu\text{mol/g}$ ^(b)

Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” e “b” vs Basal e Veículo + PTZ 80, respectivamente. AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; E.P.M.: erro padrão da média.

5.6. Concentração de glutathiona reduzida (GSH)

Por fim, o veículo + PTZ 80 diminuiu em 44,1% a concentração de GSH em relação ao grupo basal. Por outro lado, o AC 0,7 + PTZ 80 aumentou a concentração hipocampal de GSH em 50,5% em relação ao grupo veículo + PTZ 80 a níveis basais (Gráfico 6 e Tabela 7).

Gráfico 6 - Efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{g/g}$) de GSH em homogenato de hipocampo de camundongos ($n=8$).



O gráfico representa a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) analisada através da ANOVA de uma via seguido pelo teste de *Tukey* (*post hoc*). Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” e “b” vs Basal e Veículo + PTZ 80, respectivamente. AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; GSH: glutathiona reduzida.

Tabela 7 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a concentração ($\mu\text{g/g}$) de GSH.

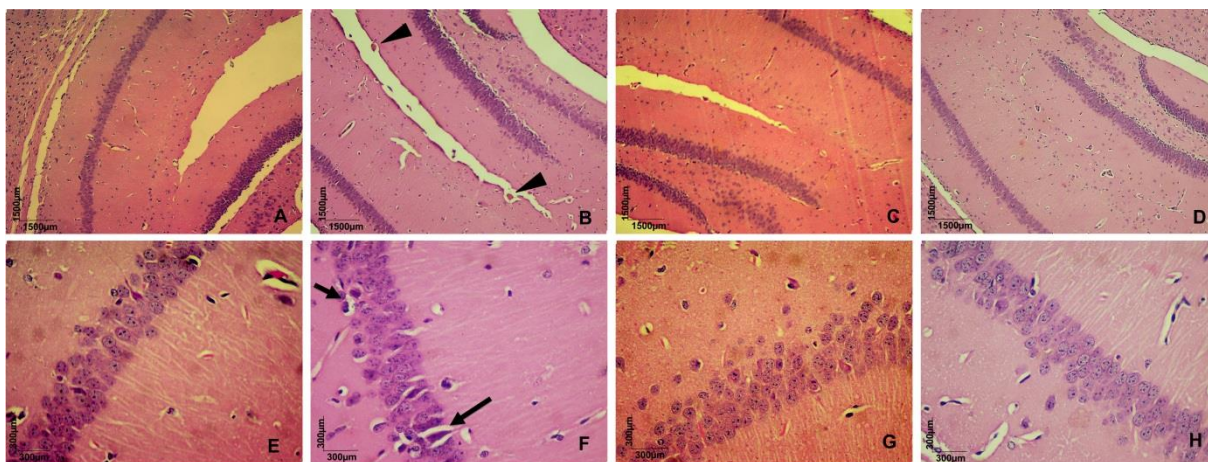
Grupos/Tratamentos (n=8)	Média \pm E.P.M.
Basal (a)	110,5 \pm 29,4 $\mu\text{g/g}$
Veículo + PTZ 80 (b)	61,7 \pm 6,7 $\mu\text{g/g}$ ^(a)
AC 0,7 + PTZ 80 (c)	124,8 \pm 10,9 $\mu\text{g/g}$ ^(b)

Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” e “b” vs Basal e Veículo + PTZ 80, respectivamente. AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; GSH: glutathiona reduzida; E.P.M.: erro padrão da média.

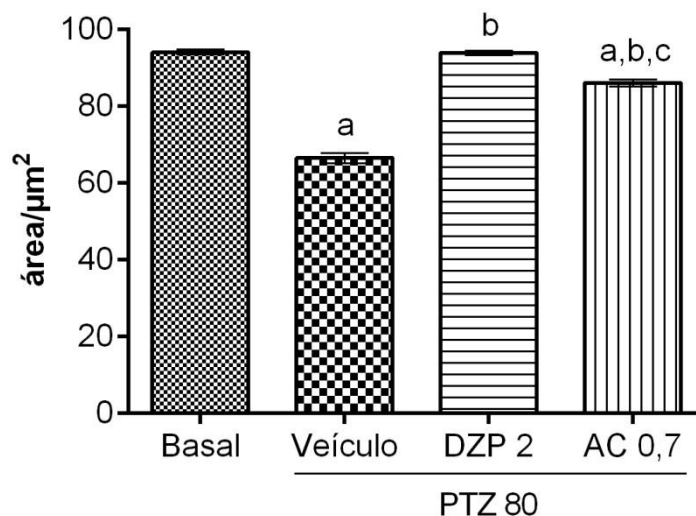
5.7. Análises histomorfométricas do hipocampo

Na figura 14 são mostrados cortes histológicos do hipocampo corado com hematoxilina e eosina. As imagens A e E evidenciam neurônios preservados em todas as regiões analisadas com ausência de reação vascular, compatível com a normalidade. Nos animais do grupo veículo + PTZ 80 (B e F), observa-se intensa morte de neurônios (29,3%) em relação ao grupo basal, por padrão compatível a apoptose (seta) e reação vascular em diversas regiões, de forma diversa, em especial em CA1, CA2 e giro dentado (cabeça da seta). Por outro lado, nos animais tratados com o DZP 2 + PTZ 80 (C e G) ou AC 0,7 + PTZ 80 (D e H), observa-se ausência de reação vascular e preservação dos neurônios hipocampais em 29,1% e 22,7%, respectivamente, em relação ao grupo veículo + PTZ 80 (Gráfico 7 e Tabela 8).

Figura 14 - Cortes histológicos do hipocampo corado em hematoxilina e eosina.



Aumento 40x. Setas: apoptose. Cabeça das setas: reação vascular. Basal (A e E), Veículo + PTZ 80 (B e F), DZP 2 + PTZ 80 (C e G), AC 0,7 + PTZ 80 (D e H). DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

Gráfico 7 - Grau de preservação de neurônios hipocampais.

O gráfico representa a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) analisada através da ANOVA de uma via seguido pelo teste de *Tukey* (*post hoc*). Valores significativos quando $p < 0,05$: “a”, “b” e “c” vs Basal, Veículo + PTZ 80 e DZP 2 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

Tabela 8 - Coluna estatística do grau de preservação de neurônios hipocampais (área/ μm^2).

Grupos/Tratamentos (n=8)	Média \pm E.P.M.
Basal (a)	94,0 \pm 0,6 μm^2
Veículo + PTZ 80 (b)	66,4 \pm 1,3 μm^2 (a)
DZP + PTZ 80 (c)	93,8 \pm 0,6 μm^2 (b)
AC 0,7 + PTZ 80 (d)	86,0 \pm 0,8 μm^2 (a,b,c)

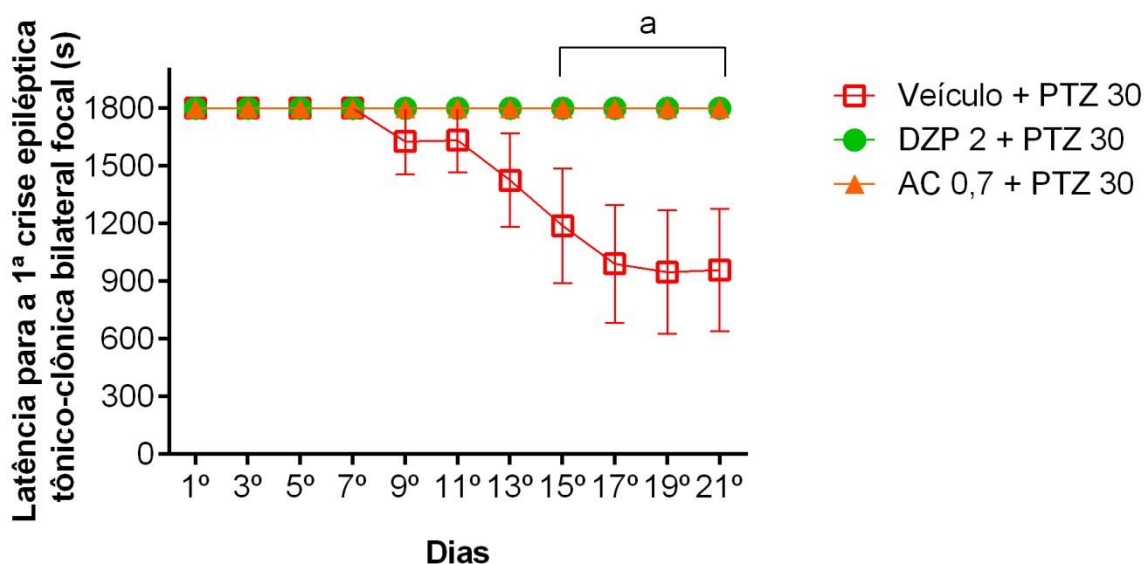
Valores significativos quando $p < 0,05$: “a”, “b” e “c” vs Basal, Veículo + PTZ 80 e DZP 2 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg; E.P.M.: erro padrão da média.

5.8. Abrasamento químico

Camundongos pré-tratados com o AC 0,7 mg/kg, em dias alternados, durante 21 dias não apresentaram crises epiléticas ou comportamento epileptogênico que indicasse o desenvolvimento de um estado de mal epilético convulsivo em relação ao grupo veículo + PTZ 30. Em valores percentuais os grupos DZP 2 + PTZ 30 e AC 0,7 + PTZ 30 aumentaram entre 33,9% e 47,3% (15º dia - 33,9%, 17º dia - 44,9%, 19º dia - 47,3% e 21º dia - 46,7%) a latência para a primeira

crise epiléptica tônico-clônica bilateral focal em relação ao grupo veículo + PTZ 30 entre o 15^o e 21^o dia (Gráfico 8 e Tabela 9).

Gráfico 8 - Efeito do AC sobre a latência para a 1^a crise epiléptica tônico-clônica bilateral focal (n=8), durante 21 dias.



O gráfico representa a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) analisada através da ANOVA de duas vias seguido pelo teste de *Tukey* (*post hoc*). Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” vs Veículo + PTZ 30. DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 30: pentilenotetrazol 30 mg/kg.

Tabela 9 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a latência para a 1^a crise epiléptica tônico-clônica bilateral focal, durante 21 dias.

Grupos/ Tratamentos (n=8)	Dias											
	1º	3º	5º	7º	9º	11º	13º	15º	17º	19º	21º	
Veículo + PTZ 30 (a)	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1627,5 \pm 172,5s	1634,0 \pm 166,0s	1426,5 \pm 244,5s	1188,7 \pm 298,2s	991,1 \pm 306,4s	948,2 \pm 321,9s	959,1 \pm 317,8s	
DZP 2 + PTZ 30 (b)	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s ^(a)	1800 \pm 0,0s ^(a)	1800 \pm 0,0s ^(a)	1800 \pm 0,0s ^(a)	
AC 0,7 + PTZ 30 (c)	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s	1800 \pm 0,0s ^(a)	1800 \pm 0,0s ^(a)	1800 \pm 0,0s ^(a)	1800 \pm 0,0s ^(a)	

Os números representam a média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Valores significativos quando $p < 0,05$: “a” vs Veículo + PTZ 30. DZP 2: diazepam 2 mg/kg; AC 0,7: álcool cinâmico 0,7 mg/kg; PTZ 30: pentilenotetrazol 30 mg/kg.



DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Indivíduos com epilepsia, quando não tratados adequadamente, podem desenvolver neurodegeneração progressiva após constantes crises epiléticas decorrentes de três importantes eventos moleculares: excitotoxicidade, estresse oxidativo e neuroinflamação (BELL *et al.*, 2011; HELMSTAEDTER; ELGER, 2009). Esses eventos estão intimamente associados à morte celular e consequente atrofia cortical e hipocampal (TAI *et al.*, 2018; THOMPSON *et al.*, 2015; BLACK *et al.*, 2010). Diante disso, acredita-se que novos antiepiléticos com perfil neuroprotetor possam ser uma alternativa eficaz para interromper a progressão da neurodegeneração associada às epilepsias (BRENNEMAN *et al.*, 2012).

A literatura científica relacionada demonstra que agentes pró-convulsivantes são capazes de induzir em animais anormalidades neurodegenerativas e comportamentais (MÜLLER *et al.*, 2009; GRÖTICKE; HOFFMANN; LÖSCHER, 2008; JIA *et al.* 2006). O pentilenotetrazol (PTZ) é um composto amplamente utilizado em modelos de distúrbios neurológicos por ser capaz de induzir, em animais, crises epiléticas mioclônicas, crises epiléticas tônico-clônicas generalizadas, crises de ausência, crises epiléticas tônico-clônicas bilaterais focais (abrasamento químico) e causar morte celular neuronal, a depender do método e da dose aplicada (AKDOGAN; YONGUC, 2011). O PTZ é um antagonista não competitivo dos receptores GABA_A e induz uma cascata de eventos neurotóxicos que se iniciam através do desenvolvimento da hiperexcitabilidade neuronal mediada pela ativação excessiva dos receptores NMDA pelo glutamato, causando a excitotoxicidade (RAKHADE *et al.*, 2012; EKONOMOU; ANGELATOU, 1999), aumento do estresse oxidativo (PATSOUKIS *et al.*, 2004) e indução de mecanismos neuroinflamatórios (KOŁOSOWSKA *et al.*, 2014).

Estudos anteriores já haviam relatado o potencial neuroprotetor, *in vivo* e *in vitro*, de compostos cinâmicos derivados da canela frente a modelos de doenças neurodegenerativas, como *Alzheimer* e *Parkinson* (MODI *et al.*, 2015; STAVINOHA; VATTEM, 2015; KHASNAVIS; PAHAN, 2014; JANA *et al.*, 2013; KHASNAVIS; PAHAN, 2012; ESSA *et al.*, 2012; FRYDMAN-MAROM *et al.*, 2011). No entanto, o presente trabalho é o primeiro relato da atividade farmacológica do álcool cinâmico (AC) em modelos animais de crises epiléticas. Nesse estudo, o AC, em doses a partir de 0,7 mg/kg, apresentou importante atividade antiepilética e neuroprotetora

frente às crises epiléticas induzidas pela administração aguda e repetida do PTZ em camundongos. De fato, a construção de uma curva dose-resposta mostrou que a menor dose mais efetiva do AC, capaz de proteger 100% dos animais, foi de 0,7 mg/kg. Portanto, com esta dose, foram investigados os possíveis mecanismos envolvidos na atividade neuroprotetora, através de análises que permitissem avaliar se o AC é capaz de: diminuir fatores promotores do estresse oxidativo, aumentar a eficiência do sistema antioxidante cerebral, reduzir a neuroinflamação, aumentar a preservação neuronal e modular positivamente o receptor GABA_A.

É conhecido que a redução da concentração de ácido γ -aminobutírico (GABA) e/ou da atividade do receptor GABA_A está associada a um controle inadequado das crises epiléticas (PETROFF *et al.*, 1996). Para avaliar se o AC 0,7 mg/kg estaria atuando sobre a neurotransmissão GABAérgica, foi realizado o teste de antagonismo com o flumazenil, antagonista seletivo do sítio de ligação dos benzodiazepínicos no receptor GABA_A (HAMMERS, 2004). Através deste teste pôde-se observar que os efeitos antiepilético e neuroprotetor do AC 0,7 mg/kg, anteriormente observados, foram reduzidos significativamente na presença do flumazenil, sugerindo que os efeitos do AC podem ser atribuídos, em parte, a sua interação com o sítio benzodiazepínico no receptor GABA_A. O estudo de De Andrade e colaboradores (2020) corrobora com nossos achados, visto que os autores mostraram através de teste *in silico* (*docking* molecular) que o AC possui alta afinidade de interação com o receptor GABA_A e que essa modulação positiva pode estar diretamente relacionada aos seus efeitos *in vivo* sobre o sistema nervoso central. Por sua vez, outros estudos mostraram que compostos fenilpropanoides, derivados do AC, possuem efeito neuroprotetor em modelos de crises epiléticas, também, por potencializarem a atividade do sistema GABAérgico, provavelmente por promoverem aumento da biodisponibilidade do GABA ou por atuação direta sobre o receptor GABA_A (BELEMKAR; KUMAR; PATA, 2013; GUNIA *et al.*, 2012; GUAN *et al.*, 2009; BALSAMO *et al.*, 1975). Esses achados podem, portanto, indicar que o AC é capaz de reduzir, direta ou indiretamente, a excitotoxicidade glutamatérgica e a hiperatividade neuronal induzida pelo PTZ ao potencializar a atividade GABAérgica possivelmente via ativação do sítio benzodiazepínico do receptor GABA_A.

Nesse contexto, sabe-se que compostos com perfil benzodiazepínico podem bloquear a peroxidação lipídica e promover efeitos antioxidantes após estresses agudos (MÉNDEZ-CUESTA *et al.*, 2011; MUSAVI; KAKKAR, 2000). Por sua vez,

estudos mostraram a eficácia de compostos com propriedades antioxidantes no controle de crises epiléticas e na prevenção da lesão cerebral mediada por estímulos neurotóxicos (DA FONSÊCA *et al.*, 2019; MOJARAD; ROGHANI, 2014; SHARMA *et al.*, 2010; KORKINA, 2007; COSTELLO; DELANTY, 2004). O estresse oxidativo no cérebro é cada vez mais reconhecido como uma via comum de morte celular em muitas doenças neurológicas crônicas, como as epilepsias (AGUIAR *et al.*, 2012). Quando espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio não são efetivamente neutralizadas, estas podem causar lesão celular oxidativa através da peroxidação dos fosfolípidios de membrana, de proteínas (receptores e enzimas) e do DNA, resultando em apoptose (POH LOH *et al.*, 2006). As crises epiléticas induzidas por PTZ causam um aumento do estresse oxidativo que pode ser avaliado através da quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, como o malondialdeído (MDA), e do nitrito, metabólitos da peroxidação lipídica e do óxido nítrico (NO), respectivamente (ILHAN *et al.*, 2005; DEVASAGAYAM; BOLOOR; RAMASARMA, 2003; RAUCA; ZERBE; JANTZE, 1999; ESTERBAUER, 1996). Diante disso, foi analisado o efeito do AC 0,7 mg/kg sobre a concentração de MDA e nitrito em hipocampo de camundongos tratados com PTZ.

As análises neuroquímicas mostraram que o AC 0,7 mg/kg reduziu significativamente os níveis de MDA e nitrito no hipocampo de camundongos após a administração aguda do PTZ. É conhecido que a micróglia e células neuronais em situações de estresse geram o ânion superóxido (O_2^-) e o radical NO, que podem reagir entre si para formar o ânion peroxinitrito ($ONOO^-$). O peroxinitrito é um poderoso agente oxidante capaz de iniciar a peroxidação lipídica, causar morte neuronal e oxidar compostos antioxidantes lipossolúveis (MANDER; BROWN, 2005; HOGG; KALYANARAMAN, 1999; RADI *et al.*, 1991). Adicionalmente, o NO também pode ativar receptores de rianodina tipo 1, no retículo endoplasmático, e aumentar a liberação e a concentração de Ca^{2+} citosólico ($[Ca^{2+}]_c$) que resultará, entre outros efeitos, na geração de radicais livres, bem como no aumento da excitose de glutamato e consequente excitotoxicidade mediada pela ativação excessiva dos receptores NMDA, ambos importantes mecanismos de morte neuronal induzida por crises epiléticas (MIKAMI *et al.*, 2016; BAL-PRICE; BROWN, 2001). O NO, como mediador pró-inflamatório, também, é um fator chave para o início de eventos que aumentam a atividade epilética e neuroinflamatória em camundongos (KOVÁCS *et al.*, 2009). De acordo com Lee (2009), o AC foi capaz de inibir a produção de NO por

suprimir a expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), bem como por inibir as Rho-cinases (Rac e Cdc42 - pequenas GTPases) (KANG *et al.*, 2012). O estudo de Liao *et al.* (2012), mostrou que o aldeído cinâmico, metabólito ativo do AC, reduziu os níveis de NO, MDA e a atividade da mieloperoxidase (MPO), além de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes endógenas (catalase, superóxido dismutase – SOD e glutathiona peroxidase – GSH-Px). Diante desse contexto, pode-se sugerir que o AC possa, direta ou indiretamente, reduzir o estresse oxidativo ao diminuir os níveis de NO e, conseqüentemente, reduzir a $[Ca^{2+}]_c$, que por sua vez reduzirá as crises epilépticas e a lesão oxidativa da membrana dos neurônios hipocampais.

Por outro lado, sabe-se que existem sistemas antioxidantes endógenos de defesa no cérebro, tais como os sistemas não enzimáticos (moléculas de origem alimentar) e enzimáticos. Os sistemas enzimáticos envolvem as enzimas do ciclo redox da glutathiona, particularmente a GSH-Px, glutathiona redutase (GR) e glutathiona oxidase (GO), bem como a catalase e a SOD (SHIM; KIM, 2013; ROVER JÚNIOR *et al.*, 2001). A glutathiona é um antioxidante tripeptídeo tiol (composto por três aminoácidos: glutamato, cisteína e glicina) que atua direta ou indiretamente em processos biológicos importantes, incluindo a síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular contra o dano oxidativo (RAE; WILLIAMS, 2017; MEISTER; ANDERSON, 1983). A glutathiona existe no organismo nas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), e tem seus níveis negativamente afetados em situações de alta $[Ca^{2+}]_c$, logo a perda do suporte antioxidante da GSH é um fator que torna as células cerebrais susceptíveis a danos oxidativos associados a doenças neurodegenerativas (ABRAMOV; CANEVARI; DUCHEN, 2003). De acordo com análises neuroquímicas, o pré-tratamento com o AC 0,7 mg/kg aumentou a concentração de GSH, no hipocampo de camundongos submetidos à administração aguda do PTZ, para dentro dos níveis normais, sugerindo que esse composto é capaz de auxiliar na eficiência da resposta do sistema antioxidante cerebral frente a situações de estresses agudos. Compostos capazes de regular positivamente a síntese de GSH são importantes no processo de sobrevivência celular (ZHOU; FREED, 2005). A GSH é capaz de facilitar as vias de desintoxicação dependentes do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2 - *nuclear factor erythroid 2-related factor 2*), fator envolvido na transcrição de genes que codificam enzimas antioxidantes, tais como a catalase, SOD e GSH-Px (HUBER; ALMEIDA; FÁTIMA, 2008; CLEMENTS

et al., 2006). A GSH também pode inibir a fosfatase homóloga à tensina (PTEN) (KIM *et al.*, 2010). A PTEN é um gene que pode induzir apoptose e a interrupção do ciclo celular (WENG; BROWN; ENG, 2001) ao codificar proteínas que bloqueiam a ação da PI3K (fosfatidilinositol 3-cinase) e inibição da fosforilação da proteína cinase B (Akt/PKB). A fosforilação da Akt/PKB é uma via essencial para sobrevivência e proliferação celular (SONG; OUYANG; BAO, 2005). O aldeído cinâmico, derivado do AC, também se mostrou ser um potente ativador do fator Nrf2 (CABELLO *et al.*, 2009). Portanto, o aumento da concentração de GSH após o tratamento com o AC também parece estar associado à proteção dos neurônios do hipocampo contra o dano oxidativo induzido pela administração aguda do PTZ. Como a alta $[Ca^{2+}]_c$ afeta negativamente os níveis de GSH (ABRAMOV; CANEVARI; DUCHEN, 2003), sugere-se que a capacidade do AC em potencializar o receptor GABA_A e diminuir a produção de NO, sejam mecanismos pelos quais o AC possa indiretamente reduzir a $[Ca^{2+}]_c$ e, conseqüentemente, aumentar a concentração de GSH.

Vezzani *et al.* (2011) forneceram fortes evidências sobre o papel da neuroinflamação como causa e consequência do desenvolvimento de crises epiléticas. Sabe-se que o aumento da atividade do glutamato, em decorrência da aplicação do PTZ, pode levar à neuroinflamação exacerbada, um processo altamente neurotóxico e intimamente relacionado ao dano neuronal, principalmente pelo aumento da expressão e ação de mediadores pró-inflamatórios liberados pela micróglia ativada (M1) no hipocampo, como o NO, a interleucina-1 β (IL-1 β) e a via cicloxigenase-2/prostaglandina E₂ (COX-2/PGE₂) (KOŁOSOWSKA *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2008b). Análises histomorfométricas mostraram não haver reação inflamatória, caracterizado pela ausência de reação vascular, mas sim o aumento da preservação neuronal no hipocampo de camundongos pré-tratados com o AC 0,7 mg/kg e submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas por PTZ.

Como descrito anteriormente, Lee (2009) mostrou que o AC foi capaz de inibir a produção de NO por suprimir a expressão da iNOS. Adicionalmente, ensaios imunoenzimáticos mostraram que o AC, de maneira dependente da concentração, inibiu a liberação de PGE₂ em células endoteliais estimuladas por IL-1 β , possivelmente por inibir a atividade da COX-2 (GUO *et al.* 2006; GUO; YANG; ZHAO, 2006). Análises de *docking* molecular também sugeriram alta capacidade de interação do AC com a enzima COX-2 (dados não publicados). Portanto, sugerimos que a capacidade do AC em inibir a expressão e ação das enzimas iNOS e COX-2,

respectivamente, também possa ocorrer em células da glia (micróglia), bem como no músculo liso e endotélio dos vasos sanguíneos cerebrais dos camundongos diminuindo a geração de NO e PGE₂ e, conseqüentemente, reduzindo efeitos pró-inflamatórios no hipocampo (STEBBING; COTTEE; RANA, 2015; KAUSHAL *et al.*, 2007) como reações vasculares (dilatação e aumento da permeabilidade da BHE) que resultaria na migração de células inflamatória periféricas para o tecido cerebral (DA FONSECA *et al.*, 2014; SAKURAI *et al.*, 2013; BUSIJA; LEFFLER, 1989). Theodosios-Nobelos *et al.* (2015) também atribuíram efeito anti-inflamatório ao AC em função da sua capacidade de inibir a enzima lipoxigenase. A lipoxigenase é uma enzima importante no metabolismo do ácido araquidônico e produz como principais metabólitos os leucotrienos, os quais também medeiam respostas inflamatórias cerebrais (HAEGGSTRÖM; FUNK, 2011; ADESUYI *et al.*, 1985). Portanto, esses dados permitem sugerir que o efeito neuroprotetor do AC, também, possa estar associado à sua capacidade de inibir importantes enzimas pró-inflamatórias e, portanto, impedir a instalação de um processo neuroinflamatório exacerbado.

É conhecido que o AC pode ser metabolizado no fígado e gerar metabólitos ativos: aldeído cinâmico, ácido cinâmico e benzoato (AMORIM; PESTANA; MENDES, 2017). Uma importante revisão reuniu estudos que reportaram evidências dos efeitos antioxidante, anti-inflamatório e neuroprotetor desses metabólitos através de diferentes mecanismos moleculares (MONTEIRO *et al.*, 2021). O benzoato é um potente agente neuroativo, extensivamente estudado em modelos *in vivo* e testes *in vitro* (MODI *et al.*, 2015; KHASNAVIS; PAHAN, 2014; JANA *et al.*, 2013; KHASNAVIS; PAHAN, 2012; BRAHMACHARI; JANA; PAHAN, 2009). Estudos mostraram que o benzoato protege o eixo nigroestriatal ao inibir a expressão da iNOS (KHASNAVIS; PAHAN, 2014; BRAHMACHARI; JANA; PAHAN, 2009), bem como por suprimir a ativação da p21^{rac} na micróglia e atenuar o estresse oxidativo e a neuroinflamação no hipocampo de camundongos, ao reduzir o nível de homocisteína e aumentar o nível de GSH; estes achados foram acompanhados pela supressão da apoptose neuronal, inibição da ativação de glíócitos (micróglia e astrócitos) e redução das placas A β no hipocampo (MODI *et al.*, 2015; FRYDMAN-MAROM *et al.*, 2011). O benzoato também foi capaz de aumentar a expressão de neurotrofinas (BDNF e NT-3), proteínas que apoiam o crescimento, sobrevivência e diferenciação das células nervosas (HUANG *et al.*, 2015), ao ativar a via PKA/CREB

(proteína cinase A/proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMP cíclico) (JANA *et al.*, 2013).

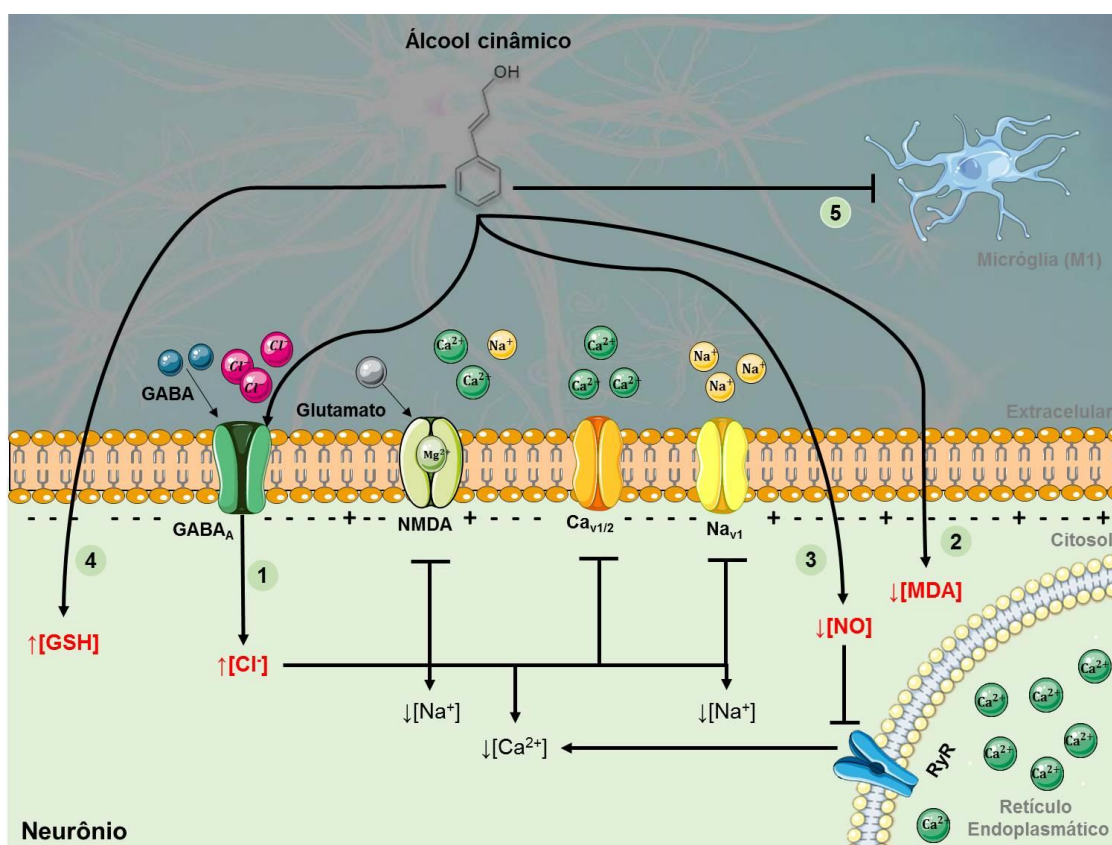
Por sua vez, o ácido cinâmico foi capaz de diminuir o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica ao reduzir a expressão da MPO e aumentar a atividade de enzimas antioxidantes endógenas (SOD, catalase e glutathione-S-transferase – GST) (PATRA *et al.*, 2012), assim como também demonstrou efeitos terapêuticos anti-inflamatórios importantes ao diminuir os níveis de TNF α , IL-6 e NF κ B (SONG *et al.*, 2013; DE; BALTAS; BEDOS-BELVAL, 2011). Por fim, o aldeído cinâmico é um composto altamente bioativo com importante efeito anti-inflamatório (MONTEIRO *et al.*, 2021). O aldeído cinâmico foi capaz de inibir a migração de monócitos entre as células endoteliais vasculares por diminuir a expressão de moléculas de adesão (VCAM-1 e ICAM-1) (LIAO *et al.*, 2008). Esse derivado cinâmico, também, inibiu processos inflamatório por meio da redução da atividade de transcrição do NF κ B (REDDY *et al.*, 2004) e, conseqüentemente, supressão de mediadores inflamatórios (NO, TNF α , IL-1 β , IL6, IL-15, COX-2) (HO; CHANG; CHANG, 2013; PETERSON *et al.*, 2009; JIANYOU *et al.*, 2005) e de marcadores de superfície (CD68, CD11c e CD11b) na micróglia (GUNAWARDENA *et al.*, 2015; KHASNAVIS; PAHAN, 2014; LIAO *et al.*, 2012), bem como aumentou os níveis de IL-10, uma citocina imunossupressora com funções importantes na manutenção da homeostase do sistema imunológico (FAIKOH *et al.*, 2014).

Em conjunto, esses estudos sugerem que os efeitos do AC possam depender, em parte, da sua conversão hepática em metabólitos ativos, tais como aldeído cinâmico, ácido cinâmico e benzoato. Essa afirmação é reforçada por resultados que mostraram que o AC, pré-tratado em camundongos apenas 30 minutos antes da administração do PTZ, não apresenta efeitos antiepiléptico (1,5 - 25 mg/kg) e neuroprotetor (< 3,1 mg/kg) (APÊNDICE I). Porém, quando essas mesmas doses são administradas 60 minutos antes do PTZ, são evidenciadas atividades positivas que podem indicar que os efeitos do AC são dependentes do tempo de absorção e distribuição (\geq 60 minutos) e/ou da sua metabolização em compostos ativos. Entretanto, testes farmacocinéticos específicos devem ser realizados para melhor investigar essa hipótese.

Por fim, o efeito antiepiléptico observado no modelo de abrasamento químico indicou que o AC também foi capaz de impedir a formação de lesões cerebrais, após aplicações repedidas do PTZ, que causariam comportamentos epileptogênicos

característicos com o desenvolvimento de um estado de mal epiléptico convulsivo. É sugestível que esse efeito pode estar intrinsecamente associado à capacidade do AC em modular positivamente o sistema GABAérgico e promover efeitos antioxidante e antineuroinflamatório, como observado no modelo agudo (Figura 15). No entanto, análises imuno-histoquímicas, neuroquímicas e histomorfométricas serão realizadas para melhor caracterizar os mecanismos neuroprotetores do AC nesse modelo.

Figura 15 - Proposta de mecanismo da ação antiepiléptica e neuroprotetora do AC em neurônios hipocâmpais de camundongos submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas por PTZ.



O álcool cinâmico (AC) ativa o receptor GABA_A possivelmente via sítio benzodiazepínico e potencializa a ação do ácido γ -aminobutírico (GABA) que aumenta a frequência do influxo de íons cloreto (Cl^-) (1). O aumento da concentração de Cl^- intracelular causa a hiperpolarização da membrana nervosa e consequente inibição de receptores e canais catiônicos (NMDA, $\text{Ca}_v1/2$ e Na_v1). O AC inibe lesões celulares causadas pela peroxidação lipídica e o estresse oxidativo, demonstrado através da diminuição da concentração de malondialdeído (MDA, 2) e óxido nítrico (NO, 3), respectivamente. O AC aumenta a expressão do antioxidante glutatona reduzida (GSH, 4) e, possivelmente, inibe a ativação da micróglia M1 e/ou a expressão de mediadores pró-inflamatórios (5). Imagem: Anne Caroline Ribeiro Portela e Álefe Brito Monteiro, 2021.



CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

De acordo com a avaliação da atividade antiepiléptica e neuroprotetora do AC frente aos modelos de crises epiléticas induzidas por PTZ, pode-se concluir que:

- O AC aumenta a latência para a primeira crise epilética tônico-clônica generalizada, não reduz a intensidade da primeira crise, porém aumenta a latência para a morte e o percentual de sobrevivência em camundongos submetidos ao modelo agudo;
- O AC aumenta a latência para a primeira crise epilética tônico-clônica bilateral focal em camundongos submetidos ao modelo de abrasamento químico (*kindling*).

Na caracterização do mecanismo de ação, sugere-se que o fenilpropanoide AC é capaz de:

- Reduzir a excitotoxicidade ao potencializar a atividade GABAérgica via ativação do sítio benzodiazepínico no receptor GABA_A;
- Diminuir o estresse oxidativo via redução de radicais livres e aumento na expressão da glutatona reduzida;
- Impedir a instalação da neuroinflamação possivelmente via inibição da ativação da micróglia M1 e/ou da expressão de mediadores pró-inflamatórios.

Assim, os resultados indicaram que o AC é capaz de reduzir mecanismos neurotóxicos (excitotoxicidade, estresse oxidativo e neuroinflamação) no hipocampo de camundongos submetidos ao modelo agudo de crises epiléticas induzidas pelo PTZ e, possivelmente, também no modelo de abrasamento químico. No entanto, sugere-se que outras análises sejam realizadas a fim de avaliar possíveis mecanismos adicionais envolvidos.



PERSPECTIVAS

8. PERSPECTIVAS

Em vista dos resultados promissores frente aos modelos de crises epilépticas induzidas por pentilenotetrazol apresentados nesta tese, bem como a baixa toxicidade e demais atividades farmacológicas (ansiolítica-símile e antinociceptiva) anteriormente reportadas pelo nosso grupo de pesquisa, o álcool cinâmico tem se mostrado um composto dotado de importantes efeitos sobre o sistema nervoso central, com interesse potencial para pesquisas que visem avaliar suas atividades neuropsicofarmacológicas em nível clínico.

Como perspectivas complementares frente aos resultados obtidos no modelo de abrasamento químico, tem-se como proposta principal “Avaliar os mecanismos moleculares da ação neuroprotetora do álcool cinâmico no modelo de abrasamento químico induzido por pentilenotetrazol (PTZ)”. Nesse contexto, buscar-se-á:

- Avaliar a atividade dos marcadores enzimáticos do estresse oxidativo (catalase, superóxido dismutase e glutathiona peroxidase) em hipocampo de camundongos pré-tratados com o álcool cinâmico e submetidos ao modelo de abrasamento químico induzido por PTZ;
- Realizar análises histomorfométricas em hipocampo de camundongos pré-tratados com o álcool cinâmico e submetidos ao modelo de abrasamento químico induzido por PTZ;
- Realizar análises imuno-histoquímicas para a Interleucina-1 β (IL-1 β) e Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (BDNF) em hipocampo de camundongos pré-tratados com o álcool cinâmico e submetidos ao modelo de abrasamento químico induzido por PTZ.

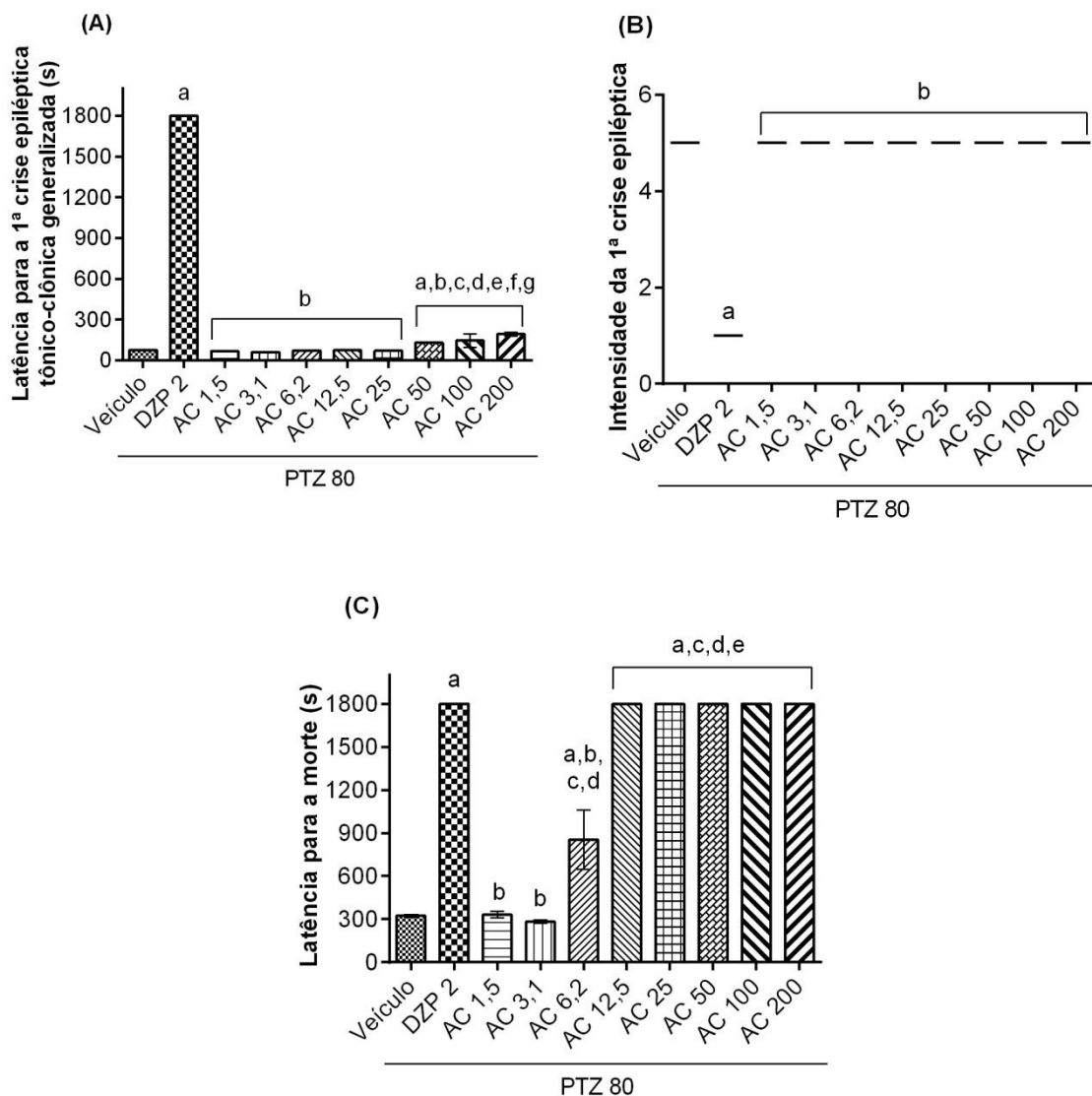


APÊNDICES

APÊNDICE I - Crises epilépticas induzidas por PTZ 30 minutos após a administração do álcool cinâmico (AC)

O AC, nas doses de 1,5, 3,1, 6,2, 12,5 ou 25 mg/kg, não aumentou a latência para a primeira crise tônico-clônica generalizada em relação ao grupo veículo + PTZ 80. Entretanto, as doses de 50 mg/kg (42,7%), 100 mg/kg (48,5%) e 200 mg/kg (61,3%) aumentaram o tempo para o surgimento da primeira crise tônico-clônica generalizada, em relação ao grupo veículo + PTZ 80, quando analisados por teste *t* não pareado (Gráfico 1A e Tabela 1). A análise da intensidade da 1ª crise epiléptica dos animais não mostrou diferença entre os grupos tratados com o AC + PTZ 80 e o grupo veículo + PTZ 80, ambos apresentaram categoria 5 (ataque motor completo tônico-clônico generalizado) (Gráfico 1B e Tabela 1). Por outro lado, o AC nas doses de 6,2, 12,5, 25, 50, 100 e 200 mg/kg aumentou significativamente a latência para a morte, quando comparado ao grupo veículo + PTZ 80, em 62,1%, 82,0%, 82,0%, 82,0%, 82,0% e 82,0%, respectivamente (Gráfico 1C e Tabela 1). Adicionalmente, 100% dos animais pré-tratados com o AC (12,5 - 200 mg/kg) e que receberam o PTZ 80 sobreviveram 72h após o teste (Tabela 2).

Gráficos 1 - Efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (**A**), intensidade da 1ª crise epiléptica (**B**) e latência para a morte (**C**), 30 minutos após o tratamento (n=8).



Os gráficos 'A' e 'C' representam a média \pm erro padrão da média (E.P.M.), analisados através da ANOVA de uma via seguido pelo teste de *Tukey* (*post hoc*) e teste t não pareado. O gráfico 'B' representa a mediana (percentil 25 - percentil 75), analisados por *Kruskal-Wallis*, seguidos pelo teste de *Dunns* (*post hoc*). Valores significativos quando $p < 0,05$: "a", "b", "c", "d", "e", "f" e "g" vs Veículo + PTZ 80, DZP 2 + PTZ 80, AC 1,5 + PTZ 80, AC 3,1 + PTZ 80, AC 6,2 + PTZ 80, AC 12,5 + PTZ 80, AC 25 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg. AC: álcool cinâmico. PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

Tabela 1 - Coluna estatística do efeito do AC sobre a latência para a 1ª crise epiléptica tônico-clônica generalizada (**LC**), intensidade da 1ª crise epiléptica (**IC**) e latência para a morte (**LM**), 30 minutos após o tratamento (n=8).

Grupos/Tratamentos (n=8)	LC Média ± E.P.M.	IC Mediana	LM Média ± E.P.M.
Veículo + PTZ 80 (a)	75,1 ± 1,9s	5,0	323,5 ± 11,1s
DZP 2 + PTZ 80 (b)	1800 ± 0,0s ^(a)	1,0 ^(a)	1800 ± 0,0s ^(a)
AC 1,5 + PTZ 80 (c)	69,0 ± 0,5s ^(b)	5,0 ^(b)	333,0 ± 21,26s ^(b)
AC 3,1 + PTZ 80 (d)	60,2 ± 0,7s ^(b)	5,0 ^(b)	284,0 ± 12,1s ^(b)
AC 6,2 + PTZ 80 (e)	73,1 ± 1,8s ^(b)	5,0 ^(b)	854,1 ± 205,3s ^(a,b,c,d)
AC 12,5 + PTZ 80 (f)	77,6 ± 2,1s ^(b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d,e)
AC 25 + PTZ 80 (g)	70,3 ± 2,2s ^(b)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d,e)
AC 50 + PTZ 80 (h)	131,3 ± 3,9s ^(a,b,c,d,e,f,g)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d,e)
AC 100 + PTZ 80 (i)	146,1 ± 48,7s ^(a,b,c,d,e,f,g)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d,e)
AC 200 + PTZ 80 (j)	194,5 ± 13,1s ^(a,b,c,d,e,f,g)	5,0 ^(b)	1800 ± 0,0s ^(a,c,d,e)

Valores significativos quando $p < 0,05$: “a”, “b”, “c”, “d”, “e”, “f” e “g” vs Veículo + PTZ 80, DZP 2 + PTZ 80, AC 1,5 + PTZ 80, AC 3,1 + PTZ 80, AC 6,2 + PTZ 80, AC 12,5 + PTZ 80, AC 25 + PTZ 80, respectivamente. DZP 2: diazepam 2 mg/kg. AC: álcool cinâmico. PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg. E.P.M.: erro padrão da média.

Tabela 2 - Porcentagem dos camundongos que sobreviveram após 72h.

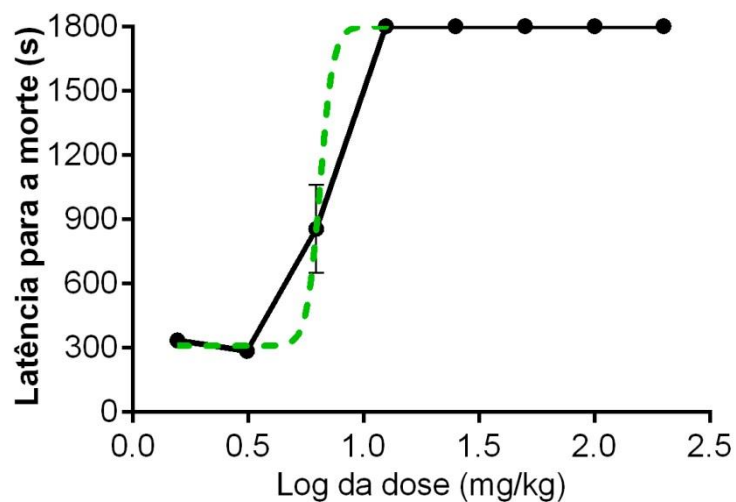
Grupos/Tratamentos (n=8)	% de sobrevivência
Veículo + PTZ 80	0
DZP 2 + PTZ 80	100
AC 1,5 + PTZ 80	0
AC 3,1 + PTZ 80	0
AC 6,2 + PTZ 80	12,5
AC 12,5 + PTZ 80	100
AC 25 + PTZ 80	100
AC 50 + PTZ 80	100
AC 100 + PTZ 80	100
AC 200 + PTZ 80	100

DZP 2: diazepam 2 mg/kg. AC: álcool cinâmico. PTZ 80: pentilenotetrazol 80 mg/kg.

Curva dose-resposta

Baseado nos resultados obtidos na latência para a morte foi construída a curva dose-resposta (Gráfico 2). Observa-se que o AC a partir de 12,5 mg/kg (log = 1,0) mantem um platô de resposta, portanto, sugerindo que esta é a menor dose que promove um efeito máximo nesse parâmetro comportamental (latência para a morte), 30 minutos após a administração.

Gráfico 2 - Curva dose-resposta do AC sobre a latência para a morte, 30 minutos após o tratamento (n=8).



Os círculos preenchidos representam a média \pm erro padrão da média (E.P.M.) em função do Log da dose (mg/kg) = 0,1 (AC 1,5 mg/kg), 0,4 (AC 3,1 mg/kg), 0,7 (AC 6,2 mg/kg), 1,0 (AC 12,5 mg/kg), 1,3 (AC 25 mg/kg), 1,6 (AC 50 mg/kg), 2,0 (AC 100 mg/kg), 2,3 (AC 200 mg/kg).



REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ABDOLLAHI FARD, M.; SHOJAI, A. Efficacy of Iranian traditional medicine in the treatment of epilepsy. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

ABRAMOV, A. Y.; CANEVARI, L.; DUCHEN, M. R. Changes in intracellular calcium and glutathione in astrocytes as the primary mechanism of amyloid neurotoxicity. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 12, p. 5088-5095, 2003.

ACEVEDO, C. S.; MESA, T. L.; CARABALLO, R.; MEDINA, M. T. Strategy and Plan of Action for Epilepsy 2018. **Epilepsy & Behavior**, v. 96, p. 234-236, 2019.

ADAMS, J.; COLLAÇO-MORAES, Y.; DE BELLEROCHE, J. Cyclooxygenase-2 induction in cerebral cortex: an intracellular response to synaptic excitation. **Journal of neurochemistry**, v. 66, n. 1, p. 6-13, 1996.

ADESUYI, S. A.; COCKRELL, C. S.; GAMACHE, D. A.; ELLIS, E. F. Lipoxygenase metabolism of arachidonic acid in brain. **Journal of neurochemistry**, v. 45, n. 3, p. 770-776, 1985.

AGUIAR, C. C. T.; ALMEIDA, A. B.; ARAÚJO, P. V. P.; ABREU, R. N. D. C. D.; CHAVES, E. M. C.; VALE, O. C. D.; VASCONCELOS, S. M. M. Oxidative stress and epilepsy: literature review. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2012, 2012.

AKDOGAN, I.; YONGUC, N. G. Experimental epilepsy models and morphologic alterations of experimental epilepsy models in brain and hippocampus. In: **Underlying Mechanisms of Epilepsy**. InTech, 2011.

AKOEV, G. N.; CHALISOVA, N. I.; LUDINO, M. I.; TARENT'EV, D. A.; YATSUK, S. L.; ROMANJUK, A. V. Epileptiform activity increases the level of nerve growth factor in cerebrospinal fluid of epileptic patients and in hippocampal neurons in tissue culture. **Neuroscience**, v. 75, n. 2, p. 601-605, 1996.

AKULA, K. K.; DHIR, A.; KULKARNI, S. K. Rofecoxib, a selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor increases pentylenetetrazol seizure threshold in mice: possible

involvement of adenosinergic mechanism. *Epilepsy research*, v. 78, n. 1, p. 60-70, 2008.

ALACHKAR, A.; OJHA, S. K.; SADEQ, A.; ADEM, A.; FRANK, A.; STARK, H.; SADEK, B. Experimental Models for the Discovery of Novel Anticonvulsant Drugs: Focus on Pentylenetetrazole-Induced Seizures and Associated Memory Deficits. **Current Pharmaceutical Design**, 2020.

ALDERTON, W. K.; COOPER, C. E.; KNOWLES, R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Biochemical Journal**, v. 357, n. 3, p. 593-615, 2001.

ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 8, p. 601-611, 2015.

ALLAN, S. M.; ROTHWELL, N. J. Inflammation in central nervous system injury. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 358, n. 1438, p. 1669-1677, 2003.

AMORIM, Í. P. S.; PESTANA, E. R.; MENDES, S. J. F. Predição do metabolismo do candidato a fármaco cinamaldeído: Uma abordagem in silico. **Revista Ceuma Perspectivas**, v. 30, n. 2, p. 111-120, 2017.

ANDRADE, M. A.; DAS GRAÇAS CARDOSO, M.; BATISTA, L. R.; MALLET, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

ARCHER, A. W. Determination of cinnamaldehyde, coumarin and cinnamyl alcohol in cinnamon and cassia by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 447, p. 272-276, 1988.

ARMIJO, J. A.; VALDIZAN, E. M.; DE, I. L. C.; CUADRADO, A. Advances in the physiopathology of epileptogenesis: molecular aspects. **Revista de neurologia**, v. 34, n. 5, p. 409-429, 2002.

AUDITEAU, E.; CHASSAGNE, F.; BOURDY, G.; BOUNLU, M.; JOST, J.; LUNA, J.; BOUMEDIENE, F. Herbal medicine for epilepsy seizures in Asia, Africa and Latin America: A systematic review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 234, p. 119-153, 2019.

BAL-PRICE, A.; BROWN, G. C. Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide from activated glia-inhibiting neuronal respiration, causing glutamate release and excitotoxicity. **Journal of Neuroscience**, v. 21, n. 17, p. 6480-6491, 2001.

BALSAMO, A.; BARILI, P. L.; CROTTI, P.; MACCHIA, B.; MACCHIA, F.; PECCHIA, A.; PASSERINI, N. Structure-activity relations in cinnamamides. 1. Synthesis and pharmacological evaluation of some (E)-and (Z)-N-alkyl-. alpha.;. beta.-dimethylcinnamamides. **Journal of medicinal chemistry**, v. 18, n. 8, p. 842-846, 1975.

BAN, E.; MILON, G.; PRUDHOMME, N.; FILLION, G.; HAOUR, F. Receptors for interleukin-1 (α and β) in mouse brain: mapping and neuronal localization in hippocampus. **Neuroscience**, v. 43, n. 1, p. 21-30, 1991.

BANATI, R. B.; DANIEL, S. E.; BLUNT, S. B. Glial pathology but absence of apoptotic nigral neurons in long-standing Parkinson's disease. **Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society**, v. 13, n. 2, p. 221-227, 1998.

BARTFAI, T.; SCHULTZBERG, M. Cytokines in neuronal cell types. **Neurochemistry international**, v. 22, n. 5, p. 435-444, 1993.

BAUER, B.; HARTZ, A. M.; PEKCEC, A.; TOELLNER, K.; MILLER, D. S.; POTSCHKA, H. Seizure-induced up-regulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier through glutamate and cyclooxygenase-2 signaling. **Molecular pharmacology**, v. 73, n. 5, p. 1444-1453, 2008.

BEDNER, P.; DUPPER, A.; HÜTTMANN, K.; MÜLLER, J.; HERDE, M. K.; DUBLIN, P.; HENNEBERGER, C. Astrocyte uncoupling as a cause of human temporal lobe epilepsy. **Brain**, v. 138, n. 5, p. 1208-1222, 2015.

BELEMKAR, S.; KUMAR, A.; PATA, M. K. Pharmacological Screening of Herbal Extract of *Swertia chirata* and *Cinnamomum zeylanicum* for Anticonvulsant Activity. **Inventi Rapid: Ethnopharmacology**, v. 2013, n. 2, 2013.

BELL, B.; LIN, J. J.; SEIDENBERG, M.; HERMANN, B. The neurobiology of cognitive disorders in temporal lobe epilepsy. **Nature Reviews Neurology**, v. 7, n. 3, p. 154, 2011.

BERG, A.T., BERKOVIC, S.F., BRODIE, M.J., BUCHHALTER, J., CROSS, J.H., VAN EMDE BOAS, W., ENGEL, J., FRENCH, J., GLAUSER, T.A., MATHERN, G.W., MOSHÉ, S.L., NORDLI, D., PLOUIN, P., SCHEFFER, I.E. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005–2009. **Epilepsia**, v. 51, n. 4, p. 676-685, 2010.

BERRIDGE, M. Cell signalling pathways. **Cell Signalling Biology**, v. 2014, n. 1, p. 1-138, 2014.

BIALER, M.; WHITE, H. S. Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. **Nature reviews Drug discovery**, v. 9, n. 1, p. 68-82, 2010.

BIELSKI, B. H.; ARUDI, R. L.; SUTHERLAND, M. W. A study of the reactivity of HO₂/O₂-with unsaturated fatty acids. **Journal of Biological Chemistry**, v. 258, n. 8, p. 4759-4761, 1983.

BILLIAR, T. R. Nitric oxide. Novel biology with clinical relevance. **Annals of surgery**, v. 221, n. 4, p. 339, 1995.

BINDER, D. K. **The role of BDNF in epilepsy and other diseases of the mature nervous system**. In: Recent Advances in Epilepsy Research. Springer, Boston, MA, 2004. p. 34-56.

BLACK, L. C.; SCHEFFT, B. K.; HOWE, S. R.; SZAFLARSKI, J. P.; YEH, H. S.; PRIVITERA, M. D. The effect of seizures on working memory and executive functioning performance. **Epilepsy & Behavior**, v. 17, n. 3, p. 412-419, 2010.

BRAHMACHARI, S.; JANA, A.; PAHAN, K. Sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive, reduces microglial and astroglial inflammatory responses. **The Journal of Immunology**, v. 183, n. 9, p. 5917-5927, 2009.

BRENNEMAN, D. E.; SMITH, G. R.; ZHANG, Y.; DU, Y.; KONDAVEETI, S. K.; ZDILLA, M. J.; REITZ, A. B. Small Molecule Anticonvulsant Agents with Potent In Vitro Neuroprotection. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 47, n. 2, p. 368-379, 2012.

BRIDGES, R. J.; PATEL, S. A. Pharmacology of glutamate transport in the CNS: substrates and inhibitors of excitatory amino acid transporters (EAATs) and the glutamate/cystine exchanger system x c⁻. In: **Transporters as Targets for Drugs**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2008. p. 187-222.

BRINKHAUS, B.; LINDNER, M.; SCHUPPAN, D.; HAHN, E. G. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica*. **Phytomedicine**, v. 7, n. 5, p. 427-448, 2000.

BRODIE, M. J.; SILLS, G. J. Combining antiepileptic drugs—rational polytherapy?. **Seizure**, v. 20, n. 5, p. 369-375, 2011.

BROUGH, D.; LE FEUVRE, R. A.; WHEELER, R. D.; SOLOVYOVA, N.; HILFIKER, S.; ROTHWELL, N. J.; VERKHRATSKY, A. Ca²⁺ stores and Ca²⁺ entry differentially contribute to the release of IL-1 β and IL-1 α from murine macrophages. **The Journal of Immunology**, v. 170, n. 6, p. 3029-3036, 2003.

BUSIJA, D. W.; LEFFLER, C. W. Role of prostanoids in cerebrovascular responses during seizures in piglets. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 256, n. 1, p. H120-H125, 1989.

CABELLO, C. M.; BAIR III, W. B.; LAMORE, S. D.; LEY, S.; BAUSE, A. S.; AZIMIAN, S.; WONDRAK, G. T. The cinnamon-derived Michael acceptor cinnamic aldehyde impairs melanoma cell proliferation, invasiveness, and tumor growth. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 46, n. 2, p. 220-231, 2009.

CAMPÊLO, L. M. L.; FEITOSA, C. M.; TOMÉ, A. R.; FREITAS, R. M. Avaliação do potencial neuroprotetor do óleo essencial de *Citrus limon* em hipocampo e corpo

estriado de camundongos após convulsões induzidas pela pilocarpina. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 10, n. 2, p. 116-126, 2011.

CAO, D. L.; ZHANG, Z. J.; XIE, R. G.; JIANG, B. C.; JI, R. R.; GAO, Y. J. Chemokine CXCL1 enhances inflammatory pain and increases NMDA receptor activity and COX-2 expression in spinal cord neurons via activation of CXCR2. **Experimental neurology**, v. 261, p. 328-336, 2014.

CARDOSO, S. L. Photophysics of carotenoids and the antioxidant role of b-carotene. **Química Nova**, v. 20, n. 5, p. 535-540, 1997.

CEREGHINO, J. J.; BROCK, J. T.; VAN METER, J. C.; PENRY, J. K.; SMITH, L. D.; WHITE, B. G. Carbamazepine for epilepsy: a controlled prospective evaluation. **Neurology**, v. 24, n. 5, p. 401-401, 1974.

CHAPARRO-HUERTA, V.; FLORES-SOTO, M. E.; GUDINO-CABRERA, G.; RIVERA-CERVANTES, M. C.; BITZER-QUINTERO, O. K.; BEAS-ZARATE, C. Role of p38 MAPK and pro-inflammatory cytokines expression in glutamate-induced neuronal death of neonatal rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 26, n. 5, p. 487-495, 2008.

CHEN, J.; MARSH, T.; ZHANG, J. S.; GRAHAM, S. H. Expression of cyclooxygenase 2 in rat brain following kainate treatment. **Neuroreport**, v. 6, n. 2, p. 246-248, 1995.

CHRISTOPHERSON, K. S.; BREDT, D. S. Nitric oxide in excitable tissues: physiological roles and disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 100, n. 10, p. 2424-2429, 1997.

CITRARO, R.; LEO, A.; MARRA, R.; DE SARRO, G.; RUSSO, E. Antiepileptogenic effects of the selective COX-2 inhibitor etoricoxib, on the development of spontaneous absence seizures in WAG/Rij rats. **Brain research bulletin**, v. 113, p. 1-7, 2015.

CLEMENTS, C. M.; MCNALLY, R. S.; CONTI, B. J.; MAK, T. W.; TING, J. P. Y. DJ-1, a cancer-and Parkinson's disease-associated protein, stabilizes the antioxidant

transcriptional master regulator Nrf2. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 41, p. 15091-15096, 2006.

COLEMAN, J. W. Nitric oxide in immunity and inflammation. **International immunopharmacology**, v. 1, n. 8, p. 1397-1406, 2001.

CORNFORD, E. M. Epilepsy and the blood brain barrier: endothelial cell responses to seizures. **Advances in neurology**, v. 79, p. 845-862, 1999.

COSTA, L. G. Cell signaling and neurotoxic events. **Principles of Neurotoxicology**, v. 475, 1994.

COSTELLO, D. J.; DELANTY, N. Oxidative injury in epilepsy: potential for antioxidant therapy?. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 4, n. 3, p. 541-553, 2004.

COULTER, D. A.; STEINHÄUSER, C. Role of astrocytes in epilepsy. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 5, n. 3, p. a022434, 2015.

COWLEY, T. R.; FAHEY, B.; O'MARA, S. M. COX-2, but not COX-1, activity is necessary for the induction of perforant path long-term potentiation and spatial learning in vivo. **European Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 11, p. 2999-3008, 2008.

CZUCZWAR, S. J.; PATSALOS, P. N. The new generation of GABA enhancers. **CNS drugs**, v. 15, n. 5, p. 339-350, 2001.

DA FONSECA, A. C. C.; MATIAS, D.; GARCIA, C.; AMARAL, R.; GERALDO, L. H.; FREITAS, C.; LIMA, F. R. S. The impact of microglial activation on blood-brain barrier in brain diseases. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 8, p. 362, 2014.

DA FONSÊCA, D. V.; DA SILVA MAIA BEZERRA FILHO, C.; LIMA, T. C.; DE ALMEIDA, R. N.; DE SOUSA, D. P. Anticonvulsant Essential Oils and Their Relationship with Oxidative Stress in Epilepsy. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, p. 835, 2019.

DA SILVA, A. S.; DE SOUZA, I. L.L; DA SILVA, B. A. Canais iônicos na epilepsia. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 47, n. 4, p. 370-376, 2014.

DA SILVA, L. F.; PEREIRA, P.; ELISABETSKY, E. A neuropharmacological analysis of PTZ-induced kindling in mice. **General Pharmacology: The Vascular System**, v. 31, n. 1, p. 47-50, 1998.

DAS, A.; WALLACE IV, G. C.; HOLMES, C.; MCDOWELL, M. L.; SMITH, J. A.; MARSHALL, J. D.; BANIK, N. L. Hippocampal tissue of patients with refractory temporal lobe epilepsy is associated with astrocyte activation, inflammation, and altered expression of channels and receptors. **Neuroscience**, v. 220, p. 237-246, 2012.

DAVID, S.; KRONER, A. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 12, n. 7, p. 388-399, 2011.

DAVIS, K. L.; MARTIN, E.; TURKO, I. V.; MURAD, F. Novel effects of nitric oxide. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 41, n. 1, p. 203-236, 2001.

DAWSON, V. L.; DAWSON, T. M.; LONDON, E. D.; BREDT, D. S.; SNYDER, S. H. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 88, n. 14, p. 6368-6371, 1991.

DE ANDRADE, H. H. N.; MONTEIRO, Á. B.; BRAGA, R. M.; DA CRUZ, R. M. D.; SALVADORI, M. G. D. S. S.; SCOTTI, M. T.; DE SOUSA, D. P.; DE ALMEIDA, R. N. Anxiolytic and antinociceptive-like effects of cinnamic alcohol by possible GABAergic pathway modulation: In vivo and in silico studies. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 51372-51389, 2020.

DE BOER, H. M.; MULA, M.; SANDER, J. W. The global burden and stigma of epilepsy. **Epilepsy & behavior**, v. 12, n. 4, p. 540-546, 2008.

DE SIMONI, M. G.; PEREGO, C.; RAVIZZA, T.; MONETA, D.; CONTI, M.; MARCHESI, F.; VEZZANI, A. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. **European Journal of Neuroscience**, v. 12, n. 7, p. 2623-2633, 2000.

DE VRIES, E. E.; VAN DEN MUNCKHOF, B.; BRAUN, K. P.; VAN ROYEN-KERKHOF, A.; DE JAGER, W.; JANSEN, F. E. Inflammatory mediators in human

epilepsy: a systematic review and meta-analysis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 63, p. 177-190, 2016.

DE, P.; BALTAS, M.; BEDOS-BELVAL, F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents-a review. **Current medicinal chemistry**, v. 18, n. 11, p. 1672-1703, 2011.

DESJARDINS, P.; SAUVAGEAU, A.; BOUTHILLIER, A.; NAVARRO, D.; HAZELL, A. S.; ROSE, C.; BUTTERWORTH, R. F. Induction of astrocytic cyclooxygenase-2 in epileptic patients with hippocampal sclerosis. **Neurochemistry international**, v. 42, n. 4, p. 299-303, 2003.

DEVASAGAYAM, T. P. A.; BOLOOR, K. K.; RAMASARMA, T. **Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits**. 2003.

DEVINSKY, O.; VEZZANI, A.; NAJJAR, S.; DE LANEROLLE, N. C.; ROGAWSKI, M. A. Glia and epilepsy: excitability and inflammation. **Trends in neurosciences**, v. 36, n. 3, p. 174-184, 2013.

DEY, A.; KANG, X.; QIU, J.; DU, Y.; JIANG, J. Anti-inflammatory small molecules to treat seizures and epilepsy: from bench to bedside. **Trends in pharmacological sciences**, v. 37, n. 6, p. 463-484, 2016.

DHIR, A. Pentylentetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. **Current Protocols in Neuroscience**, p. 9.37. 1-9.37. 12, 2012.

DINGLELINE, R.; MCBAIN, C. J.; MCNAMARA, J. O. Excitatory amino acid receptors in epilepsy. **Trends in pharmacological sciences**, v. 11, n. 8, p. 334-338, 1990.

DOBETSBERGER, C.; BUCHBAUER, G. Actions of essential oils on the central nervous system: An updated review. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 26, n. 5, p. 300-316, 2011.

DOI, T.; UEDA, Y.; NAGATOMO, K.; WILLMORE, L. J. Role of glutamate and GABA transporters in development of pentylentetrazol-kindling. **Neurochemical Research**, v. 34, n. 7, p. 1324-1331, 2009.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. [43] Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. In: **Methods in enzymology**. Academic press, p. 421-431, 1990.

DUBÉ, C.; VEZZANI, A.; BEHRENS, M.; BARTFAI, T.; BARAM, T. Z. Interleukin-1 β contributes to the generation of experimental febrile seizures. **Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 57, n. 1, p. 152-155, 2005.

DWEIK, R. A.; LASKOWSKI, D.; ABU-SOUD, H. M.; KANEKO, F.; HUTTE, R.; STUEHR, D. J.; ERZURUM, S. C. Nitric oxide synthesis in the lung. Regulation by oxygen through a kinetic mechanism. **The Journal of clinical investigation**, v. 101, n. 3, p. 660-666, 1998.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

EID, T.; THOMAS, M. J.; SPENCER, D. D.; RUNDEN-PRAN, E.; LAI, J. C. K.; MALTHANKAR, G. V.; LANEROLLE, N. C. Loss of glutamine synthetase in the human epileptogenic hippocampus: possible mechanism for raised extracellular glutamate in mesial temporal lobe epilepsy. **The Lancet**, v. 363, n. 9402, p. 28-37, 2004.

EIKELENBOOM, P.; VEERHUIS, R. The role of complement and activated microglia in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Neurobiology of aging**, v. 17, n. 5, p. 673-680, 1996.

EKONOMOU, A; ANGELATOU, F. Upregulation of NMDA receptors in hippocampus and cortex in the pentylenetetrazol-induced "kindling" model of epilepsy. **Neurochemical research**, v. 24, n. 12, p. 1515-1522, 1999.

EL-ABHAR, H. S.; EL GAWAD, H. M. A. Modulation of cortical nitric oxide synthase, glutamate, and redox state by nifedipine and taurine in PTZ-kindled mice. **Epilepsia**, v. 44, n. 3, p. 276-281, 2003.

ELMER, E.; KOKAIA, Z.; KOKAIA, M.; CARNAHAN, J.; NAWA, H.; LINDVALL, O. Dynamic changes of brain-derived neurotrophic factor protein levels in the rat forebrain after single and recurring kindling-induced seizures. **Neuroscience**, v. 83, n. 2, p. 351-362, 1998.

EMILIE, A.; FRANÇOIS, C.; GENEVIÈVE, B.; MAYOURA, B.; JÉRÉMY, J.; JAIME, L.; RATSIMBAZAFY, V.; PREUX, P-M.; FARID, B. Herbal medicine for epilepsy seizures in Asia, Africa and Latin America: A systematic review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 234, p. 119-153, 2019.

ENGEL, J. What can we do for people with drug-resistant epilepsy?: The 2016 Wartenberg Lecture. **Neurology**, v. 87, n. 23, p. 2483-2489, 2016.

ERIKSSON, C.; WINBLAD, B.; SCHULTZBERG, M. Kainic acid induced expression of interleukin-1 receptor antagonist mRNA in the rat brain. **Molecular brain research**, v. 58, n. 1-2, p. 195-208, 1998.

ERKEC, O. E.; ARIHAN, O. Pentylentetrazole Kindling Epilepsy Model. **Epilepsi: Journal of the Turkish Epilepsi Society**, v. 21, n. 1, 2015.

ESSA, M. M.; VIJAYAN, R. K.; CASTELLANO-GONZALEZ, G.; MEMON, M. A.; BRAIDY, N.; GUILLEMIN, G. J. Neuroprotective effect of natural products against Alzheimer's disease. **Neurochemical research**, v. 37, n. 9, p. 1829-1842, 2012.

ESTERBAUER, H. Estimation of peroxidative damage. A critical review. **Pathologie-biologie**, v. 44, n. 1, p. 25-28, 1996.

FAIKOH, E. N.; HONG, Y. H.; HU, S. Y. Liposome-encapsulated cinnamaldehyde enhances zebrafish (*Danio rerio*) immunity and survival when challenged with *Vibrio vulnificus* and *Streptococcus agalactiae*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 38, n. 1, p. 15-24, 2014.

FALCICCHIA, C., PAOLONE, G., EMERICH, D. F., LOVISARI, F., BELL, W. J., FRADET, T., SIMONATO, M. Seizure-suppressant and neuroprotective effects of encapsulated BDNF-producing cells in a rat model of temporal lobe epilepsy. **Molecular Therapy-Methods & Clinical Development**, v. 9, p. 211-224, 2018.

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

FELDMANN, M., ASSELIN, M. C., LIU, J., WANG, S., MCMAHON, A., ANTON-RODRIGUEZ, J., MATTHEWS, J. P-glycoprotein expression and function in patients with temporal lobe epilepsy: a case-control study. **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 8, p. 777-785, 2013.

FEW, A. P.; NANOU, E.; WATARI, H.; SULLIVAN, J. M.; SCHEUER, T.; CATTERALL, W. A. Asynchronous Ca²⁺ current conducted by voltage-gated Ca²⁺ (Ca_v)-2.1 and Ca_v2.2 channels and its implications for asynchronous neurotransmitter release. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 7, p. E452-E460, 2012.

FIALA, M.; LIU, Q. N.; SAYRE, J.; POP, V.; BRAHMANDAM, V.; GRAVES, M. C.; & VINTERS, H. V. Cyclooxygenase-2-positive macrophages infiltrate the Alzheimer's disease brain and damage the blood-brain barrier. **European journal of clinical investigation**, v. 32, n. 5, p. 360-371, 2002.

FIRMO, W. D. C. A.; DE MENEZES, V. D. J. M.; DE CASTRO PASSOS, C. E.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, 2012.

FISCHBORN, S. V.; SOERENSEN, J.; POTSCHKA, H. Targeting the prostaglandin E₂ EP1 receptor and cyclooxygenase-2 in the amygdala kindling model in mice. **Epilepsy research**, v. 91, n. 1, p. 57-65, 2010.

FISHER, R. S.; ACEVEDO, C.; ARZIMANOGLU, A.; BOGACZ, A.; CROSS, J. H.; ELGER, C. E.; HESDORFFER, D. C. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 4, p. 475-482, 2014.

FISHER, R. S.; BOAS, W. V. E.; BLUME, W.; ELGER, C.; GENTON, P.; LEE, P.; ENGEL Jr, J. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, v. 46, n. 4, p. 470-472, 2005.

FISHER, R. S.; CROSS, J. H.; D'SOUZA, C.; FRENCH, J. A.; HAUT, S. R.; HIGURASHI, N.; PELTOLA, J. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Zeitschrift für Epileptologie**, v. 31, n. 4, p. 282-295, 2018.

FITZGERALD, G, A. COX-2 and beyond: approaches to prostaglandin inhibition in human disease. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 11, p. 879-890, 2003.

FOGAL, B.; HEWETT, S. J. Interleukin-1 β : a bridge between inflammation and excitotoxicity?. **Journal of neurochemistry**, v. 106, n. 1, p. 1-23, 2008.

FRANCO, V.; FRENCH, J. A.; PERUCCA, E. Challenges in the clinical development of new antiepileptic drugs. **Pharmacological research**, v. 103, p. 95-104, 2016.

FRICKE, M. N.; JONES-DAVIS, D. M.; MATHEWS, G. C. Glutamine uptake by System A transporters maintains neurotransmitter GABA synthesis and inhibitory synaptic transmission. **Journal of neurochemistry**, v. 102, n. 6, p. 1895-1904, 2007.

FRYDMAN-MAROM, A.; LEVIN, A.; FARFARA, D.; BENROMANO, T.; SCHERZER-ATTALI, R.; PELED, S.; OVADIA, M. Orally administered cinnamon extract reduces β -amyloid oligomerization and corrects cognitive impairment in Alzheimer's disease animal models. **PloS one**, v. 6, n. 1, p. e16564, 2011.

GALL, Christine M. Seizure-induced changes in neurotrophin expression: implications for epilepsy. **Experimental neurology**, v. 124, n. 1, p. 150-166, 1993.

GALLUCCI NETO, J.; MARCHETTI, R. L. Aspectos epidemiológicos e relevância dos transtornos mentais associados à epilepsia. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 27, n. 4, p. 323-328, 2005.

GENTON, P.; SEMAH, F.; TRINKA, E. Valproic acid in epilepsy. **Drug safety**, v. 29, n. 1, p. 1-21, 2006.

GERSTNER, T.; BELL, N.; KÖNIG, S. Oral valproic acid for epilepsy-long-term experience in therapy and side effects. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 9, n. 2, p. 285-292, 2008.

GIBERNAU, M.; BUSER, H. R.; FREY, J. E.; HOSSAERT-MCKEY, M. Volatile compounds from extracts of figs of *Ficus carica*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 2, p. 241-244, 1997.

GOLDSTEIN, B. Cannabis in the treatment of pediatric epilepsy. **Chicago, IL: O'Shaughnessy's**, p. 7-9, 2016.

GOMES, M. M. História da epilepsia: um ponto de vista epistemológico. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 12, n. 3, p. 161-167, 2006.

GOMES-LEAL, W. Microglial physiopathology: how to explain the dual role of microglia after acute neural disorders?. **Brain and behavior**, v. 2, n. 3, p. 345-356, 2012.

GOMORA, J. C.; DAUD, A. N.; WEIERGRÄBER, M.; PEREZ-REYES, E. Block of cloned human T-type calcium channels by succinimide antiepileptic drugs. **Molecular pharmacology**, v. 60, n. 5, p. 1121-1132, 2001.

GREEN, L. C.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, n. 4490, p. 56-58, 1981.

GROSS, G. G.; BOLKART, K. H.; ZENK, M. H. Reduction of cinnamic acid to cinnamaldehyde and alcohol. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 32, n. 2, p. 173-178, 1968.

GRÖTICKE, I.; HOFFMANN, K.; LÖSCHER, W. Behavioral alterations in a mouse model of temporal lobe epilepsy induced by intrahippocampal injection of kainate. **Experimental neurology**, v. 213, n. 1, p. 71-83, 2008.

GUAN, L. P.; WEI, C. X.; DENG, X. Q.; SUI, X.; PIAO, H. R.; QUAN, Z. S. Synthesis and anticonvulsant activity of N-(2-hydroxyethyl) cinnamamide derivatives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 44, n. 9, p. 3654-3657, 2009.

GULLUNI, N.; RE, T.; LOIACONO, I.; LANZO, G.; GORI, L.; MACCHI, C.; EPIFANI, F.; BRAGAZZI, N.; FIRENZUOLI, F. Cannabis essential oil: A preliminary study for the evaluation of the brain effects. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

GUNAWARDENA, D.; KARUNAWEERA, N.; LEE, S.; VAN DER KOOY, F.; HARMAN, D. G.; RAJU, R.; MÜNCH, G. Anti-inflammatory activity of cinnamon (*C. zeylanicum* and *C. cassia*) extracts—identification of E-cinnamaldehyde and o-methoxy cinnamaldehyde as the most potent bioactive compounds. **Food & function**, v. 6, n. 3, p. 910-919, 2015.

GUNIA, A.; M WASZKIELEWICZ, A.; CEGLA, M.; MARONA, H. Preliminary evaluation of anticonvulsant activity of some aminoalkanol and amino acid cinnamic acid derivatives. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 9, n. 1, p. 37-43, 2012.

GUO, J. Y.; HUO, H. R.; ZHAO, B. S.; LIU, H. B.; LI, L. F.; GUO, S. Y.; & JIANG, T. L. Effect of 3-phenyl-2-propene-1-ol on PGE2 release from rat cerebral microvascular endothelial cells stimulated by IL-1 β . **The American journal of Chinese medicine**, v. 34, n. 04, p. 685-693, 2006.

GUO, J.; YANG, Y.; ZHAO, B. Effect of Cinnamyl Alcohol on Activity of COX and PGE2 Release in Cerebral Microvascular Endothelial Cells Stimulated by IL-1. **Chinese Pharmaceutical Journal-Beijing-**, v. 41, n. 8, p. 596, 2006.

HAEGGSTRÖM, J. Z.; FUNK, C. D. Lipoxygenase and leukotriene pathways: biochemistry, biology, and roles in disease. **Chemical reviews**, v. 111, n. 10, p. 5866-5898, 2011.

HAMMERS, A. Flumazenil positron emission tomography and other ligands for functional imaging. **Neuroimaging Clinics of North America**, vol. 14, n. 3, pp. 537-551, 2004.

HAN, D.; ANTUNES, F.; CANALI, R.; RETTORI, D.; CADENAS, E. Voltage-dependent anion channels control the release of the superoxide anion from mitochondria to cytosol. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 8, p. 5557-5563, 2003.

HAN, T.; QIN, Y.; MOU, C.; WANG, M.; JIANG, M.; LIU, B. Seizure induced synaptic plasticity alteration in hippocampus is mediated by IL-1 β receptor through PI3K/Akt pathway. **American journal of translational research**, v. 8, n. 10, p. 4499, 2016.

HARIZI, H.; CORCUFF, J-B.; GUALDE, N. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. **Trends in molecular medicine**, v. 14, n. 10, p. 461-469, 2008.

HARTZ, A. M., PEKCEC, A., SOLDNER, E. L., ZHONG, Y., SCHLICHTIGER, J., BAUER, B. P-gp protein expression and transport activity in rodent seizure models and human epilepsy. **Molecular pharmaceuticals**, v. 14, n. 4, p. 999-1011, 2017.

HEINRICH, C., LÄHTEINEN, S., SUZUKI, F., ANNE-MARIE, L., HUBER, S., HÄUSSLER, U., DEPAULIS, A. Increase in BDNF-mediated TrkB signaling promotes epileptogenesis in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. **Neurobiology of disease**, v. 42, n. 1, p. 35-47, 2011.

HELMSTAEDTER, C.; ELGER, C. E. Chronic temporal lobe epilepsy: a neurodevelopmental or progressively dementing disease?. **Brain**, v. 132, n. 10, p. 2822-2830, 2009.

HIRAGI, T.; IKEGAYA, Y.; KOYAMA, R. Microglia after seizures and in epilepsy. **Cells**, v. 7, n. 4, p. 26, 2018.

HO, I. K.; HARRIS, R. A. Mechanism of action of barbiturates. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 21, n. 1, p. 83-111, 1981.

HO, S. -C.; CHANG, K. S.; CHANG, P. W. Inhibition of neuroinflammation by cinnamon and its main components. **Food chemistry**, v. 138, n. 4, p. 2275-2282, 2013.

HOGG, N.; KALYANARAMAN, B. Nitric oxide and lipid peroxidation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1411, n. 2-3, p. 378-384, 1999.

HOLTMAN, L.; VAN VLIET, E. A.; VAN SCHAİK, R.; QUEIROZ, C. M.; ARONICA, E.; GORTER, J. A. Effects of SC58236, a selective COX-2 inhibitor, on epileptogenesis and spontaneous seizures in a rat model for temporal lobe epilepsy. **Epilepsy research**, v. 84, n. 1, p. 56-66, 2009.

HOOZEMANS, J. J. M.; ROZEMULLER, A. J. M.; JANSSEN, I.; DE GROOT, C. J. A.; VEERHUIS, R.; EIKELENBOOM, P. Cyclooxygenase expression in microglia and

neurons in Alzheimer's disease and control brain. **Acta neuropathologica**, v. 101, n. 1, p. 2-8, 2001.

HOPKINS, S. J.; ROTHWELL, N. J. Cytokines and the nervous system I: expression and recognition. **Trends in neurosciences**, v. 18, n. 2, p. 83-88, 1995.

HU, S.; SHENG, W. S.; EHRLICH, L. C.; PETERSON, P. K.; CHAO, C. C. Cytokine effects on glutamate uptake by human astrocytes. **Neuroimmunomodulation**, v. 7, n. 3, p. 153-159, 2000.

HUANG, E. J.; REICHARDT, L. F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. **Annual review of neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 677-736, 2001.

HUANG, R. Q.; BELL-HORNER, C. L.; DIBAS, M. I.; COVEY, D. F.; DREWE, J. A.; DILLON, G. H. Pentylentetrazole-induced inhibition of recombinant γ -aminobutyric acid type A (GABAA) receptors: mechanism and site of action. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 298, n. 3, p. 986-995, 2001.

HUANG, W.; CAO, J.; LIU, X.; MENG, F.; LI, M.; CHEN, B.; ZHANG, J. AMPK plays a dual role in regulation of CREB/BDNF pathway in mouse primary hippocampal cells. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 56, n. 4, p. 782-788, 2015.

HUANG, Y.; ERDMANN, N.; PENG, H.; ZHAO, Y.; ZHENG, J. The role of TNF related apoptosis-inducing ligand in neurodegenerative diseases. **Cell Mol Immunol**, v. 2, n. 2, p. 113-122, 2005.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, Â. Glutathione and related enzymes: biological roles and importance in pathological processes. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

ICHIYAMA, T.; NISHIKAWA, M.; YOSHITOMI, T.; HAYASHI, T.; FURUKAWA, S. Tumor necrosis factor- α , interleukin- 1β , and interleukin-6 in cerebrospinal fluid from children with prolonged febrile seizures Comparison with acute encephalitis/encephalopathy. **Neurology**, v. 50, n. 2, p. 407-411, 1998.

ILHAN, A., GUREL, A., ARMUTCU, F., KAMISLI, S., IRAZ, M. Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. **Neuropharmacology**, v. 49, n. 4, p. 456-464, 2005.

ITZHAK, Y.; MARTIN, J. L. Cocaine-induced kindling is associated with elevated NMDA receptor binding in discrete mouse brain regions. **Neuropharmacology**, v. 39, n. 1, p. 32-39, 2000.

IUGHETTI, L., LUCACCIONI, L., FUGETTO, F., PREDIERI, B., BERARDI, A., FERRARI, F. Brain-derived neurotrophic factor and epilepsy: a systematic review. **Neuropeptides**, v. 72, p. 23-29, 2018.

JANA, A.; MODI, K. K.; ROY, A.; ANDERSON, J. A.; VAN BREEMEN, R. B.; PAHAN, K. Up-regulation of neurotrophic factors by cinnamon and its metabolite sodium benzoate: therapeutic implications for neurodegenerative disorders. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 8, n. 3, p. 739-755, 2013.

JIA, F.; KATO, M.; DAI, H.; XU, A.; OKUDA, T.; SAKURAI, E.; IINUMA, K. Effects of histamine H3 antagonists and donepezil on learning and mnemonic deficits induced by pentylenetetrazol kindling in weanling mice. **Neuropharmacology**, v. 50, n. 4, p. 404-411, 2006.

JIANG, J.; GANESH, T.; DU, Y.; QUAN, Y.; SERRANO, G.; QUI, M.; DINGLEDINE, R. Small molecule antagonist reveals seizure-induced mediation of neuronal injury by prostaglandin E2 receptor subtype EP2. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 8, p. 3149-3154, 2012.

JIANG, J.; QUAN, Y.; GANESH, T.; POULIOT, W. A.; DUDEK, F. E.; DINGLEDINE, R. Inhibition of the prostaglandin receptor EP2 following status epilepticus reduces delayed mortality and brain inflammation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 9, p. 3591-3596, 2013.

JIANYOU, G.; HAIRU, H.; BAOSHENG, Z.; HONGBIN, L.; LANFANG, L.; SHUYING, G.; TINGLIANG, J. Effect of cinnamic aldehyde on COX-1, COX-2 and PGE~ 2 in cerebral microvascular endothelial cells induced by IL-1. **Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica**, v. 21, n. 6, p. 16, 2005.

JIN, M.; SHENG, W.; HAN, L.; HE, Q.; JI, X.; LIU, K. Activation of BDNF-TrkB signaling pathway-regulated brain inflammation in pentylentetrazole-induced seizures in zebrafish. **Fish & shellfish immunology**, v. 83, p. 26-36, 2018.

KANEMOTO, K.; KAWASAKI, J.; MIYAMOTO, T.; OBAYASHI, H.; NISHIMURA, M. Interleukin (IL)-1 β , IL-1 α , and IL-1 receptor antagonist gene polymorphisms in patients with temporal lobe epilepsy. **Annals of neurology**, v. 47, n. 5, p. 571-574, 2000.

KANG, Y. H.; YANG, I. J.; MORGAN, K. G.; SHIN, H. M. Cinnamyl alcohol attenuates vasoconstriction by activation of K⁺ channels via NO-cGMP-protein kinase G pathway and inhibition of Rho-kinase. **Experimental & molecular medicine**, v. 44, n. 12, p. 749, 2012.

KAUSHAL, V.; KOEBERLE, P. D.; WANG, Y.; SCHLICHTER, L. C. The Ca²⁺-activated K⁺ channel KCNN4/KCa_{3.1} contributes to microglia activation and nitric oxide-dependent neurodegeneration. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 1, p. 234-244, 2007.

KAWAGUCHI, K.; HICKEY, R. W.; ROSE, M. E.; ZHU, L.; CHEN, J.; GRAHAM, S. H. Cyclooxygenase-2 expression is induced in rat brain after kainate-induced seizures and promotes neuronal death in CA3 hippocampus. **Brain research**, v. 1050, n. 1-2, p. 130-137, 2005.

KHASNAVIS, S.; PAHAN, K. Cinnamon treatment upregulates neuroprotective proteins Parkin and DJ-1 and protects dopaminergic neurons in a mouse model of Parkinson's disease. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 9, n. 4, p. 569-581, 2014.

KHASNAVIS, S.; PAHAN, K. Sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive, upregulates neuroprotective Parkinson disease protein DJ-1 in astrocytes and neurons. **Journal of neuroimmune pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 424-435, 2012.

KIM, H. J.; CHUNG, J. I.; LEE, S. H.; JUNG, Y. S.; MOON, C. H.; BAIK, E. J. Involvement of endogenous prostaglandin F₂ α on kainic acid-induced seizure activity through FP receptor: The mechanism of proconvulsant effects of COX-2 inhibitors. **Brain research**, v. 1193, p. 153-161, 2008.

KIM, S. H.; SMITH, C. J.; VAN ELDIK, L. J. Importance of MAPK pathways for microglial pro-inflammatory cytokine IL-1 β production. *Neurobiology of aging*, v. 25, n. 4, p. 431-439, 2004.

KIM, Y.; SONG, Y. B.; KIM, T. Y.; KIM, I.; HAN, S. J.; AHN, Y.; AHN, B. W. Redox regulation of the tumor suppressor PTEN by glutathione. **FEBS letters**, v. 584, n. 16, p. 3550-3556, 2010.

KOBZIK, L.; BREDT, D. S.; LOWENSTEIN, C. J.; DRAZEN, J.; GASTON, B.; SUGARBAKER, D.; STAMLER, J. S. Nitric oxide synthase in human and rat lung: immunocytochemical and histochemical localization. **American journal of respiratory cell and molecular biology**, v. 9, p. 371-371, 1993.

KOENIG, H.; TROUT, J. J.; GOLDSTONE, A. D.; LU, C. Y. Capillary NMDA receptors regulate blood-brain barrier function and breakdown. **Brain research**, v. 588, n. 2, p. 297-303, 1992.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L.; GODOY, R. L. D. O.; LOPES, D.; MORSBACH, N. The bark and leaf essential oils of cinnamon (*Cinnamomum verum* Presl) grown at Parana, Brazil. **Food Science and Technology**, v. 17, n. 3, p. 281-285, 1997.

KOŁOSOWSKA, K.; MACIEJAK, P.; SZYNDLER, J.; TURZYŃSKA, D.; SOBOLEWSKA, A.; PŁAŻNIK, A. The role of interleukin-1 β in the pentylenetetrazole-induced kindling of seizures, in the rat hippocampus. **European journal of pharmacology**, v. 731, p. 31-37, 2014.

KONG, Q.; TAKAHASHI, K.; SCHULTE, D.; STOUFFER, N.; LIN, Y.; LIN, C. L. G. Increased glial glutamate transporter EAAT2 expression reduces epileptogenic processes following pilocarpine-induced status epilepticus. **Neurobiology of disease**, v. 47, n. 2, p. 145-154, 2012.

KORKINA, L. G. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. *Cell Mol Biol*, v. 53, n. 1, p. 15-25, 2007.

KOVÁCS, R.; RABANUS, A.; OTÁHAL, J.; PATZAK, A.; KARDOS, J.; ALBUS, K.; KANN, O. Endogenous nitric oxide is a key promoting factor for initiation of seizure-

like events in hippocampal and entorhinal cortex slices. **Journal of Neuroscience**, v. 29, n. 26, p. 8565-8577, 2009.

KOWIAŃSKI, P., LIETZAU, G., CZUBA, E., WAŚKOW, M., STELIGA, A., MORYŚ, J. BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity. **Cellular and molecular neurobiology**, v. 38, n. 3, p. 579-593, 2018.

KUDO, Y.; OGURA, A. Glutamate-induced increase in intracellular Ca^{2+} concentration in isolated hippocampal neurones. **British journal of pharmacology**, v. 89, n. 1, p. 191-198, 1986.

KULKARNI, S. K.; DHIR, A. Cyclooxygenase in epilepsy: from perception to application. **Drugs of today (Barcelona, Spain: 1998)**, v. 45, n. 2, p. 135, 2009.

KUMAR, A.; SHARMA, N.; BHARDWAJ, M.; SINGH, S. A review on chemical induced kindling models of epilepsy. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 3, p. 1-6, 2016.

KWAN, P.; ARZIMANOGLU, A.; BERG, A. T.; BRODIE, M. J.; ALLEN, HAUSER. W.; MATHERN, G.; MOSHÉ, S. L.; PERUCCA, E.; WIEBE, S.; FRENCH, J. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. **Epilepsia**, v. 51, n. 6, p. 1069-1077, 2010.

LÄHTEINEN, S.; PITKÄNEN, A.; SAARELAINEN, T.; NISSINEN, J.; KOPONEN, E.; CASTRÉN, E. Decreased BDNF signalling in transgenic mice reduces epileptogenesis. **European Journal of Neuroscience**, v. 15, n. 4, p. 721-734, 2002.

LAPCHAK, P. A., ARAUJO, D. M., HEFTI, F. Systemic interleukin-1 beta decreases brain-derived neurotrophic factor messenger RNA expression in the rat hippocampal formation. **Neuroscience**, v. 53, n. 2, p. 297-301, 1993.

LASOŃ, W.; CHLEBICKA, M.; REJDAK, K. Research advances in basic mechanisms of seizures and antiepileptic drug action. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 4, p. 787-801, 2013.

LASOŃ, W.; TURCHAN, J.; PRZEWŁOCKA, B.; ŁABUZ, D.; MACHELSKA, H.; PRZEWŁOCKI, R. Effects of pentylentetrazol kindling on glutamate receptor genes expression in the rat hippocampus. **Brain research**, v. 785, n. 2, p. 355-358, 1998.

LAU, A.; ARUNDINE, M.; SUN, H. S.; JONES, M.; TYMIANSKI, M. Inhibition of caspase-mediated apoptosis by peroxynitrite in traumatic brain injury. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 45, p. 11540-11553, 2006.

LAU, A.; TYMIANSKI, M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 460, n. 2, p. 525-542, 2010.

LEE, H. S. Chemical composition of *Cinnamomum cassia* leaf oils and suppression effect of cinnamyl alcohol on nitric oxide synthase. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 480-485, 2009.

LEE, R.; BALICK, M. J. Sweet wood—cinnamon and its importance as a spice and medicine. **Explore**, v. 1, n. 1, p. 61-64, 2005.

LEHNART, S. E.; MONGILLO, M.; BELLINGER, A.; LINDEGGER, N.; CHEN, B. X.; HSUEH, W.; LEDERER, W. J. Leaky Ca²⁺ release channel/ryanodine receptor 2 causes seizures and sudden cardiac death in mice. **The Journal of clinical investigation**, v. 118, n. 6, p. 2230-2245, 2008.

LEHRMANN, E.; GUIDETTI, P.; LÖVE, A.; WILLIAMSON, J.; BERTRAM, E. H.; & SCHWARCZ, R. Glial activation precedes seizures and hippocampal neurodegeneration in measles virus–infected mice. **Epilepsia**, v. 49, p. 13-23, 2008.

LEITE, J. P.; PEIXOTO-SANTOS, J. E. Glia and extracellular matrix molecules: What are their importance for the electrographic and MRI changes in the epileptogenic zone?. **Epilepsy & Behavior**, p. 106542, 2019.

LEWIS, M. A.; RUSSO, E. B.; SMITH, K. M. Pharmacological foundations of cannabis chemovars. **Planta medica**, v. 84, n. 04, p. 225-233, 2018.

LIANG, S. L.; CARLSON, G. C.; COULTER, D. A. Dynamic regulation of synaptic GABA release by the glutamate-glutamine cycle in hippocampal area CA1. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 33, p. 8537-8548, 2006.

LIAO, B. C.; HSIEH, C. W.; LIU, Y. C.; TZENG, T. T.; SUN, Y. W.; WUNG, B. S. Cinnamaldehyde inhibits the tumor necrosis factor- α -induced expression of cell adhesion molecules in endothelial cells by suppressing NF- κ B activation: Effects upon I κ B and Nrf2. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 229, n. 2, p. 161-171, 2008.

LIAO, J. C.; DENG, J. S.; CHIU, C. S.; HOU, W. C.; HUANG, S. S.; SHIE, P. H.; HUANG, G. J. Anti-inflammatory activities of *Cinnamomum cassia* constituents in vitro and in vivo. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

LIBBEY, J. E.; KIRKMAN, N. J.; WILCOX, K. S.; WHITE, H. S.; FUJINAMI, R. S. Role for complement in the development of seizures following acute viral infection. **Journal of virology**, v. 84, n. 13, p. 6452-6460, 2010.

LICINIO, J. Central nervous system cytokines and their relevance for neurotoxicity and apoptosis. In: *Advances in Research on Neurodegeneration*. Springer, 1997. p. 169-175.

LIN, C. C.; HSIAO, L. D.; CHIEN, C. S.; LEE, C. W.; HSIEH, J. T.; YANG, C. M. Tumor necrosis factor- α -induced cyclooxygenase-2 expression in human tracheal smooth muscle cells: involvement of p42/p44 and p38 mitogen-activated protein kinases and nuclear factor- κ B. **Cellular signalling**, v. 16, n. 5, p. 597-607, 2004.

LIN, P. S.; CHENG, R. H.; CHANG, M. C.; LEE, J. J.; CHANG, H. H.; HUANG, W. L.; JENG, J. H. TGF- β 1 stimulates cyclooxygenase-2 expression and PGE2 production of human dental pulp cells: role of ALK5/Smad2 and MEK/ERK signal transduction pathways. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 116, n. 10, p. 748-754, 2017.

LIN, T. W.; HARWARD, S. C.; HUANG, Y. Z.; MCNAMARA, J. O. Targeting BDNF/TrkB Pathways for Preventing or Suppressing Epilepsy. **Neuropharmacology**, p. 107734, 2019.

LITTLE, A. R.; O'CALLAGHAN, J. P. Astroglialosis in the adult and developing CNS: is there a role for proinflammatory cytokines?. **Neurotoxicology**, v. 22, n. 5, p. 607-618, 2001.

LIU, J. Y.; THOM, M.; CATARINO, C. B.; MARTINIAN, L.; FIGARELLA-BRANGER, D.; BARTOLOMEI, F.; SISODIYA, S. M. Neuropathology of the blood–brain barrier and pharmaco-resistance in human epilepsy. **Brain**, v. 135, n. 10, p. 3115-3133, 2012a.

LIU, X.; WU, Z.; HAYASHI, Y.; NAKANISHI, H. Age-dependent neuroinflammatory responses and deficits in long-term potentiation in the hippocampus during systemic inflammation. **Neuroscience**, v. 216, p. 133-142, 2012b.

LIU, X.; YANG, Z.; YANG, J.; YANG, H. Increased P-glycoprotein expression and decreased phenobarbital distribution in the brain of pentylentetrazole-kindled rats. **Neuropharmacology**, v. 53, n. 5, p. 657-663, 2007.

LIVINGSTON, S.; VILLAMATER, C.; SAKATA, Y.; PAULI, L. L. Use of carbamazepine in epilepsy: results in 87 patients. **JAMA**, v. 200, n. 3, p. 204-208, 1967.

LÖSCHER, W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. **Seizure**, v. 20, n. 5, p. 359-368, 2011.

LÖSCHER, W.; HONACK, D.; FASSBENDER, C. P.; NOLTING, B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs. III. Pentylentetrazole seizure models. **Epilepsy research**, v. 8, n. 3, p. 171-189, 1991.

LÖSCHER, W.; ROGAWSKI, M. A. How theories evolved concerning the mechanism of action of barbiturates. **Epilepsia**, v. 53, p. 12-25, 2012.

LUND, I. V.; HU, Y.; RAOL, Y. H.; BENHAM, R. S.; FARIS, R.; RUSSEK, S. J.; BROOKS-KAYAL, A. R. BDNF selectively regulates GABAA receptor transcription by activation of the JAK/STAT pathway. **Science signaling**, v. 1, n. 41, p. ra9-ra9, 2008.

LYMAN, M.; LLOYD, D. G.; JI, X.; VIZCAYCHIPI, M. P.; MA, D. Neuroinflammation: the role and consequences. **Neuroscience research**, v. 79, p. 1-12, 2014.

LYNCH, B. A.; LAMBENG, N.; NOCKA, K.; KENSEL-HAMMES, P.; BAJJALIEH, S. M.; MATAGNE, A.; FUKS, B. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 26, p. 9861-9866, 2004.

MACDONALD, R. L.; BARKER, J. L. Specific antagonism of GABA-mediated postsynaptic inhibition in cultured mammalian spinal cord neurons: A common mode of convulsant action. **Neurology**, v. 28, n. 4, p. 325-325, 1978.

MALTHANKAR-PHATAK, G. H.; DE LANEROLLE, N.; EID, T.; SPENCER, D. D.; BEHAR, K. L.; SPENCER, S. S.; LAI, J. C. Differential glutamate dehydrogenase (GDH) activity profile in patients with temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 47, n. 8, p. 1292-1299, 2006.

MANDER, P.; BROWN, G. C. Activation of microglial NADPH oxidase is synergistic with glial iNOS expression in inducing neuronal death: a dual-key mechanism of inflammatory neurodegeneration. **Journal of neuroinflammation**, v. 2, n. 1, p. 20, 2005.

MANEV, H.; FAVARON, M. A. R. C. O.; GUIDOTTI, A. L. E. S. S. A. N. D. R. O.; COSTA, E. R. M. I. N. I. O. Delayed increase of Ca²⁺ influx elicited by glutamate: role in neuronal death. **Molecular pharmacology**, v. 36, n. 1, p. 106-112, 1989.

MARCHESELLI, V. L.; BAZAN, N. G. Sustained induction of prostaglandin endoperoxide synthase-2 by seizures in hippocampus Inhibition by a platelet-activating factor antagonist. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 40, p. 24794-24799, 1996.

MARCHI, N.; ANGELOV, L.; MASARYK, T.; FAZIO, V.; GRANATA, T.; HERNANDEZ, N.; JANIGRO, D. Seizure-promoting effect of blood-brain barrier disruption. **Epilepsia**, v. 48, n. 4, p. 732-742, 2007.

MARCHI, N.; GRANATA, T.; GHOSH, C.; JANIGRO, D. Blood-brain barrier dysfunction and epilepsy: pathophysiologic role and therapeutic approaches. **Epilepsia**, v. 53, n. 11, p. 1877-1886, 2012.

MARÍN-TEVA, J. L.; CUADROS, M. A.; MARTÍN-OLIVA, D.; NAVASCUÉS, J. Microglia and neuronal cell death. **Neuron glia biology**, v. 7, n. 1, p. 25, 2011.

MARK, K. S.; TRICKLER, W. J.; MILLER, D. W. Tumor necrosis factor- α induces cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin release in brain microvessel endothelial cells. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 297, n. 3, p. 1051-1058, 2001.

MASCARUCCI, P., PEREGO, C., TERRAZZINO, S., DE SIMONI, M. G. Glutamate release in the nucleus tractus solitarius induced by peripheral lipopolysaccharide and interleukin-1 β . **Neuroscience**, v. 86, n. 4, p. 1285-1290, 1998.

MASIA, S. L.; DEVINSKY, O. Epilepsy and behavior: a brief history. **Epilepsy & Behavior**, v. 1, n. 1, p. 27-36, 2000.

MATOUSEK, S. B.; HEIN, A. M.; SHAFTEL, S. S.; OLSCHOWKA, J. A.; KYRKANIDES, S.; O'BANION, M. K. Cyclooxygenase-1 mediates prostaglandin E2 elevation and contextual memory impairment in a model of sustained hippocampal interleukin-1 β expression. **Journal of neurochemistry**, v. 114, n. 1, p. 247-258, 2010.

MCGEER, E. G.; MCGEER, P. L. Neuroinflammation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a field in its infancy. **Journal of Alzheimer's disease**, v. 19, n. 1, p. 355-361, 2010.

MCKAY, D. M.; LU, J.; JEDRZKIEWICZ, S.; HO, W.; SHARKEY, K. A. Nitric oxide participates in the recovery of normal jejunal epithelial ion transport following exposure to the superantigen, *Staphylococcus aureus* enterotoxin B. **The Journal of Immunology**, v. 163, n. 8, p. 4519-4526, 1999.

MCNAMARA, J. O., SCHARFMAN, H. E. Temporal lobe epilepsy and the BDNF receptor, TrkB. In: **Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [Internet]. 4th edition**. National Center for Biotechnology Information (US), 2012.

MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annual review of biochemistry**, v. 52, n. 1, p. 711-760, 1983.

MENDES, A. F.; CARVALHO, A. P.; CARAMONA, M. M.; LOPES, M. C. Role of nitric oxide in the activation of NF- κ B, AP-1 and NOS II expression in articular chondrocytes. **Inflammation Research**, v. 51, n. 7, p. 369-375, 2002.

MÉNDEZ-CUESTA, L. A.; MÁRQUEZ-VALADEZ, B.; PÉREZ-DE LA CRUZ, V.; ESCOBAR-BRIONES, C.; GALVÁN-ARZATE, S.; ALVAREZ-RUIZ, Y.; CARRILLO-MORA, P. Diazepam blocks striatal lipid peroxidation and improves stereotyped activity in a rat model of acute stress. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 109, n. 5, p. 350-356, 2011.

MIKAMI, Y.; KANEMARU, K.; OKUBO, Y.; NAKAUNE, T.; SUZUKI, J.; SHIBATA, K.; YAMAZAWA, T. Nitric oxide-induced activation of the type 1 ryanodine receptor is critical for epileptic seizure-induced neuronal cell death. **EBioMedicine**, v. 11, p. 253-261, 2016.

MINAMI, M.; KURAIISHI, Y.; SATOH, M. Effects of kainic acid on messenger RNA levels of IL-1 β , IL-6, TNF α and LIF in the rat brain. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 176, n. 2, p. 593-598, 1991.

MINAMI, M.; KURAIISHI, Y.; YAMAGUCHI, T.; NAKAI, S.; HIRAI, Y.; & SATOH, M. Convulsants induce interleukin-1 β messenger RNA in rat brain. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 171, n. 2, p. 832-837, 1990.

MIRMAZLOUM, I.; KISS, A.; LADÁNYI, M.; GYÖRGY, Z. Production of cinnamyl alcohol glycosides by biotransformation in roseroot callus cells. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 139, n. 1, p. 29-37, 2019.

MODI, K. K.; ROY, A.; BRAHMACHARI, S.; RANGASAMY, S. B.; PAHAN, K. Cinnamon and its metabolite sodium benzoate attenuate the activation of p21^{rac} and protect memory and learning in an animal model of Alzheimer's disease. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0130398, 2015.

MÖHLER, H.; OKADA, T.; HEITZ, P. H.; ULRICH, J. Biochemical identification of the site of action of benzodiazepines in human brain by 3H-diazepam binding. **Life sciences**, v. 22, n. 11, p. 985-995, 1978.

MOJARAD, T. B.; ROGHANI, M. The anticonvulsant and antioxidant effects of berberine in kainate-induced temporal lobe epilepsy in rats. **Basic and clinical neuroscience**, v. 5, n. 2, p. 124, 2014.

MOLINA-HOLGADO, E.; ORTIZ, S.; MOLINA-HOLGADO, F.; GUAZA, C. Induction of COX-2 and PGE2 biosynthesis by IL-1 β is mediated by PKC and mitogen-activated protein kinases in murine astrocytes. **British journal of pharmacology**, v. 131, n. 1, p. 152-159, 2000.

MONTEIRO, Á. B.; DE ANDRADE, H. H. N.; FELIPE, C. F. B.; DE ALMEIDA, R. N. Pharmacological Studies on Cinnamic Alcohol and Its Derivatives. **Revista Brasileira de Farmacognsia**, v. 31, p. 16-23, 2021.

MORIMOTO, K. Seizure-triggering mechanisms in the kindling model of epilepsy: collapse of GABA-mediated inhibition and activation of NMDA receptors. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 13, n. 4, p. 253-260, 1989.

MÜLLER, C. J.; BANKSTAHL, M.; GRÖTICKE, I.; LÖSCHER, W. Pilocarpine vs. lithium–pilocarpine for induction of status epilepticus in mice: development of spontaneous seizures, behavioral alterations and neuronal damage. **European journal of pharmacology**, v. 619, n. 1-3, p. 15-24, 2009.

MURAD, F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. **Bioscience reports**, v. 24, n. 4-5, p. 452-474, 2004.

MURAKAMI, M.; NARABA, H.; TANIOKA, T.; SEMMYO, N.; NAKATANI, Y.; KOJIMA, F.; KUDO, I. Regulation of prostaglandin E2 biosynthesis by inducible membrane-associated prostaglandin E2 synthase that acts in concert with cyclooxygenase-2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 42, p. 32783-32792, 2000.

MURPHY, S. N.; MILLER, R. J. A glutamate receptor regulates Ca²⁺ mobilization in hippocampal neurons. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 85, n. 22, p. 8737-8741, 1988.

MUSAVI, S.; KAKKAR, P. Pro and antioxidant responses to repeated administration of diazepam in rat brain. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 206, n. 1-2, p. 97-103, 2000.

NAGRANI, T.; SIYAMWALA, M.; VAHID, G.; BEKHEIT, S. Ryanodine calcium channel: a novel channelopathy for seizures. **The neurologist**, v. 17, n. 2, p. 91-94, 2011.

NAKAMURA, Y.; DARNIEDER, L. M.; DEEB, T. Z.; MOSS, S. J. Regulation of GABAARs by phosphorylation. In: Advances in pharmacology. **Academic Press**, p. 97-146, 2015.

NATHAN, C.; XIE, Q. W. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. **Cell**, v. 78, n. 6, p. 915-918, 1994.

NISHIHAM, I.; TOSHIKI, M.; WATANABE, Y.; ITO, S.; HAYAISHI, O. Prostaglandin E2 stimulates glutamate release from synaptosomes of rat spinal cord. **Neuroscience letters**, v. 196, n. 1-2, p. 57-60, 1995.

O'BRIEN, J. S.; SAMPSON, E. L. Lipid composition of the normal human brain: gray matter, white matter, and myelin. **Journal of lipid research**, v. 6, n. 4, p. 537-544, 1965.

OCHOA, J. G.; KILGO, W. A. The role of benzodiazepines in the treatment of epilepsy. **Current treatment options in neurology**, v. 18, n. 4, p. 18, 2016.

OGATA, S.; KUBOTA, Y.; YAMASHIRO, T.; TAKEUCHI, H.; NINOMIYA, T.; SUYAMA, Y.; SHIRASUNA, K. Signaling pathways regulating IL-1 α -induced COX-2 expression. **Journal of dental research**, v. 86, n. 2, p. 186-191, 2007.

OKADA, K.; YUHI, T.; TSUJI, S.; YAMASHITA, U. Cyclooxygenase-2 expression in the hippocampus of genetically epilepsy susceptible EI mice was increased after seizure. **Brain research**, v. 894, n. 2, p. 332-335, 2001.

OLIVEIRA, M. S.; FURIAN, A. F.; RAMBO, L. M.; RIBEIRO, L. R.; ROYES, L. F. F.; FERREIRA, J.; MELLO, C. F. Modulation of pentylentetrazol-induced seizures by prostaglandin E2 receptors. **Neuroscience**, v. 152, n. 4, p. 1110-1118, 2008a.

OLIVEIRA, M. S.; FURIAN, A. F.; ROYES, L. F. F.; FIGHERA, M. R.; FIORENZA, N. G.; CASTELLI, M.; CAVALHEIRO, E. A. Cyclooxygenase-2/PGE2 pathway facilitates pentylentetrazol-induced seizures. **Epilepsy research**, v. 79, n. 1, p. 14-21, 2008b.

OLIVEIRA, S. M. D.; SILVA, J. B. P. D.; HERNANDES, M. Z.; LIMA, M. D. C. A. D.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. D. R. Estrutura, reatividade e propriedades biológicas de hidantoínas. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 614-622, 2008c.

OLSEN, R. W.; SIEGHART, W. International Union of Pharmacology. LXX. Subtypes of γ -aminobutyric acid-A receptors: classification on the basis of subunit composition, pharmacology, and function. Update. **Pharmacological reviews**, 2008.

PALIYATH, G.; BAKOVIC, M.; SHETTY, K. (Ed.). Functional foods, nutraceuticals, and degenerative disease prevention. **John Wiley & Sons**, 2011.

PANOSSIAN, A.; WIKMAN, G.; SARRIS, J. Rosenroot (*Rhodiola rosea*): traditional use, chemical composition, pharmacology and clinical efficacy. **Phytomedicine**, v. 17, n. 7, p. 481-493, 2010.

PAOLETTI, P.; BELLONE, C.; ZHOU, Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 14, n. 6, p. 383-400, 2013.

PAPP, A.; FEHÉR, O.; ERDÉLYI, L. The ionic mechanism of the pentylentetrazol convulsions. **Acta Biologica Hungarica**, v. 38, n. 3-4, p. 349-361, 1987.

PARTHASARATHY, V. A., CHEMPAKAM, B., ZACHARIAH, T. J. **Chemistry of Spices**. Oxfordshire, UK: CABI International, 2008.

PATRA, K.; BOSE, S.; SARKAR, S.; RAKSHIT, J.; JANA, S.; MUKHERJEE, A.; BHATTACHARJEE, S. Amelioration of cyclophosphamide induced myelosuppression and oxidative stress by cinnamic acid. **Chemico-biological interactions**, v. 195, n. 3, p. 231-239, 2012.

PATSOUKIS, N.; ZERVOUDAKIS, G.; PANAGOPOULOS, N. T.; GEORGIU, C.D.; ANGELATOU, F.; MATSOKIS, N. A. Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in

the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. **Neuroscience letters**, v. 357, n. 2, p. 83-86, 2004.

PAVLOVA, T.; STEPANICHEV, M.; GULYAEVA, N. Pentylenetetrazole kindling induces neuronal cyclin B1 expression in rat hippocampus. **Neuroscience letters**, v. 392, n. 1, p. 154-158, 2006.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition**. Elsevier, 2006.

PERNHORST, K.; HERMS, S.; HOFFMANN, P.; CICHON, S.; SCHULZ, H.; SANDER, T.; GROTE, A. TLR4, ATF-3 and IL8 inflammation mediator expression correlates with seizure frequency in human epileptic brain tissue. **Seizure**, v. 22, n. 8, p. 675-678, 2013.

PERUCCA, E. An introduction to antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v. 46, p. 31-37, 2005.

PERUCCA, P.; GILLIAM, F. G. Adverse effects of antiepileptic drugs. **The Lancet Neurology**, v. 11, n. 9, p. 792-802, 2012.

PETERSON, D. W.; GEORGE, R. C.; SCARAMOZZINO, F.; LAPOINTE, N. E.; ANDERSON, R. A.; GRAVES, D. J.; LEW, J. Cinnamon extract inhibits tau aggregation associated with Alzheimer's disease in vitro. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 17, n. 3, p. 585-597, 2009.

PETROFF, O. A.; ROTHMAN, D. L.; BEHAR, K. L.; MATTSON, R. H. Low brain GABA level is associated with poor seizure control. **Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society**, v. 40, n. 6, p. 908-911, 1996.

PITKÄNEN, A.; BUCKMASTER, P.; GALANOPOULOU, A. S.; MOSHÉ, S. L. (Eds.). **Models of seizures and epilepsy**. Academic Press, 2017.

PLATA-SALAMÁN, C. R.; ILYIN, S. E.; TURRIN, N. P.; GAYLE, D.; FLYNN, M. C.; ROMANOVITCH, A. E.; MCINTYRE, D. C. Kindling modulates the IL-1 β system, TNF- α , TGF- β 1, and neuropeptide mRNAs in specific brain regions. **Molecular Brain Research**, v. 75, n. 2, p. 248-258, 2000.

POH LOH, K.; HONG HUANG, S.; DE SILVA, R.; TAN, H.; BENNY, K.; ZHUN ZHU, Y. Oxidative stress: apoptosis in neuronal injury. **Current Alzheimer Research**, v. 3, n. 4, p. 327-337, 2006.

POLASCHECK, N.; BANKSTAHL, M.; LÖSCHER, W. The COX-2 inhibitor parecoxib is neuroprotective but not antiepileptogenic in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. **Experimental neurology**, v. 224, n. 1, p. 219-233, 2010.

POTSCHKA, H. Modulating P-glycoprotein regulation: Future perspectives for pharmaco-resistant epilepsies?. **Epilepsia**, v. 51, n. 8, p. 1333-1347, 2010.

PROW, N. A.; IRANI, D. N. The inflammatory cytokine, interleukin-1 beta, mediates loss of astroglial glutamate transport and drives excitotoxic motor neuron injury in the spinal cord during acute viral encephalomyelitis. **Journal of neurochemistry**, v. 105, n. 4, p. 1276-1286, 2008.

QUINET, A.; BAITELLO, J. B.; MORAES, P. L. R. DE, ASSIS, L.; ALVES, F. M. **Lauraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB25615>. Acesso em: 05-10-2018.

RADI, R.; BECKMAN, J. S.; BUSH, K. M.; FREEMAN, B. A. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 288, n. 2, p. 481-487, 1991.

RAE, C. D.; WILLIAMS, S. R. Glutathione in the human brain: Review of its roles and measurement by magnetic resonance spectroscopy. **Analytical biochemistry**, v. 529, p. 127-143, 2017.

RAGE, F.; SILHOL, M.; TAPIA-ARANCIBIA, L. IL-1 β regulation of BDNF expression in rat cultured hypothalamic neurons depends on the presence of glial cells. **Neurochemistry international**, v. 49, n. 5, p. 433-441, 2006.

RAKHADE, S. N.; FITZGERALD, E. F.; KLEIN, P. M.; ZHOU, C.; SUN, H.; HUGANIR, R. L.; JENSEN, F. E. Glutamate receptor 1 phosphorylation at serine 831 and 845 modulates seizure susceptibility and hippocampal hyperexcitability after early life seizures. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 49, p. 17800-17812, 2012.

RANA, A.; MUSTO, A. E. The role of inflammation in the development of epilepsy. **Journal of neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 144, 2018.

RAO, P. V.; GAN, S. H. Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

RASOLA, A.; BERNARDI, P. Mitochondrial permeability transition in Ca^{2+} -dependent apoptosis and necrosis. **Cell calcium**, v. 50, n. 3, p. 222-233, 2011.

RAUCA, C.; ZERBE, R.; JANTZE, H. Formation of free hydroxyl radicals after pentylenetetrazol-induced seizure and kindling. **Brain research**, v. 847, n. 2, p. 347-351, 1999.

RAVINDRAN, P. N.; NIRMAL-BABU, K.; SHYLAJA, M. (Ed.). **Cinnamon and cassia: the genus *Cinnamomum***. CRC press, 2003.

RAVIZZA, T.; RIZZI, M.; PEREGO, C.; RICHICHI, C.; VELÍSKÖVÁ, J.; MOSHÉ, S. L.; VEZZANI, A. Inflammatory response and glia activation in developing rat hippocampus after status epilepticus. **Epilepsia**, v. 46, p. 113-117, 2005.

RAWAT, C.; KUKAL, S.; DAHIYA, U. R.; KUKRETI, R. Cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors: future therapeutic strategies for epilepsy management. **Journal of neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2019.

REDDY, A. M.; SEO, J. H.; RYU, S. Y.; KIM, Y. S.; KIM, Y. S.; MIN, K. R.; KIM, Y. Cinnamaldehyde and 2-methoxycinnamaldehyde as NF- κ B inhibitors from *Cinnamomum cassia*. **Planta medica**, v. 70, n. 09, p. 823-827, 2004.

REDDY, D. S.; GOLUB, V. M. The pharmacological basis of cannabis therapy for epilepsy. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 357, n. 1, p. 45-55, 2016.

REHAVI, M.; SKOLNICK, P.; PAUL, S. M. Effects of tetrazole derivatives on [3H] diazepam binding in vitro: correlation with convulsant potency. **European journal of pharmacology**, v. 78, n. 3, p. 353-356, 1982.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; MADELLA, D.; MARTINAZZO, A. P.; MOURA, L. D. A. G.; DE MELO, N. R.; SANCHES-SILVA, A. Revisiting an ancient

spice with medicinal purposes: Cinnamon. **Trends in Food Science & Technology**, v. 62, p. 154-169, 2017.

ROJAS, A.; GANESH, T.; LELUTIU, N.; GUEORGUIEVA, P.; DINGLEDINE, R. Inhibition of the prostaglandin EP2 receptor is neuroprotective and accelerates functional recovery in a rat model of organophosphorus induced status epilepticus. **Neuropharmacology**, v. 93, p. 15-27, 2015.

ROJAS, A.; GANESH, T.; MANJI, Z.; O'NEILL, T.; DINGLEDINE, R. Inhibition of the prostaglandin E2 receptor EP2 prevents status epilepticus-induced deficits in the novel object recognition task in rats. **Neuropharmacology**, v. 110, p. 419-430, 2016.

ROJAS, A.; GUEORGUIEVA, P.; LELUTIU, N.; QUAN, Y.; SHAW, R.; DINGLEDINE, R. The prostaglandin EP1 receptor potentiates kainate receptor activation via a protein kinase C pathway and exacerbates status epilepticus. **Neurobiology of disease**, v. 70, p. 74-89, 2014a.

ROJAS, A.; JIANG, J.; GANESH, T.; YANG, M. S.; LELUTIU, N.; GUEORGUIEVA, P.; DINGLEDINE, R. Cyclooxygenase-2 in epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 1, p. 17-25, 2014b.

ROSETI, C.; VAN VLIET, E. A.; CIFELLI, P.; RUFFOLO, G.; BAAYEN, J. C.; DI CASTRO, M. A.; PALMA, E. GABA_A currents are decreased by IL-1 β in epileptogenic tissue of patients with temporal lobe epilepsy: implications for ictogenesis. **Neurobiology of disease**, v. 82, p. 311-320, 2015.

ROUZER, C. A.; MARNETT, L. J. Cyclooxygenases: structural and functional insights. **Journal of lipid research**, v. 50, n. Supplement, p. S29-S34, 2009.

ROVER JÚNIOR, L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

RUDGE, J. S.; MATHER, P. E.; PASNIKOWSKI, E. M.; CAI, N.; CORCORAN, T.; ACHESON, A.; WIEGAND, S. J. Endogenous BDNF protein is increased in adult rat

hippocampus after a kainic acid induced excitotoxic insult but exogenous BDNF is not neuroprotective. **Experimental neurology**, v. 149, n. 2, p. 398-410, 1998.

SAKINA, M. R.; DANDIYA, P. C. A psycho-neuropharmacological profile of *Centella asiatica* extract. **Fitoterapia**, v. 61, n. 4, p. 291-296, 1990.

SAKURAI, M.; MORITA, T.; TAKEUCHI, T.; SHIMADA, A. Relationship of angiogenesis and microglial activation to seizure-induced neuronal death in the cerebral cortex of Shetland Sheepdogs with familial epilepsy. **American Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 5, p. 763-770, 2013.

SANG, N.; ZHANG, J.; MARCHESELLI, V.; BAZAN, N. G.; CHEN, C. Postsynaptically synthesized prostaglandin E2 (PGE2) modulates hippocampal synaptic transmission via a presynaptic PGE2 EP2 receptor. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 43, p. 9858-9870, 2005.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant growth regulation**, v. 34, n. 1, p. 3-21, 2001.

SANTOS, A. C.; TEMP, F. R.; MARAFIGA, J. R.; PILLAT, M. M.; HESSEL, A. T.; RIBEIRO, L. R.; MELLO, C. F. EP2 receptor agonist ONO-AE1-259-01 attenuates pentylentetrazole-and pilocarpine-induced seizures but causes hippocampal neurotoxicity. **Epilepsy & Behavior**, v. 73, p. 180-188, 2017.

SARAC, S.; AFZAL, S.; BROHOLM, H.; MADSEN, F. F.; PLOUG, T.; LAURSEN, H. Excitatory amino acid transporters EAAT-1 and EAAT-2 in temporal lobe and hippocampus in intractable temporal lobe epilepsy. **Apmis**, v. 117, n. 4, p. 291-301, 2009.

SCHEFFER, I.E.; BERKOVIC, S.; CAPOVILLA, G.; CONNOLLY, M.B.; FRENCH, J.; GUILHOTO, L.; HIRSCH, E.; JAIN, A.; MATHERN, G.W.; MOSHÉ, S.L.; NORDLI, D.R.; PERUCCA, E.; TOMSON, T.; WIEBE, S.; ZHANG, Y.; ZUBERI, S.M. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, v. 58, n. 4, p. 512-521, 2017.

SCHÖBITZ, B.; DE KLOET, E. R.; HOLSBOER, F. Gene expression and function of interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor in the brain. **Progress in neurobiology**, v. 44, n. 4, p. 397-432, 1994.

SCHREINER, M.; MEWIS, I.; HUYSKENS-KEIL, S.; JANSEN, M. A. K.; ZRENNER, R.; WINKLER, J. B.; KRUMBEIN, A. UV-B-induced secondary plant metabolites-potential benefits for plant and human health. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 31, n. 3, p. 229-240, 2012.

SCHROEDER, H.; BECKER, A.; GRECKSCH, G.; SCHROEDER, U.; HOELLT, V. The effect of pentylentetrazol kindling on synaptic mechanisms of interacting glutamatergic and opioid system in the hippocampus of rats. **Brain research**, v. 811, n. 1-2, p. 40-46, 1998.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SEIFERT, G.; CARMIGNOTO, G.; STEINHÄUSER, C. Astrocyte dysfunction in epilepsy. **Brain research reviews**, v. 63, n. 1-2, p. 212-221, 2010.

SEIFERT, G.; STEINHÄUSER, C. Neuron-astrocyte signaling and epilepsy. **Experimental neurology**, v. 244, p. 4-10, 2013.

SHARMA, V.; NEHRU, B.; MUNSHI, A.; JYOTHY, A. Antioxidant potential of curcumin against oxidative insult induced by pentylentetrazol in epileptic rats. **Methods and findings in experimental and clinical pharmacology**, v. 32, n. 4, p. 227, 2010.

SHENG, J. G.; BOOP, F. A.; MRAK, R. E.; GRIFFIN, W. S. T. Increased neuronal β -amyloid precursor protein expression in human temporal lobe epilepsy: association with interleukin-1 α immunoreactivity. **Journal of neurochemistry**, v. 63, n. 5, p. 1872-1879, 1994.

SHI, L. M.; CHEN, R. J.; ZHANG, H.; JIANG, C. M.; GONG, J. Cerebrospinal fluid neuron specific enolase, interleukin-1 β and erythropoietin concentrations in children after seizures. **Child's Nervous System**, v. 33, n. 5, p. 805-811, 2017.

SHIGERI, Y.; SEAL, R. P.; SHIMAMOTO, K. Molecular pharmacology of glutamate transporters, EAATs and VGLUTs. **Brain Research Reviews**, v. 45, n. 3, p. 250-265, 2004.

SHIM, S. Y.; KIM, H. S. Oxidative stress and the antioxidant enzyme system in the developing brain. **Korean journal of pediatrics**, v. 56, n. 3, p. 107, 2013.

SHIMIZU, T.; WOLFE, L. S. Arachidonic acid cascade and signal transduction. **Journal of neurochemistry**, v. 55, n. 1, p. 1, 1990.

SIEGER, D.; MORITZ, C.; ZIEGENHALS, T.; PRYKHOZHIIJ, S.; PERI, F. Long-range Ca^{2+} waves transmit brain-damage signals to microglia. **Developmental cell**, v. 22, n. 6, p. 1138-1148, 2012.

SILVERBERG, J.; GINSBURG, D.; ORMAN, R.; AMASSIAN, V.; DURKIN, H. G.; STEWART, M. Lymphocyte infiltration of neocortex and hippocampus after a single brief seizure in mice. **Brain, behavior, and immunity**, v. 24, n. 2, p. 263-272, 2010.

SINGH, R.; MCKINLAY GARDNER, R. J.; CROSSLAND, K. M.; SCHEFFER, I. E.; BERKOVIC, S. F. Chromosomal abnormalities and epilepsy: a review for clinicians and gene hunters. **Epilepsia**, v. 43, n. 2, p. 127-140, 2002.

SIRVEN, J. I.; NOE, K.; HOERTH, M.; DRAZKOWSKI, J. Antiepileptic drugs 2012: recent advances and trends. In: **Mayo Clinic Proceedings**. Elsevier, 2012. p. 879-889.

SMITH, W. L.; DEWITT, D. L.; GARAVITO, R. M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. **Annual review of biochemistry**, v. 69, n. 1, p. 145-182, 2000.

SMITH, W. L.; GARAVITO, R. M.; DEWITT, D. L. Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and- 2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 52, p. 33157-33160, 1996.

SOLÍS, H.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, E.; ESTRADA, F. S. The blood brain barrier and the temporal lobe epilepsy. **Archivos de Neurociencias**, v. 19, n. 1, p. 42-47, 2014.

SONG, F.; LI, H.; SUN, J.; WANG, S. Protective effects of cinnamic acid and cinnamic aldehyde on isoproterenol-induced acute myocardial ischemia in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 150, n. 1, p. 125-130, 2013.

SONG, G.; OUYANG, G.; BAO, S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 9, n. 1, p. 59-71, 2005.

SPINELLA, M. Herbal medicines and epilepsy: the potential for benefit and adverse effects. **Epilepsy & Behavior**, v. 2, n. 6, p. 524-532, 2001.

SPRANGER, M.; LINDHOLM, D.; BANDTLOW, C.; HEUMANN, R.; GNAHN, H.; NÄHER-NOÉ, M.; THOENEN, H. Regulation of nerve growth factor (NGF) synthesis in the rat central nervous system: comparison between the effects of interleukin-1 and various growth factors in astrocyte cultures and in vivo. **European Journal of Neuroscience**, v. 2, n. 1, p. 69-76, 1990.

SQUIRES, R. F.; SAEDERUP, E.; CRAWLEY, J. N.; SKOLNICK, P.; PAUL, S. M. Convulsant potencies of tetrazoles are highly correlated with actions on GABA/benzodiazepine/picrotoxin receptor complexes in brain. **Life sciences**, v. 35, n. 14, p. 1439-1444, 1984.

STAVINOHA, R. C.; VATTEM, D. A. Potential neuroprotective effects of cinnamon. **International Journal of Applied Research in Natural Products**, v. 8, n. 3, p. 24-46, 2015.

STEBBING, M. J.; COTTEE, J. M.; RANA, I. The role of ion channels in microglial activation and proliferation—a complex interplay between ligand-gated ion channels, K⁺ channels, and intracellular Ca²⁺. **Frontiers in immunology**, v. 6, p. 497, 2015.

STEWART, A. M.; KALUEFF, A. V. Developing better and more valid animal models of brain disorders. **Behavioural brain research**, v. 276, p. 28-31, 2015.

STOLP, H. B.; DZIEGIELEWSKA, K. M. Role of developmental inflammation and blood–brain barrier dysfunction in neurodevelopmental and neurodegenerative diseases. **Neuropathology and applied neurobiology**, v. 35, n. 2, p. 132-146, 2009.

STORES, G.; WILLIAMS, P. L.; STYLES, E.; ZAIWALLA, Z. Psychological effects of sodium valproate and carbamazepine in epilepsy. **Archives of disease in childhood**, v. 67, n. 11, p. 1330-1337, 1992.

SZELÉNYI, J. Cytokines and the central nervous system. **Brain research bulletin**, v. 54, n. 4, p. 329-338, 2001.

TAI, X. Y.; BERNHARDT, B.; THOM, M.; THOMPSON, P.; BAXENDALE, S.; KOEPP, M.; BERNASCONI, N. Neurodegenerative processes in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: Clinical, pathological and neuroimaging evidence. **Neuropathology and applied neurobiology**, v. 44, n. 1, p. 70-90, 2018.

TAKAHASHI, K.; FOSTER, J. B.; LIN, C.-L. G. Glutamate transporter EAAT2: regulation, function, and potential as a therapeutic target for neurological and psychiatric disease. **Cellular and molecular life sciences**, v. 72, n. 18, p. 3489-3506, 2015.

TAKAYANAGUI, O. M.; LEITE, J. P. Neurocisticercose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 283-290, 2001.

TAKEMIYA, T., MAEHARA, M., MATSUMURA, K., YASUDA, S., SUGIURA, H., YAMAGATA, K. Prostaglandin E2 produced by late induced COX-2 stimulates hippocampal neuron loss after seizure in the CA3 region. **Neuroscience research**, v. 56, n. 1, p. 103-110, 2006.

TAKEMIYA, T.; SUZUKI, K.; SUGIURA, H.; YASUDA, S.; YAMAGATA, K.; KAWAKAMI, Y.; MARU, E. Inducible brain COX-2 facilitates the recurrence of hippocampal seizures in mouse rapid kindling. **Prostaglandins & other lipid mediators**, v. 71, n. 3-4, p. 205-216, 2003.

TANI, H.; DULLA, C. G.; FARZAMPOUR, Z.; TAYLOR-WEINER, A.; HUGUENARD, J. R. REIMER, R. J. A local glutamate-glutamine cycle sustains synaptic excitatory transmitter release. **Neuron**, v. 81, n. 4, p. 888-900, 2014.

TAYLOR, J. M.; MAIN, B. S.; CRACK, P. J. Neuroinflammation and oxidative stress: co-conspirators in the pathology of Parkinson's disease. **Neurochemistry international**, v. 62, n. 5, p. 803-819, 2013.

THEODOSIS-NOBELOS, P.; KOURTI, M.; TZIONA, P.; KOUROUNAKIS, P. N.; REKKA, E. A. Esters of some non-steroidal anti-inflammatory drugs with cinnamyl alcohol are potent lipoxygenase inhibitors with enhanced anti-inflammatory activity. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 22, p. 5028-5031, 2015.

THOMPSON, P. J.; BAXENDALE, S. A.; MCEVOY, A. W.; DUNCAN, J. S. Cognitive outcomes of temporal lobe epilepsy surgery in older patients. **Seizure**, v. 29, p. 41-45, 2015.

TOMKINS, O.; SHELEF, I.; KAIZERMAN, I.; ELIUSHIN, A.; AFAWI, Z.; MISK, A.; FRIEDMAN, A. Blood-brain barrier disruption in post-traumatic epilepsy. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 79, n. 7, p. 774-777, 2008.

TRAYNELIS, S. F.; WOLLMUTH, L. P.; MCBAIN, C. J.; MENNITI, F. S.; VANCE, K. M.; OGDEN, K. K.; DINGLEDINE, R. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. **Pharmacological reviews**, v. 62, n. 3, p. 405-496, 2010.

TREIMAN, D. M. GABAergic mechanisms in epilepsy. **Epilepsia**, v. 42, p. 8-12, 2001.

TROUPIN, A. S. Carbamazepine in epilepsy. **Clinical neuropharmacology**, v. 3, p. 35-40, 1978.

ULUDAG, I. F.; DUKSAL, T.; TIFTIKCIOGLU, B. I.; ZORLU, Y.; OZKAYA, F.; KIRKALI, G. IL-1 β , IL-6 and IL1Ra levels in temporal lobe epilepsy. **Seizure**, v. 26, p. 22-25, 2015.

VALLEJO, F.; MARÍN, J. G.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Phenolic compound content of fresh and dried figs (*Ficus carica* L.). **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 485-492, 2012.

VALLI, L. G.; SOBRINHO, J. A. Mecanismo de ação do glutamato no sistema nervoso central e a relação com doenças neurodegenerativas. **Revista Brasileira de neurologia e Psiquiatria**, v. 18, n. 1, 2014.

VAN DEN POL, A. N.; OBRIETAN, K.; BELOUSOV, A. Glutamate hyperexcitability and seizure-like activity throughout the brain and spinal cord upon relief from chronic glutamate receptor blockade in culture. **Neuroscience**, v. 74, n. 3, p. 653-674, 1996.

VAN DER HEL, W. S.; NOTENBOOM, R. G.; BOS, I. W. M.; VAN RIJEN, P. C.; VAN VEELLEN, C. W. M.; DE GRAAN, P. N. E. Reduced glutamine synthetase in hippocampal areas with neuron loss in temporal lobe epilepsy. **Neurology**, v. 64, n. 2, p. 326-333, 2005.

VAN VLIET, E. A.; DA COSTA ARAUJO, S.; REDEKER, S.; VAN SCHAIK, R.; ARONICA, E.; GORTER, J. A. Blood-brain barrier leakage may lead to progression of temporal lobe epilepsy. **Brain**, v. 130, n. 2, p. 521-534, 2007.

VELASCO-RAMIREZ, S. F.; ROSALES-RIVERA, L. Y.; RAMIREZ-ANGUIANO, A. C.; BITZER-QUINTERO, O. K. Cytokines and the nervous system: The relationship between seizures and epilepsy. **Revista de neurologia**, v. 57, n. 4, p. 171-177, 2013.

VEZZANI, A.; CONTI, M.; DE LUIGI, A.; RAVIZZA, T.; MONETA, D.; MARCHESI, F.; DE SIMONI, M. G. Interleukin-1 β immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 12, p. 5054-5065, 1999.

VEZZANI, A.; FRENCH, J.; BARTFAI, T.; BARAM, T. Z. The role of inflammation in epilepsy. **Nature reviews neurology**, v. 7, n. 1, p. 31, 2011.

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

VIEIRA, É. L. M.; DE OLIVEIRA, G. N. M.; LESSA, J. M. K.; GONÇALVES, A. P.; OLIVEIRA, A. C. P.; BAUER, M. E.; TEIXEIRA, A. L. Peripheral leukocyte profile in people with temporal lobe epilepsy reflects the associated proinflammatory state. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 53, p. 123-130, 2016.

VISHNOI, S.; RAISUDDIN, S.; PARVEZ, S. Glutamate excitotoxicity and oxidative stress in epilepsy: modulatory role of melatonin. **Journal of environmental pathology, toxicology and oncology**, v. 35, n. 4, 2016.

VIVIANI, B.; BARTESAGHI, S.; GARDONI, F.; VEZZANI, A.; BEHRENS, M. M.; BARTFAI, T.; MARINOVICH, M. Interleukin-1 β enhances NMDA receptor-mediated intracellular calcium increase through activation of the Src family of kinases. **Journal of neuroscience**, v. 23, n. 25, p. 8692-8700, 2003.

VOLK, H. A.; LÖSCHER, W. Multidrug resistance in epilepsy: rats with drug-resistant seizures exhibit enhanced brain expression of P-glycoprotein compared with rats with drug-responsive seizures. **Brain**, v. 128, n. 6, p. 1358-1368, 2005.

WANG, H.; HITRON, I. M.; IADECOLA, C.; PICKEL, V. M. Synaptic and vascular associations of neurons containing cyclooxygenase-2 and nitric oxide synthase in rat somatosensory cortex. **Cerebral cortex**, v. 15, n. 8, p. 1250-1260, 2005.

WANG, Y.; WANG, D.; GUO, D. Interictal cytokine levels were correlated to seizure severity of epileptic patients: a retrospective study on 1218 epileptic patients. **Journal of translational medicine**, v. 13, n. 1, p. 378, 2015.

WARREN, M. S.; ZERANGUE, N.; WOODFORD, K.; ROBERTS, L. M.; TATE, E. H.; FENG, B.; DE MORAIS, S. M. Comparative gene expression profiles of ABC transporters in brain microvessel endothelial cells and brain in five species including human. **Pharmacological research**, v. 59, n. 6, p. 404-413, 2009.

WEIDNER, L. D.; KANNAN, P.; MITSIOS, N.; KANG, S. J.; HALL, M. D.; THEODORE, W. H.; MULDER, J. The expression of inflammatory markers and their potential influence on efflux transporters in drug-resistant mesial temporal lobe epilepsy tissue. **Epilepsia**, v. 59, n. 8, p. 1507-1517, 2018.

WENG, L. P.; BROWN, J. L.; ENG, C. PTEN induces apoptosis and cell cycle arrest through phosphoinositol-3-kinase/Akt-dependent and-independent pathways. **Human molecular genetics**, v. 10, n. 3, p. 237-242, 2001.

WHO - World Health Organization. Fact sheet N^o 999: **Epilepsy**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>. Acesso em: 09/10/2020.

WOODBURY, D. M. Convulsant drugs: mechanism of drug action. **Advances in neurology**, v. 27, p. 249-303, 1980.

XIONG, Z. Q.; QIAN, W.; SUZUKI, K.; MCNAMARA, J. O. Formation of complement membrane attack complex in mammalian cerebral cortex evokes seizures and neurodegeneration. **Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 3, p. 955-960, 2003.

YACUBIAN, E. M. T.; COTRERAS-CAICEDO, G.; RÍOS-POHL, L. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Leitura Médica Ltda.; 2014.

YADAV, Y. C.; JAIN, A.; DEB, L. A review: neuropharmacological screening techniques for pharmaceuticals. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 2, p. 10-14, 2010.

YAMAGATA, K.; ANDREASSON, K. I.; KAUFMANN, W. E.; BARNES, C. A.; WORLEY, P. F. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: regulation by synaptic activity and glucocorticoids. **Neuron**, v. 11, n. 2, p. 371-386, 1993.

YE, Z-C.; SONTHEIMER, H. Cytokine modulation of glial glutamate uptake: a possible involvement of nitric oxide. **Neuroreport**, v. 7, n. 13, p. 2181-2185, 1996.

YERNOOL, D., BOUDKER, O., JIN, Y., GOUAUX, E. Structure of a glutamate transporter homologue from *Pyrococcus horikoshii*. **Nature**, v. 431, n. 7010, p. 811-818, 2004.

ZATTONI, M.; MURA, M. L.; DEPREZ, F.; SCHWENDENER, R. A.; ENGELHARDT, B.; FREI, K.; FRITSCHY, J. M. Brain infiltration of leukocytes contributes to the pathophysiology of temporal lobe epilepsy. **Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 11, p. 4037-4050, 2011.

ZBILI, M.; RAMA, S.; DEBANNE, D. Dynamic control of neurotransmitter release by presynaptic potential. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, v. 10, p. 278, 2016.

ZHAO, H.; ZHU, C.; HUANG, D. Microglial activation: an important process in the onset of epilepsy. **American Journal of Translational Research**, v. 10, n. 9, p. 2877, 2018.

ZHOU, W.; FREED, C. R. DJ-1 up-regulates glutathione synthesis during oxidative stress and inhibits A53T α -synuclein toxicity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 52, p. 43150-43158, 2005.

ZHU, G.; OKADA, M.; YOSHIDA, S.; MORI, F.; UENO, S.; WAKABAYASHI, K.; KANEKO, S. Effects of interleukin-1 β on hippocampal glutamate and GABA releases associated with Ca²⁺-induced Ca²⁺ releasing systems. **Epilepsy research**, v. 71, n. 2-3, p. 107-116, 2006.

ZHU, H. J.; LIU, G. Q. Glutamate up-regulates P-glycoprotein expression in rat brain microvessel endothelial cells by an NMDA receptor-mediated mechanism. **Life sciences**, v. 75, n. 11, p. 1313-1322, 2004.

ZIDAR, N.; ODAR, K.; GLAVAC, D.; JERSE, M.; ZUPANC, T.; STAJER, D. Cyclooxygenase in normal human tissues—is COX-1 really a constitutive isoform, and COX-2 an inducible isoform?. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 13, n. 9b, p. 3753-3763, 2009.



ANEXOS

ANEXO I - Certificado da CEUA



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais

Reitoria



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS NEUROPROTETORES DO ÁLCOOL CINÂMICO SOBRE OS PROCESSOS NEUROTÓXICOS INDUZIDOS POR PENTILENOTETRAZOL", protocolada sob o CEUA nº 7670220319 (ID 000555), sob a responsabilidade de **Reinaldo Nóbrega de Almeida e equipe; Álefe Brito Monteiro** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 12/04/2019.

We certify that the proposal "ASSESSMENT OF THE NEUROPROTECTIVE MECHANISMS OF CINNAMIC ALCOHOL ON PENTYLENETETRAZOLE-INDUCED NEUROXOTIC PROCESSES", utilizing 221 Heterogenics mice (221 males), protocol number CEUA 7670220319 (ID 000555), under the responsibility of **Reinaldo Nóbrega de Almeida and team; Álefe Brito Monteiro** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 04/12/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [06/2019](#) a [12/2022](#)

Área: [Fisiologia E Patologia](#)

Origem: [Unidade de Produção Animal IpeFarM](#)

Espécie: [Camundongos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [3 a 4 meses](#)

N: [221](#)

Linhagem: [Mus musculus - Swiss](#)

Peso: [20 a 40 g](#)

Local do experimento: [Laboratório de Psicofarmacologia/IpeFarM/UFPB](#)

João Pessoa, 13 de abril de 2019

Prof. Dra. Islania Gisela Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

ANEXO II - Produção científica e participação em eventos (2017-2021)**• Artigo publicado (referente à tese)**

Monteiro, Á.B., de Andrade, H.H.N., Felipe, C.F.B., de Almeida, R.N. Pharmacological Studies on Cinnamic Alcohol and Its Derivatives. Rev. Bras. Farmacogn. 31, 16–23 (2021). <https://doi.org/10.1007/s43450-021-00138-5>

• Artigos publicados (não referentes à tese)

1. De Oliveira, K. M.; Lima, C. M. B. L.; Melo, C. R.; **Monteiro, Á. B.** et al. Avaliação do efeito antidepressivo símile in vivo de um derivado de chalcona e sua modelagem molecular por docking. Revista Eletrônica Acervo em Saúde, v.13, p.e5573 - , 2021.
2. **Monteiro, Á. B.**; et al. Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Annona coriacea* (Mart.) and caffeic acid in mice. Food and Chemical Toxicology, v.136, p.111049 - , 2020.
3. De Andrade, H. H. N.; **Monteiro, Á. B.**; Braga, R. M.; Da Cruz, R. M. D.; Salvadori, M. G. D. S. S.; Scotti, M. T.; De Sousa, D. P.; De Almeida, R. N. Anxiolytic and antinociceptive-like effects of cinnamic alcohol by possible GABAergic pathway modulation: In vivo and in silico studies. Brazilian Journal of Development, v. 6, n. 7, p. 51372-51389, 2020.
4. Da Cruz, R. M. D.; Braga, R. M.; De Andrade, H. H. N.; **Monteiro, Á. B.**; Luna, I. S.; Da Cruz, R. M. D.; Scotti, M. T.; Mendonça-Junior, F. J. B.; De Almeida, R. N. RMD86, athiophene derivative, promotes antinociceptive and antipyretic activities in mice. HELIYON, v. 6, p. e05520-8, 2020.
5. Oliveira, A. F.; Oliveira, M. R. C.; **Monteiro, Á. B.** Automedicação com anti-inflamatórios não esteroidais por trabalhadores acometidos pela síndrome LER/DORT: uma revisão. Disciplinarum Scientia., v.21, p.241 - 248, 2020.
6. Ildefonso Junior, J.; **Monteiro, Á. B.** Plantas medicinais e fitoterápicos úteis na odontologia clínica: uma revisão. Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia, v.50, p.1 - 8, 2020.

7. Tavares, S. J. S.; **Monteiro, Á. B.** A utilização dos anti-inflamatórios não esteroidais e sua influência na movimentação dentária ortodôntica: uma revisão. *Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia*, v.7, p.305 - 317, 2019.
8. Santos, E. S.; Oliveira, C. D. M.; Menezes, I. R. A.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Anti-Inflammatory Activity of herb products from *Licania rigida* Benth. *Complementary Therapies In Medicine*, v.45, p.254 - 261, 2019.
9. De Figüêredo, F. R. S. D. N.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Effects of the *Hyptis martiusii* Benth. leaf essential oil and 1, 8-cineole (eucalyptol) on the central nervous system of mice. *Food and Chemical Toxicology*, v. 133, p. 110802, 2019.
10. Silva, A. O.; **Monteiro, Á. B.** Inibidores da fosfodiesterase 5, benefícios e riscos: uma revisão. *Biofar: Revista de Biologia e Farmácia*, v.15, p.98 - 110, 2019.
11. Pereira-De-Morais, L.; Silva, A. A.; Silva, R. E. R.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Tocolytic activity of the *Lippia alba* essential oil and its major constituents, citral and limonene, on the isolated uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions*, v.297, p.155 - 159, 2019.
12. Leite, M. M. S.; **Monteiro, Á. B.** Análise das intoxicações medicamentosas no Estado da Paraíba-Brasil em 2017. *Biofar: Revista de Biologia e Farmácia*, v.14, p.124 - 130, 2018.
13. Sales, V. S.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Antiparasitic Activity and Essential Oil Chemical Analysis of the *Piper tuberculatum* Jacq Fruit. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v.17, p.268 - 275, 2018.
14. Bento, E. B.; De Brito Júnior, F. E.; De Oliveira, D. R.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Annona muricata* Linnaeus in mice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v.25, p.609 - 621, 2018.
15. Felipe, C. F. B.; Albuquerque, A. M. S.; de Pontes, J. L. X.; de Melo, J. Í. V.; Rodrigues, T. C. M. L.; de Sousa, A. M. P.; **Monteiro, Á. B.**; da Silva Ribeiro, A. E.; Lopes, J. P.; de Menezes, I. R. A.; de Almeida, R. N. Comparative study of alpha-and beta-pinene effect on PTZ-induced convulsions in mice. *Fundamental & clinical pharmacology*, v. 33, n. 2, p. 181-190, 2019.

16. Souza, D. O.; Sales, V. S.; Rodrigues, C. K. S.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Phytochemical analysis and central effects of *Annona muricata* Linnaeus: possible involvement of the GABAergic and monoaminergic systems. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, v.17, p.1306 - 1317, 2018.
17. Almeida, S. C.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel: a chemical and pharmacological review of this medicinal species, commonly found in the Brazilian Northeastern region. Revista Brasileira de Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.27, p.788 - 793, 2017.
18. Sales, V. S.; Nascimento, E. P.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Modulação in vitro da atividade antibiótica pelo óleo essencial dos frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. Revista Cubana de Plantas Medicinales, v.22, p.1 - 11, 2017.
19. Brasil, Á. X.; Barbosa, M. O.; Lemos, I. C. S.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Preference analysis between the use of drugs and plants in pain management in a quilombola community of the state of Ceará, Brazil. Journal of Medicinal Plant Research, v.11, p.770 - 777, 2017.
20. Lacerda, G. M.; Silva, L. G.; Costa, M. H. N.; **Monteiro, Á. B.**; *et al.* Use of Medicinal Plants: Benefits, Risks, Limitations and Perspectives. Imperial Journal of Interdisciplinary Research (IJIR), v.3, p.67 - 70, 2017.

- **Capítulo de livro**

Potencial uso terapêutico de óleos essenciais no alívio da dor. Álefe Brito Monteiro, Humberto Hugo Nunes de Andrade, Ricardo Dias de Castro, Reinaldo Nóbrega de Almeida.

- **Comissão organizadora**

VI Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2020.

V Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2019.

- **Eventos**

VI Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2020.

V Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2019.

IV Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2018.

XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, São Paulo - SP, 2018.

X Jornada de Biofísica Radiológica da UFPB (Avaliador), João Pessoa - PB, 2018.

- **Palestras**

1. **Monteiro, Á. B.** Meu cérebro está bêbado: explique-me isso!. Semana do Cérebro 2020 da UFPB. (YouTube: <https://youtu.be/ldmuaHxvLTA>).

2. **Monteiro, Á. B.** Farmacologia dos Psicotrópicos. VI Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2020.

3. **Monteiro, Á. B.** Aspectos fisiológicos e bioquímicos do SNC. VI Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2020.

4. **Monteiro, Á. B.**; Guedes, É. C.; Andrade, J. C.; Gonzaga, T. K. S. N. Modelos Experimentais em Psicofarmacologia. VI Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2020.

5. **Monteiro, Á. B.** Nanotecnologia Aplicada à Psicofarmacologia. V Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2019.

6. **Monteiro, Á. B.**; Braga, R. M.; Cruz, R. M. D. Modelos Experimentais em Psicofarmacologia. V Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2019.

7. **Monteiro, Á. B.** *Kindling*: modelo de Epilepsia do Lobo Temporal. Encontro da Psicofarmacologia - IpeFarM, João Pessoa - PB, 2018.

8. **Monteiro, Á. B.** Nanotecnologia Aplicada à Psicofarmacologia. IV Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2018.

9. **Monteiro, Á. B.**; Braga, R. M.; Cruz, R. M. D. Modelos Experimentais em Psicofarmacologia. IV Curso de Verão de Farmacologia do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos/CCS/UFPB, João Pessoa - PB, 2018.

- **Resumos publicados em anais de congressos**

1. Gonzaga, T. K. S. N; **Monteiro, Á. B.**; Almeida, R. N. Atividade psicofarmacológica do álcool piperonílico. In: X Cursos e Conferências em Neurociências e Comportamento, João Pessoa - PB, 2019.

2. **Monteiro, Á. B.**; Aragão Neto, H. C.; Nascimento, T. W. A. B.; Almeida, R. N. Avaliação Da Ação anticonvulsivante do monoterpeno (+)-3-careno em camundongos. In: XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, São Paulo - SP, 2018.

3. **Monteiro, Á. B.**; Arago Neto, H. C.; Braga, R. M.; Assis, D. B.; Silva, M. V.; Almeida, R. N. Avaliação dos mecanismos antioxidante e anti-inflamatório do 2-alilfenol. In: XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, São Paulo - SP, 2018.

4. Rodrigues, T. C. M. L.; Albuquerque, A. M. S.; Pontes, J. L. X.; Melo, J. I. V.; **Monteiro, Á. B.**; Ribeiro, A. E. S.; Lopes, M. J. P.; Menezes, I. R. A.; Felipe, C. F. B. Avaliação do efeito neuroprotetor do citral em convulsões induzidas por pentilenotetrazol. In: XXV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, São Paulo - SP, 2018.

5. Melo, J. I. V.; Bezerra, D.; Pontes, J. L. X.; Albuquerque, A. M. S.; Rodrigues, T. C. M. L.; **Monteiro, Á. B.**; Ribeiro, A. E. S.; Lopes, M. J. P.; Menezes, I. R. A.; Felipe, C. F. B. Avaliação do efeito neuroprotetor do eucaliptol em convulsões induzidas por pentilenotetrazol. In: XXV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, São Paulo - SP, 2018.

6. Albuquerque, A. M. S.; Pontes, J. L. X.; Melo, J. I. V.; Rodrigues, T. C. M. L.; **Monteiro, Á. B.**; Ribeiro, A. E. S.; Lopes, M. J. P.; Menezes, I. R. A.; Almeida, R. N.; Felipe, C. F. B. Avaliação do efeito neuroprotetor do α -pineno em convulsões induzidas por pentilenotetrazol. In: XXV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, São Paulo - SP, 2018.

7. Pontes, J. L. X.; Albuquerque, A. M. S.; Melo, J. I. V.; Rodrigues, T. C. M. L.; **Monteiro, Á. B.**; Ribeiro, A. E. S.; Lopes, M. J. P.; Menezes, I. R. A.; Almeida, R. N.; Felipe, C. F. B. Avaliação do efeito neuroprotetor do β -pineno em convulsões induzidas por pentilenotetrazol. In: XXV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, São Paulo - SP, 2018.