



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Rafaela Marques Ribeiro

**EFEITOS DA DEXAMETASONA SOBRE PARÂMETROS  
ELETROENCEFALOGRÁFICOS, COMPORTAMENTAIS E  
HISTOLÓGICOS NA CONVULSÃO DEFLAGRADA POR  
PENTILENOTETRAZOL**

BELÉM – PA

2023

Rafaela Marques Ribeiro

**EFEITOS DA DEXAMETASONA SOBRE PARÂMETROS  
ELETROENCEFALOGRÁFICOS, COMPORTAMENTAIS E  
HISTOLÓGICOS NA CONVULSÃO DEFLAGRADA POR  
PENTILENOTETRAZOL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Autora: Rafaela Marques Ribeiro**

**Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy.**

BELÉM - PA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)  
autor(a)

---

R484e Ribeiro, Rafaela Marques.  
EFEITOS DA DEXAMETASONA SOBRE  
PARÂMETROS ELETROENCEFALOGRAFICOS,  
COMPORTAMENTAIS E HISTOLÓGICOS NA  
CONVULSÃO DEFLAGRADA POR PENTILENOTETRAZOL  
/ Rafaela Marques Ribeiro. — 2023.  
61 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Moisés Hamoy  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,  
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação  
em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2023.

1. Convulsão, Dexametasona, Refratário,  
Hipocampo, Eletroencefalografia.. I. Título.

CDD 341.64098

---



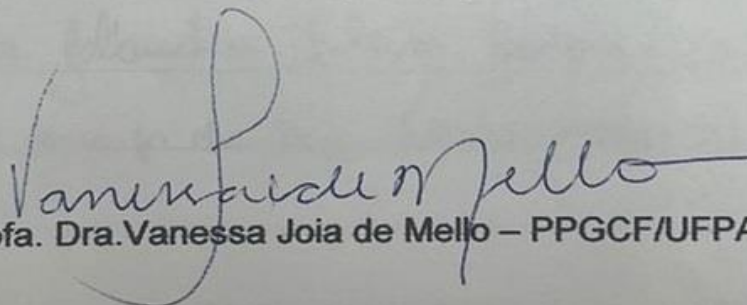
Universidade Federal do Pará  
Instituto de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

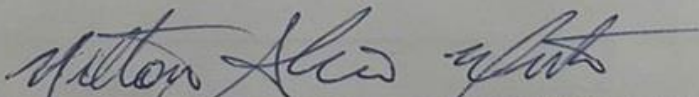
**ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
DA DISCENTE RAFAELA MARQUES RIBEIRO, DO PROGRAMA DE PÓS -  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - NÍVEL MESTRADO.**

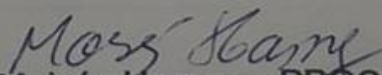
Aos dezesseis dias do mês de junho do ano dois mil e vinte e três, às onze horas, no Laboratório de Neurofarmacologia - ICB, foi realizada a defesa de dissertação de mestrado da aluna Rafaela Marques Ribeiro, discente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, autora do trabalho intitulado: **Efeitos da dexametasona sobre os parâmetros eletroencefalográficos, comportamentais e histológicos na convulsão deflagrada por pentilenotetrazol**, orientada pelo Prof. Dr. Moisés Hamoy. A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes docentes: Profa. Dra. Vanessa Joia de Mello -PPGCF, Prof. Dr. Nilton Akio Muto – ICB/UFPA e Prof. Dr. Moisés Hamoy (Presidente). Após avaliação a banca examinadora considerou a aluna:

APROVADA      ( ) REPROVADA

Belém, 16 de junho de 2023.

  
Profa. Dra. Vanessa Joia de Mello – PPGCF/UFPA (Examinadora)

  
Prof. Dr. Nilton Akio Muto – PPGCF/UFPA (Examinador)

  
Prof. Dr. Moisés Hamoy – PPGCF/UFPA (Presidente)

## DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a Deus e a minha família que sempre foram minha base e o meu refúgio.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, meu Pai Celestial, meu refúgio e minha força em todos os momentos.  
A Ele, toda honra e toda glória!

À minha mãe Luzia e minha irmã Ercilia, por todo apoio, amor e estrutura familiar que alguém pode ter. Vocês me ensinaram tudo o que eu sei e sou como pessoa. Amo vocês!

Ao meu marido Bruno por me apoiar, me incentivar e me segurar nos momentos mais difíceis que vivi nessa jornada. Você é exemplo de companheirismo e parceria. Amo você por tudo o que representa na minha vida!

Aos meus amigos da pós-graduação, Allan, Cláudia, Cristian, Glenda, Maria, Paulo e Taissa, pela parceria, carinho e auxílio prestados nessa árdua jornada. Vocês foram o símbolo de amizade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Moisés Hamoy, por todos os ensinamentos, paciência, empatia, companheirismo e humanidade que podem existir em uma pessoa. Obrigada por me estender a mão e acreditar em mim quando nem eu mesma acreditava mais. Sem o senhor, eu não teria conquistado essa vitória. Ao senhor o meu respeito, gratidão e admiração.

À Cliciane por toda paciência, empenho e dedicação com os alunos da pós-graduação. Você sempre foi maravilhosa e prestativa conosco.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) pela oportunidade de realização deste sonho.

À Universidade Federal do Pará, pela oportunidade de conclusão de mais uma etapa tão importante e almejada da minha vida. Mesmo com todas as dificuldades de uma instituição pública, não deixou a desejar na minha formação.

## EPÍGRAFE

“Porque sou eu que conheço os planos que tenho para vocês’, diz o Senhor, ‘planos de fazê-los prosperar e não de causar dano, planos de dar a vocês esperança e um futuro. Então vocês clamarão a mim, virão orar a mim, e eu os ouvirei.” (Jeremias 29:11-12)

## RESUMO

Os glicocorticoides são fármacos amplamente utilizados, sendo suas principais indicações doenças autoimunes, inflamatórias e rejeição de transplantes. Atualmente, essas drogas têm sido utilizadas no tratamento de crises refratárias, havendo relatos positivos e negativos na literatura quanto ao uso de glicocorticoides associados a drogas antiepilépticas. O presente artigo avalia alterações eletrocorticográficas, cognitivas e histopatológicas em ratos submetidos a convulsões agudas induzidas por Pentilenotetrazol (PTZ), após a aplicação de dexametasona (DEX) (0,6 mg/kg), por meio de três experimentos separados. O Experimento I foi destinado a gravações de EEG em diferentes momentos. Os demais experimentos tiveram um delineamento idêntico, exceto para a avaliação comportamental, sendo que o Experimento II se destinou a avaliar a memória de curto prazo, enquanto o Experimento III visou acessar a aquisição de aprendizagem. Os registros eletrocorticográficos demonstraram que a DEX não apresentou diferença nas potências quando comparada ao PTZ, mas durante a monitorização eletrocorticográfica foi observado um aumento na acomodação das oscilações de frequência cerebral Delta, Alfa e Gama durante as primeiras horas após o episódio agudo de convulsões. Para teta, a acomodação ocorreu após 36 horas e para Beta após 24 horas da crise aguda. Em relação à análise comportamental, a memória de curto prazo e a aquisição do aprendizado não foram afetadas por um único episódio agudo de convulsão e, conseqüentemente, a DEX não alterou esse parâmetro. No Experimento II, o PTZ não promoveu redução no número de células no hipocampo. Porém, as regiões CA3 e hilo do hipocampo sofreram perda celular após PTZ no Experimento III, sendo DEX inerte no resgate da morte celular. Essas descobertas ilustram que, embora a DEX não tenha melhorado o dano celular ou impactado o comportamento cognitivo induzido por convulsões, ela tem propriedades benéficas no rastreamento eletroencefalográfico e, portanto, um tratamento potencialmente eficaz para a epilepsia.

**Palavras-chave:** Convulsão, Dexametasona, Refratário, Hipocampo, Eletroencefalografia.



## ABSTRACT

Glucocorticoids are widely used drugs, and their main indications are autoimmune and inflammatory diseases and transplant rejection. Currently, these drugs have been used in the treatment of refractory seizures, with positive and negative reports in the literature regarding the use of glucocorticoids associated with antiepileptic drugs. The present article evaluates electrocorticographic, cognitive and histopathological alterations in rats submitted to acute seizures induced by Pentylentetrazol (PTZ) after the application of dexamethasone (DEX) (0.6 mg/kg), through three separate experiments. Experiment I was intended for EEG recordings at different times. The other experiments had an identical design, except for the behavioral assessment, with Experiment II aimed at assessing short-term memory, while Experiment III aimed to assess learning acquisition. The electrocorticographic recordings demonstrated that DEX did not present a difference in potencies when compared to PTZ, but during electrocorticographic monitoring an increase in the accommodation of the Delta, Alpha and Gamma cerebral frequency oscillations was observed during the first hours after the acute episode of seizures. For theta, accommodation occurred after 36 hours and for Beta after 24 hours of the acute crisis. Regarding the behavioral analysis, short-term memory and learning acquisition were not affected by a single acute seizure episode and, consequently, DEX did not change this parameter. In Experiment II, PTZ did not promote a reduction in the number of cells in the hippocampus. However, the CA3 and hilum regions of the hippocampus suffered cell loss after PTZ in Experiment III, with DEX being inert in rescuing cell death. These findings illustrate that while DEX did not improve cell damage or impact seizure-induced cognitive behavior, it has beneficial properties in EEG tracking and therefore a potentially effective treatment for epilepsy.

**Keywords:** Seizure, Dexamethasone, Refractoriness, Hippocampus, Electroencephalography.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Regulação do eixo hipotálamo hipófise adrenal. Adaptado de ERRANTE, et al., 2014.....233
- Figura 2** - Mecanismos de ação dos glicocorticoides. Adaptado de Ruggero Errante et al., 2014.....24
- Figura 3** – Forma molecular da Dexametasona. Fonte: Adaptado de Katzung; Trevor, 2017 .....25
- Figura 4** – Anatomia do córtex cerebral evidenciando os lobos cerebrais. Fonte: adaptado de [upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0e/Lobes\\_of\\_the\\_brain\\_NL.svg/1280px-Lobes\\_of\\_the\\_brain\\_NL.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0e/Lobes_of_the_brain_NL.svg/1280px-Lobes_of_the_brain_NL.svg.png). Acessado em 6 mar. 2023.....27
- Figura 5** – Tipos de ondas cerebrais. Adaptado de Kouvelková e Strmiska, 2018..29
- Figura 6** – Diagrama esquemático da linha do tempo dos delineamentos experimentais. (A) Experiência I. DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol; EEG: eletroencefalografia. (B) Experimento II e (C) Experimento III. NOR: reconhecimento de objeto novo.....33
- Figura 7** – Registros eletroencefalográficos de animais submetidos ao modelo de crise induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. O traçado linear foi obtido por eletroencefalografia (esquerda). Sequência representativa de 1 s do traçado EEG (centro). Frequência do espectrograma (à direita). (A) Animais imediatamente após a administração das drogas (0h). .....38
- Figura 8** – Registros eletroencefalográficos de animais submetidos ao modelo de crise induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. O traçado linear foi obtido por eletroencefalografia (esquerda). Sequência representativa de 1 s do traçado EEG (centro). Frequência do espectrograma (à direita). (B) Animais 12 horas após a administração das drogas. (C) Animais 24 horas após a administração das drogas. ....39
- Figura 9** – Registros eletroencefalográficos de animais submetidos ao modelo de crise induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. O traçado linear foi obtido por eletroencefalografia (esquerda). Sequência representativa de 1 s do traçado EEG (centro). Frequência do espectrograma (à direita). (D) Animais 36 horas após a administração das drogas. (E) Animais 48 horas após a administração das drogas. DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.....39
- Figura 10** – Dados eletroencefalográficos quantitativos da potência total das ondas cerebrais da atividade cerebral. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP (n = 9 animais por grupo; \*\*\*\*p < 0,0001, ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.....40

**Figura 11** – Dados eletroencefalográficos quantitativos sobre a potência de banda relativa das ondas cerebrais. (A) Potência de banda relativa da onda delta. (B) Potência de banda da onda teta relativa. (C) Potência de banda de onda alfa relativa. (D) Potência de banda de onda beta relativa. (E) Potência de banda de onda gama relativa. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP (n = 9 animais por grupo; \*p < 0,05, \*\*p < 0,01 e \*\*\*\*p < 0,0001, ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.....42

**Figura 12** – Dados do teste de reconhecimento de objetos do Experimento II de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (A) Taxa de discriminação. (B) Taxa de reconhecimento. (C) Tempo absoluto gasto reconhecendo o objeto antigo. (C) Tempo absoluto gasto reconhecendo o novo objeto. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP (n = 5 animais por grupo). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.....43

**Figura 13** – Dados do teste de reconhecimento de objetos do Experimento III de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (A) Taxa de discriminação. (B) Taxa de reconhecimento. (C) Tempo absoluto gasto reconhecendo o objeto antigo. (C) Tempo absoluto gasto reconhecendo o novo objeto. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP (n = 5 animais por grupo; \*p < 0,05, teste de Kruskal-Wallis). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.....44

**Figura 14** – Coloração de Nissl do hipocampo de rato no Experimento II de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (A) Imagens representativas. (B) Dados quantitativos sobre o número de células na região CA1. (C) Dados quantitativos para o número de células na região CA3. (D) Dados quantitativos sobre o número de células na região do hilo. (E) Dados quantitativos sobre o número de células na região do giro denteado. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP (n = 5 animais por grupo; \*p < 0,05, \*\*p < 0,001, ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol. Barra de escala = 25  $\mu$ m.....45

**Figura 15** – Coloração de Nissl do hipocampo de rato no Experimento III de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (B) Dados quantitativos sobre o número de células na região CA1. (C) Dados quantitativos para o número de células na região CA3. (D) Dados quantitativos sobre o número de células na região do hilo. (E) Dados quantitativos sobre o número de células na região do giro denteado. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP (n = 5 animais por grupo; \*p < 0,05, \*\*p < 0,001, ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol. Barra de escala = 25  $\mu$ m.....46

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** – Principais propriedades farmacocinéticas da dexametasona

**Tabela 2** – Grupos experimentais

## LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

<b>11<math>\beta</math>HSD</b>	11- $\beta$ -hidroxiesteróide dehidrogenases
<b>ACTH</b>	Hormônio adrenocorticotrófico
<b>AR</b>	Artrite reumatoide
<b>AVP</b>	Vasopressina
<b>BHE</b>	Barreira hematoencefálica
<b>BZ</b>	Benzodiazepínicos
<b>CEPAE</b>	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação
<b>CRF</b>	Corticotropina
<b>DEX</b>	Dexametasona
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>EEG</b>	Eletroencefalograma
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -amino-butirico
<b>GABAA</b>	Ácido $\gamma$ -amino-butirico receptor tipo A
<b>GAD</b>	Ácido glutâmico
<b>GCs</b>	Glicocorticoides
<b>GRs</b>	Receptores glicocorticoides
<b>HAT</b>	histona acetiltransferase
<b>HPA</b>	Eixo Hipotálamo Pituitária Adrenal
<b>Hz</b>	Hertz
<b>INs</b>	Interneurônios
<b>KA</b>	Ácido Cainico
<b>MC2R</b>	Melanocortina 2
<b>MRs</b>	Receptores mineralocorticoides
<b>PTZ</b>	Pentilenotetrazol
<b>SE</b>	Status epilepticus
<b>SHA</b>	Sidrome de hipersensibilidade anticonvulsivante
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SS</b>	Solução salina
<b>TCE</b>	Traumatismo cranioencefálico
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Necrose Tumoral Alfa

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>17</b>
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1. Pentilenotetrazol (PTZ) .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2. Ácido Gama Aminobutírico (GABA) .....</b>	<b>19</b>
<b>3.3. Neuroinflamação .....</b>	<b>20</b>
<b>3.4. Glicocorticoides .....</b>	<b>21</b>
<b>3.4.1. SÍNTESE E REGULAÇÃO DOS GLICOCORTICOIDES .....</b>	<b>22</b>
<b>3.4.2. MECANISMOS DE AÇÃO DOS GLICOCORTICOIDES .....</b>	<b>24</b>
<b>3.5. Dexametasona .....</b>	<b>25</b>
<b>3.6. Eletroencefalografia .....</b>	<b>26</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
<b>4.1. Objetivo Geral.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1. Objetivos Específicos .....</b>	<b>30</b>
<b>5. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
<b>5.1. Animais Experimentais.....</b>	<b>31</b>
<b>5.2. Experimento .....</b>	<b>31</b>
<b>5.3. Implante de eletrodo, registros eletroencefalográficos e análise dos dados (Experimento I) .....</b>	<b>34</b>
<b>5.4. Análise comportamental (Experimento II e III).....</b>	<b>36</b>
<b>5.5. Coloração de Nissl e contagem de células.....</b>	<b>36</b>
<b>5.6. Análise Estatística .....</b>	<b>37</b>
<b>5.7. Eutanásia de animais.....</b>	<b>37</b>
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
<b>6.1. O pentilenotetrazol causa alterações no padrão do EEG mesmo após 48h de administração e a dexametasona atenua essas oscilações .....</b>	<b>38</b>
<b>6.2. O tratamento com dexametasona atenuou o distúrbio induzido por PTZ na potência de banda das ondas cerebrais .....</b>	<b>41</b>
<b>6.3. O tratamento com dexametasona não alterou a memória de curto prazo nem a aquisição de aprendizado na crise induzida por PTZ .....</b>	<b>42</b>

<b>6.4. O PTZ não induziu a morte celular e, portanto, o tratamento com dexametasona não protegeu contra o dano celular .....</b>	<b>44</b>
<b>7. DISCUSSÃO.....</b>	<b>47</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>52</b>
<b>ANEXO A – PARECER DO CEPAE.....</b>	<b>60</b>
<b>ANEXO B – SUBMISSÃO DO ARTIGO .....</b>	<b>61</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As convulsões são distúrbios neurológicos desencadeados pela atividade neuronal excessiva no cérebro, onde há o desequilíbrio entre neurotransmissores excitatórios e inibitórios, e quando evolui para a cronicidade, resulta em epilepsia (YACUBIAN; CONTRERAS-CAICEDO; RÍOS-POHL, 2014). Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes não são totalmente compreendidos, pois a sua etiologia é muito vasta e tal como o tratamento (de Vries et al., 2016).

Aproximadamente 50 milhões de pessoas em todo o mundo sofrem com epilepsia, especialmente crianças e idosos, e 20-30% desses pacientes são refratários ao tratamento com drogas antiepilépticas (Devinsky et al., 2018; Borham et al., 2016). Isso tem motivado o uso de medicamentos off label (anestésicos, corticosteroides e hormônios sexuais), entre os quais a administração de anti-inflamatórios esteroides, como dexametasona ou metilprednisolona tem mostrado vantagens práticas no manejo da epilepsia refratária (Ramos et al., 2019).

Evidências crescentes indicam a participação de elementos pró-inflamatórios no processo epiléptico, sugerindo que vias inflamatórias específicas são cronicamente ativadas em focos epileptogênicos do cérebro (Dupuis & Auvin, 2015). A quebra da homeostase cerebral pelo processo convulsivo desencadearia um aumento de substâncias inflamatórias capazes de diminuir o limiar epiléptico (Vieira et al., 2016; Vitaliti et al., 2014). Como a neuroinflamação pode estar ligada a convulsões epiléticas (Vezzani et al., 2019), é possível que a propriedade anti-inflamatória dos glicocorticoides, como a dexametasona (DEX), diminua a suscetibilidade a convulsões induzidas.

Alguns estudos têm demonstrado que o uso suplementar de corticosteroides aos anticonvulsivantes em pacientes com epilepsia refratária promove melhora nesses pacientes (Ramos et al., 2019), propondo que anti-inflamatórios esteroides possam ser incluídos na terapia para controle de crises refratárias após falha dos protocolos de tratamento convencionais. Segundo YANG et al. (2020), os glicocorticoides têm se mostrado úteis no tratamento da epilepsia em vários estudos clínicos e experimentais devido a sua alta afinidade com os receptores mineralocorticoides (MRs), impedindo que as atividades convulsivas sejam exacerbadas pela ativação de MRs, sendo aliviadas pela regulação da plasticidade sináptica por meio da ativação de GRs em um modelo epiléptico induzido por KA.



A dexametasona é um corticosteroide de ação prolongada com atividade glicocorticoide mais pronunciada que os demais (Dogra e Vijayashankar, 2022) sendo utilizada na prática neurológica no tratamento de edema cerebral (Moll et al., 2020), compressão da medula espinhal (Kumar et al., 2017; Tagami et al., 2020) e carcinomatose meníngea (Cafuir et al., 2018). Adicionalmente, a DEX tem sido utilizada no tratamento da epilepsia refratária em crianças e da encefalopatia epiléptica refratária (Chen et al., 2016), embora não haja consenso quanto ao seu uso. Modelos animais demonstraram que tanto o pré-tratamento quanto o pós-tratamento com dexametasona em crises únicas são capazes de reduzir as frequências e amplitudes dos traçados epileptiformes observados na eletroencefalografia (EEG) (Garcia-Curran et al., 2019; Issuriya, et al., 2019; Guzzo et al., 2018; Borham et al., 2016; Yilmaz et al., 2014).

Aqui, objetivamos relacionar convulsões únicas, perda neuronal e déficits de memória e aprendizado medidos por alterações eletroencefalográficas, histológicas e comportamentais após o tratamento de curto prazo com DEX em um modelo murino de convulsão induzida por pentilenotetrazol de 0, 12h, 24h, 36h e 48h pós-tratamento.

## 2. JUSTIFICATIVA

Convulsões muito frequentes e/ou descargas epileptiformes podem exacerbar ainda mais o comprometimento cognitivo e comportamental, levando a uma encefalopatia epiléptica. Nessas situações, a melhora do controle das crises frequentemente resulta em ganhos de desenvolvimento, sendo o diagnóstico e o início de terapia eficaz urgentes. Outros fatores que podem afetar a prevalência e gravidade das comorbidades são efeitos adversos de medicamentos anticonvulsivantes e outros tratamentos, estigma social e superproteção, além de distúrbios do sono (FINE; WIRRELL, 2020).

Em suma, dados científicos confirmam que são inúmeras as sequelas e dificuldades encontradas em indivíduos acometidos por crises convulsivas. Nesse contexto, pessoas de faixas etárias variadas, e de ambos os sexos, podem sofrer com distúrbios do sono, déficits de cognição e aprendizado, problemas comportamentais, comorbidades na gravidez, teratogenia, além do estigma social causado por episódios de convulsão. Estudos em animais indicam que pode haver efeitos específicos das convulsões no neurodesenvolvimento (SVEBERG; SVALHEIM; TAUBØLL, 2015).

A ideia de interromper o desenvolvimento de um processo epileptogênico que pode resultar em crises convulsivas é louvável, os glicocorticoides são frequentemente usados no manejo de pacientes com crises sintomáticas agudas, nessas situações, o uso desses fármacos é empírico e deve ser considerado quando os cuidados de suporte se esgotarem. Porém, o risco e a incidência de efeitos colaterais relacionados ao uso desses fármacos, sendo eles, leves ou graves, também devem ser considerados e ponderados, principalmente se forem usados a longo prazo. No entanto, mais pesquisas são cruciais para melhor delinear uma abordagem clínica para DEX.

Logo, faz-se necessária uma maior investigação e pesquisa acerca de novos tratamentos, com medicamentos mais eficazes e com menos efeitos colaterais, com o objetivo de promover melhorias na qualidade de vida dos pacientes. Portanto, tendo em vista os argumentos explanados anteriormente, acredita-se na necessidade de realizar o presente estudo.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. Pentilenotetrazol (PTZ)

O Pentilenotetrazol (PTZ) era uma droga utilizada como estimulante circulatório e respiratório, sendo descoberto como convulsionante em 1934 pelo neurologista psiquiatra Ladislav J. Meduna conhecido também como Pentilenotetrazol, metrazol, pentetrazol, pentametenotetrazol, Corazol, Cardiozol, Deumacard ou PTZ, classifica-se como um antagonista do receptor do ácido gama aminobutírico (GABA) (MOUSAVI-HASANZADEH et al., 2019).

O Pentilenotetrazol (PTZ) é um antagonista do receptor de ácido gama aminobutírico (GABA-A), que suprime a função das sinapses inibitórias, levando ao aumento da atividade neuronal. Essa regulamentação causa convulsões generalizadas em animais (SHIMADA; YAMAGATA, 2018).

O mecanismo do pentilenotetrazol ainda não é totalmente compreendido, sendo identificáveis vários mecanismos de ação. Pesquisas indicam que o potencial convulsivo do PTZ está fortemente ligado a picrotoxina no complexo receptor GABA-A. Muitos ligantes GABA-A são anticonvulsivantes eficazes, como os sedativos diazepam e fenobarbital, porém o pentilenotetrazol parece ter o efeito oposto quando se liga ao receptor. De acordo com estudos realizados, ele atua com o papel de aumentar o influxo de cálcio e sódio, ambos despolarizando o neurônio. Logo, o PTZ suprime a função das sinapses inibitórias, levando ao aumento da atividade neuronal (MOUSAVI-HASANZADEH et al., 2019).

Nesse sentido, uma única injeção de uma dose convulsiva de PTZ também induz convulsão aguda. No entanto, convulsões espontâneas crônicas após uma única injeção de PTZ são difíceis de promover. A administração crônica de PTZ é necessária para induzir convulsões repetitivas. Em qualquer dos métodos, a geração de crises repetitivas é capaz de induzir uma patologia mais semelhante à da epilepsia humana do que a geração de crises agudas. No caso do PTZ, cada injeção evoca uma convulsão e a gravidade da convulsão torna-se mais grave de forma gradual a cada injeção. Finalmente, uma única injeção de PTZ de baixa dose induz uma grave crise tônico-clônica. Nesta fase, cada injeção evoca convulsões graves (SHIMADA; YAMAGATA, 2018).

### 3.2. Ácido Gama Aminobutírico (GABA)

Hayashi observou que ácido  $\gamma$ -amino-butírico (GABA) consegue inibir a atividade dos neurônios corticocerebrais. No sistema nervoso central (SNC) dos animais vertebrados, os neurônios GABAérgicos usam tanto a transmissão sináptica (fiação) quanto a não sináptica (volume) para comunicação (SIUCINSKA, 2019). Entretanto, no início da vida pós-natal o GABA exerce ação despolarizante e excitatória, esta ação coincide com intenso crescimento de neurônios e sinaptogênese, com envolvimento em mecanismos tróficos. O GABA surge do glutamato em resposta catalisada pela descarboxilase do ácido glutâmico (GAD). O GABA e GAD estão localizados em interneurônios (INs) em todas as áreas do cérebro (SIUCINSKA, 2019).

O receptor GABA-A é um canal de íon que recebe comando de funcionalidade de um ligante e um membro da família de receptores "Cys-loop" clássica que é formado por cinco subunidades de proteínas independentes dispostas em torno de um poro de íon central, permeável a íons de cloreto e bicarbonato. Até a atualidade, foram identificadas dezenove subunidades do receptor GABA-A, sendo dezesseis no cérebro ( $\alpha$ 1-6,  $\beta$ 1-3,  $\gamma$ 1-3,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$ ) e três subunidades adicionais na retina ( $\rho$ 1-3), que se juntam como pentâmeros heteroméricos para formar canais funcionais (SILLS; ROGAWSKI, 2020).

Ainda sob esse contexto, um aglomerado de proteínas transportadoras, codificadas por membros da família de genes SLC6 e denominadas GAT-1, GAT-2, GAT-3 e BGT-1, transportam GABA por um gradiente eletroquímico conduzido por íons de sódio e cloreto, removendo este da fenda sináptica para os terminais nervosos e células gliais. O GAT-1 é o principal transportador GABA expresso em terminais nervosos pré-sinápticos e células gliais no córtex cerebral e hipocampo, com a expressão de GAT-3 predominantemente restrita à glia. Após a recaptação mediada pelo carreador, o GABA é reciclado no pool de neurotransmissores prontamente liberável ou inativado por conversão em ácido succínico semialdeído em uma reação catalisada pela enzima mitocondrial GABA-transaminase (SILLS; ROGAWSKI, 2020).

O GABA pode ser utilizado como fonte de energia, pois também é substrato para a oxidação do ciclo do ácido tricarboxílico, que gera ATP na mitocôndria, agindo como neurotransmissor. O GABA e GAD são detectados em interneurônios e terminais sinápticos (puncta) por métodos de imunocitoquímica (GABA +; GAD +),

enquanto a hibridização *in situ* é responsável pela localização exata de seu mRNA. O GABA é liberado pelos interneurônios na região subcelular específica das células-alvo para desempenhar seu papel na inibição fásica (SIUCINSKA, 2019).

### **3.3. Neuroinflamação**

A inflamação nada mais é do que uma resposta do organismo em forma de defesa contra agentes infecciosos ou outras ameaças patológicas e tem demonstrado importante papel nos distúrbios relacionados a epilepsia, seja por autoimunidade ou crises de resistência farmacológica (RAMOS et al., 2019; SILVEIRA et al., 2012; KIM et al., 2012).

A neuroinflamação pode originar-se tanto no SNC ou quanto da circulação sistêmica devido a alterações na barreira hematoencefálica (BHE), sua atuação vai do início até a manutenção dos processos epiléticos em decorrência dos mediadores inflamatórios que os tecidos danificados liberam que também podem provocar alterações nos tecidos adjacentes que não foram lesionados (RANA e MUSTO, 2018). O processo de neuroinflamação pode estar envolvida na geração de convulsões (ictogênese), assim como no desenvolvimento do fenótipo resistente a medicamentos, levando a investigar um novo alvo farmacológico para o tratamento das epilepsias (VEZZANI et al., 2013; WALKER et al., 2016).

As moléculas pró-inflamatórias como as citocinas, quimiocinas e prostaglandinas, exercem a neuromodulação através da ativação direta dos seus receptores nos neurônios ou, indireta, através de estímulos de seus receptores autócrinos localizados na glia, causando alterações da fisiologia dessas células, que atrapalham as comunicações glioneuronais (VEZZANI et al., 2015). Na neuroinflamação as células cerebrais como os astrócitos, micróglia, células imunes e endoteliais da BHE são ativadas com a produção de mediadores inflamatórios, dando início a respostas de estímulos como lesão cerebral traumática, infecção cerebral e autoimunidade (RAWAT et al., 2019; DEY et al., 2016).

Os mediadores inflamatórios relacionados a convulsão passaram a ser considerados para a seleção de tratamentos com anti-inflamatórios esteroidais, imunoglobulinas e hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que demonstraram controle de convulsões em epilepsias pediátricas refratárias a drogas anticonvulsivantes convencionais (VEZZANI et al., 2015). São vários os mecanismos estabelecidos pelos

quais os mediadores inflamatórios exercem efeito na excitabilidade neuronal e nas epilepsias, alguns estão envolvidos na precipitação e recorrência de convulsões e outros no desenvolvimento da epileptogênese (VEZZANI et al., 2011; RANA e MUSTO, 2018).

### **3.4. Glicocorticoides**

A estrutura dos glicocorticoides consiste em um núcleo esteroide formado por quatro anéis com 17 átomos de carbono que remetem ao seu precursor, a molécula de colesterol, o qual é convertido nos hormônios esteroides pela ação de enzimas específicas, e que não dependem de transcrição gênica imediata e nem modificações pós-traducionais, como no caso dos hormônios proteicos (RUGGERO ERRANTE et al., 2014).

Os glicocorticoides (GC) são hormônios adrenais endógenos que produzem efeitos fisiológicos influenciando grande parte das células no corpo, efeitos metabólicos agindo sobre o metabolismo dos carboidratos, proteínas e das gorduras, além de agir sobre o equilíbrio da água e eletrólitos, apresentando importantes efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores agindo sobre os vasos sanguíneos, células e mediadores inflamatórios (Katzung; Trevor, 2017). Fisiologicamente, o cortisol (hidrocortisona) é um hormônio esteroide produzido no córtex da glândula suprarrenal e não desempenha apenas um papel de marcador de estresse, mas é um modulador da função celular e tecidual (Silva et al., 2018).

Os sistemas imunológico e inflamatório que são ativados na resposta normal a estímulos/desafios exógenos são potencialmente suprimidos por GCs e essa característica possibilitou seu uso como agentes terapêuticos altamente eficazes (ADCOCK; MUMBY, 2016), pois atuam em diferentes processos fundamentais, como homeostase metabólica, cognição, saúde mental, proliferação celular, desenvolvimento, reprodução e inflamação, devido às suas ações anti-inflamatórias e imunossupressoras. Vários distúrbios autoimunes, inflamatórios e alérgicos, como artrite reumatóide (AR), lúpus eritematoso, doença inflamatória intestinal, rejeição de transplante e asma, são frequentemente tratados com GCs sintéticos, como dexametasona (VANDEWALLE et al., 2018).

### 3.4.1. SÍNTESE E REGULAÇÃO DOS GLICOCORTICOIDES

As suprarrenais são glândulas endócrinas localizadas sobre os rins e são os órgãos classicamente responsáveis pela síntese dos glicocorticoides (TAVES; GOMEZ-SANCHEZ; SOMA, 2011).

Na membrana interna da mitocôndria, o colesterol é convertido enzimaticamente à pregnenolona pela citocromo CYP11A, através do seu transporte pela proteína reguladora esteroideogênica aguda. Essa pregnolona é então convertida em progesterona e 17- $\alpha$ -hidroxipregnenolona pelas enzimas 3 $\beta$ -HSD e CYP17, respectivamente, no retículo endoplasmático rugoso. Em seguida, através de hidroxilações subseqüentes, essas moléculas originam os esteroides, incluindo mineralocorticoides, glicocorticoides e hormônios sexuais. Este processo é conhecido como síntese dos glicocorticoides (Nelson & Cox, 2018).

A regulação da síntese e dos níveis circulantes de glicocorticoides é feita através do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) (CHUNG; SON; KIM, 2011). O mecanismo se dá pelas células que se encontram localizadas nos núcleos paraventriculares hipotalâmicos, que irão secretar o fator liberador de corticotropina (CRF) e vasopressina (AVP), que atuam em receptores específicos, CRF1 e AVPR1B, presentes na região anterior da hipófise. Já na hipófise, a ativação do CRF1 vai estimular a produção e liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que é potencializada pela ativação simultânea do AVPR1B (Nelson & Cox, 2018).

O ACTH liberado ativa seu receptor específico, denominado MC2R, presente no córtex da adrenal. A ativação do receptor melanocortina 2 (MC2R) na adrenal induz a síntese de enzimas esteroideogênicas bem como o transporte do colesterol através da membrana mitocondrial culminando na produção e liberação de glicocorticoides (XING et al., 2011).

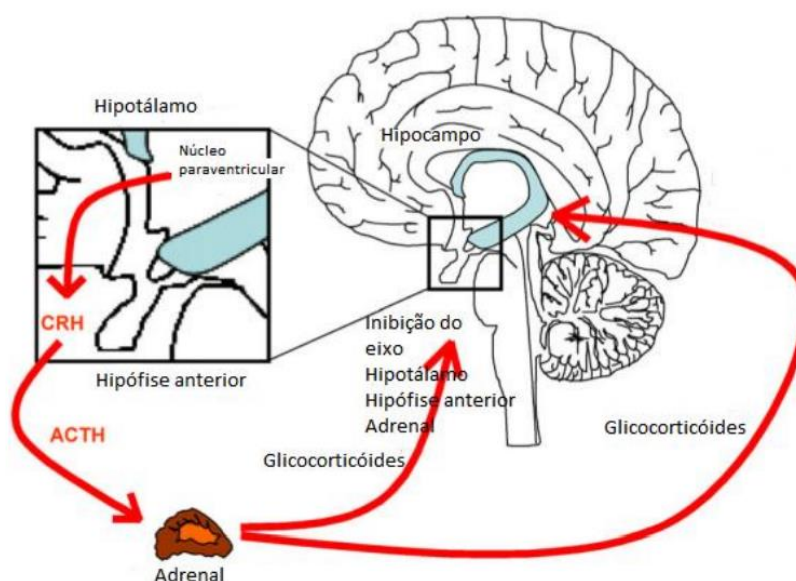


Figura 1 - Regulação do eixo hipotálamo hipófise adrenal. Adaptado de ERRANTE, et al., 2014.

Quando os níveis de glicocorticóides se apresentam elevados, ocorrem ações nos receptores glicocorticóides (GR) presentes nos núcleos paraventriculares hipotalâmicos e na adenohipófise, que induzem a redução da síntese e secreção de ACTH (feedback negativo) (ERRANTE et al, 2014). Este mecanismo é de suma importância para controle de situações que possam provocar exacerbações e hiperatividade do eixo HPA, pois poderiam provocar falhas que acarretariam no aparecimento ou agravamento de doenças, como hipercalemia e hipovolemia (Berthelot, Le Goff & Maugars, 2013).

Além disso, os níveis de glicocorticóides ainda podem ser modulados em seus locais de ação, antes da sua interação com seus receptores, através da interconversão entre cortisol, forma ativa, e a cortisona, forma inativa do hormônio (ERRANTE et al, 2014). Esta modulação é realizada pela enzima 11- $\beta$ -hidroxiesteróide dehidrogenases (11 $\beta$ HSD), que possui duas isoformas, a 11 $\beta$ HSD-1 está associada com a formação de glicocorticóides ativos nos tecidos a partir da sua forma inativa. Como exemplo, a expressão aumentada da 1 $\beta$ HSD-1 no hipocampo e córtex cerebral de animais idosos, e, conseqüentemente, de cortisol nestes tecidos, associa-se com o aparecimento de deficiências cognitivas (HOLMES et al., 2010). A 11 $\beta$ HSD-2 está relacionada com a conversão tecidual do cortisol em cortisona e, sua atuação é fundamental em gestantes que apresentam altos níveis circulantes de glicocorticóides, atuando como barreira funcional na placenta destas com efeito protetor para o feto (DY et al., 2008).



### 3.4.2. MECANISMOS DE AÇÃO DOS GLICOCORTICÓIDES

Devido a sua estrutura lipofílica, os glicocorticoides conseguem atravessar de forma passiva a membrana celular, ligando-se ao seu receptor intracelular, penetrando a membrana nuclear e ativando sítios de ligação no Ácido Desoxirribonucleico (DNA), sintetizando ativos biológicos anti-inflamatórios, como I $\kappa$ B e lipocortina-1 e também de proteínas que atuam no metabolismo sistêmico (por exemplo, proteínas que promovem gliconeogênese), esta cascata de ativação é denominada transativação (figura 2) (Nelson & Cox, 2018). Os GC também atuam por meio do mecanismo genômico chamado de transrepressão (figura 2) em que monômeros de moléculas de GC e receptores de GC interagem com fatores de transcrição, como a proteína ativadora 1 (AP-1) e o fator nuclear kB (NF-kB), por interação proteína-proteína e promovem efeito inibitório de suas funções. Por essa via, por exemplo, a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 6 (IL-6) e IL-2, fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e prostaglandinas é reduzida (DEJEAN; RICHARD, 2013; RUGGERO ERRANTE et al., 2014).

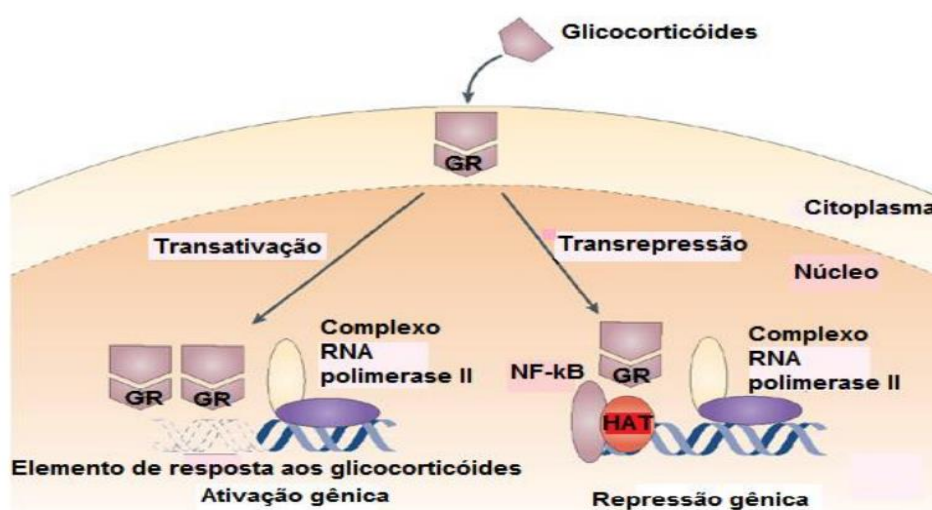


Figura 2 - Mecanismos de ação dos glicocorticoides. Adaptado de Ruggero Errante et al., 2014.

Os glicocorticoides tem ação supressora da inflamação através de vários mecanismos celulares e moleculares, dentre eles a indução de apoptose, inibição de citocinas e inibição da migração (DEJEAN; RICHARD, 2013). Os mecanismos moleculares dos glicocorticoides suprimem os genes inflamatórios ativados em doenças inflamatórias crônicas, através da ligação de receptores de glicocorticoides

a co-ativadores e recrutamento de histona desacetilase 2 para o complexo de transcrição ativado; Receptores de glicocorticoides ativados também interagem com sítios de reconhecimento no DNA para ativar a transcrição de genes anti-inflamatórios (RUGGERO ERRANTE et al., 2014).

Quando usados terapêuticamente, os glicocorticoides têm potentes efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores. Inibem tanto as manifestações precoces, quanto as tardias da inflamação, ou seja, os sinais iniciais de rubor, dor e edema e também os estágios posteriores de cicatrização e reação proliferativa que ocorrem na inflamação crônica (Katzung; Trevor, 2017). Os glicocorticoides afetam todos os tipos de reação inflamatória, tanto as causadas por patógenos invasores, como por estímulos químicos e físicos ou por resposta imune inapropriada, como ocorre na hipersensibilidade e doença autoimune (Katzung; Trevor, 2017).

### 3.5. Dexametasona

A dexametasona (DEX) é um anti-inflamatório esteroidal que possui potentes efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores, estando entre os mais ativos da classe dos glicocorticoides, agindo diretamente nos vasos sanguíneos, células e mediadores inflamatórios (Katzung; Trevor, 2017).

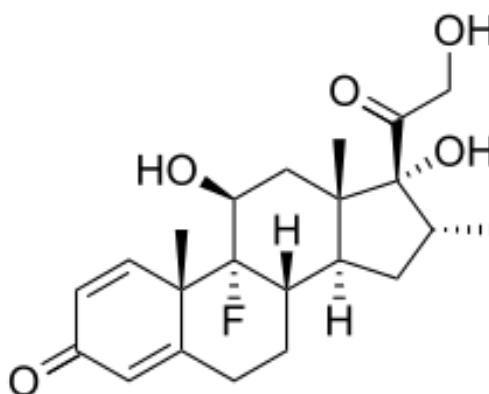


Figura 3 - Forma molecular da Dexametasona. Fonte: Adaptado de Katzung; Trevor, 2017.

A DEX possui 22 carbonos ( $C_{22}H_{29}FO_5$ ) (figura 3) e suas características farmacocinéticas estão descritas na Tabela 1 (Katzung; Trevor, 2017).

Tabela 1 - Principais propriedades farmacocinéticas da dexametasona.

Nome IUPAC (sistemática)	9-fluoro-11 $\beta$ ,17,21-triidroxi-16 $\alpha$ metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona
Massa molar	392.464 g/mol
Ponto de fusão	261°C
Biodisponibilidade	80–90%
Volume de distribuição	2 l/Kg.
Metabolismo	Principalmente hepático
Meia-vida plasmática	36–56 horas
Excreção	Principalmente renal
Meia-vida de eliminação da dexametasona	1,88 a 2,23 horas

Fonte: Katzung; Trevor, 2017.

Os glicocorticoides têm a mesma ação no organismo, porém, possuem potência anti-inflamatória diferenciada, no caso da DEX, a mesma não possui atividade mineralocorticoide e sua potência anti-inflamatória é de 30, comparado com da hidrocortisona que é de 01 e da prednisona de 05, sendo um potente glicocorticoide tanto a nível sistêmico quanto local (Katzung; Trevor, 2017).

A DEX é indicada para tratamento nos quais os efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores dos corticosteroides são desejados, principalmente em tratamento intensivo durante períodos mais curtos, dentre eles estão: alergopatias (rinite alérgica sazonal ou perene, asma, dermatite de contato, reações hipersensibilidade a medicamentos); terapia auxiliar na administração a curto prazo durante episódio agudo ou exacerbação de doenças reumáticas; processos alérgicos e inflamatórios graves, agudos e crônicos envolvendo o globo ocular; insuficiência adrenocortical primária ou secundária; tratamento paliativo de leucemias e linfomas do adulto e leucemia aguda da infância; casos de edema cerebral de várias causas; para auxílio durante o período crítico de colite ulcerativa e doença de Crohn; entre outras indicações (Katzung; Trevor, 2017).

### 3.6. Eletroencefalografia

O córtex cerebral é a camada mais externa do cérebro tendo de 1 a 5 mm de espessura e abrange uma média de 100 bilhões de neurônios, o mesmo é dividido em lobos: lobo occipital (responsável pela visão), lobos temporal e parietal (pensamento, audição e linguagem), córtex motor e córtex sensorial (movimentos voluntários e sentidos) (Amaral et al., 2013).

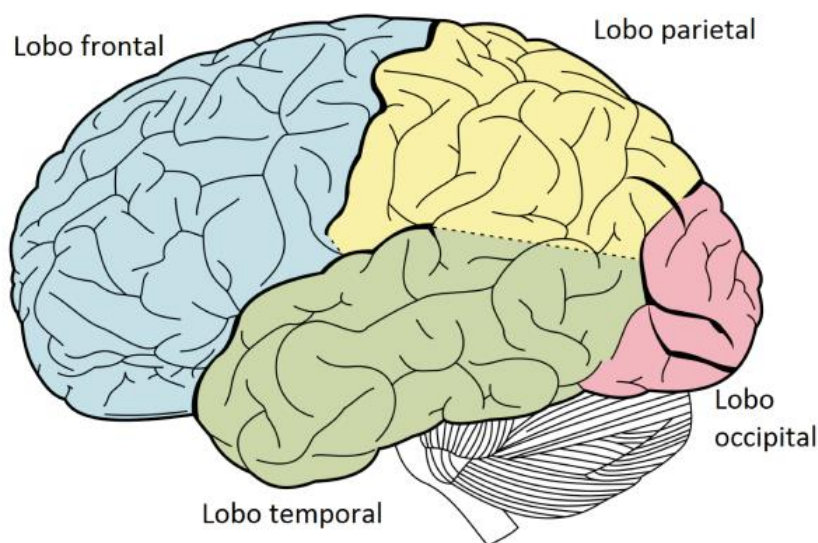


Figura 4 – Anatomia do córtex cerebral evidenciando os lobos cerebrais. Fonte: adaptado de [upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0e/Lobes\\_of\\_the\\_brain\\_NL.svg/1280px-Lobes\\_of\\_the\\_brain\\_NL.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/0e/Lobes_of_the_brain_NL.svg/1280px-Lobes_of_the_brain_NL.svg.png). Acessado em 6 mar. 2023.

Segundo Amaral (2013) o córtex motor está localizado no lobo frontal do cérebro, regiões específicas do córtex motor estão associadas aos movimentos voluntários do corpo, como as mãos, dedos, punhos, pés, músculos da face e vocalização. Quanto as atividades mais complexas do corpo que exigem que sejam memorizadas antecipadamente como múltiplos movimentos sequenciais são envolvidos pelo córtex pré-motor e a área motora suplementar que são adjacentes ao córtex motor (Amaral et al., 2013).

Os neurônios são células fundamentais do sistema nervoso devido a sua principal característica de propagar impulsos nervosos, são compostos pelo corpo celular ou soma, axônio e dendritos onde ocorrem as sinapses (NEVES et al., 2004). São capazes de gerar milhões de impulsos nervosos simultaneamente para que ocorra a atividade cerebral, esses impulsos são irradiados do córtex cerebral até o couro cabeludo na superfície craniana e podem ser medidos por eletroencefalograma (EEG) (NEVES et al., 2004).

O EEG é uma técnica não invasiva utilizada para registrar a atividade elétrica cerebral, onde eletrodos são fixados no couro cabeludo de forma sistemática para captação de pequenos impulsos elétricos, com amplitude de 1  $\mu\text{V}$  podendo chegar a 100  $\mu\text{V}$ , e frequências entre 0,1 Hz e 50 Hz (NEVES et al., 2004).

Ao contrário de outros sinais bioelétricos como o EEG, o registro eletroencefalográfico é caracterizado por uma aparente irregularidade (COSTA,

1994), e analisado pelo espectro de frequências chamados de ondas ou ritmos que possuem variação na sua amplitude.

O registro EEG indica que a atividade elétrica no cérebro ocorre continuamente e a intensidade e o ritmo destes sinais dependem do nível global de excitação do cérebro (COSTA, 1994). Essas frequências são classificadas como delta, theta, alfa, beta e gama, as quais refletem o estado do indivíduo (POBLET, 1988; GEDDES e BAKER, 1989).

As ondas delta são as ondas cerebrais mais lentas, tendo uma faixa de frequência de 0 Hz a 3 Hz, sendo observadas durante o sono, meditação profunda, em casos de inconsciência, transe e hipnose (PARSI, 2019). São muito comuns em crianças pequenas e bebês, pois a medida em que o indivíduo envelhece a produção dessas ondas diminui, devido à baixa qualidade de sono e a capacidade de descanso que vai se perdendo ao longo dos anos.

Quando analisadas, quanto maior a sua frequência, podem indicar alguma lesão cerebral, transtorno de déficit de atenção com hiperatividade (TDAH), consciência totalmente inativa ou muito inconsciente (PARSI, 2019). Quando sua frequência está muito baixa, pode indicar baixa qualidade de sono e problemas na ativação e/ou reativação da mente e do corpo. Quando sua frequência se encontra em um nível adequado o cuidado do sistema imunológico, da capacidade de aprendizado e do descanso são favorecidos (MONTENEGRO et al., 2018).

A onda theta possui uma frequência de 4 Hz a 7.5 Hz e está relacionada com a imaginação, estados hipnóticos, meditação profunda, durante o sono quando chega na fase dos sonhos, com memórias curtas, com momentos de reflexão e até mesmo quando o indivíduo sofre de transtorno depressivo, déficit de atenção, hiperatividade e impulsividade (PARSI, 2019).

Quando analisadas e sua frequência está elevada são associadas principalmente a estado depressivo e falta de atenção, quando sua frequência é baixa a mesma é associada a ansiedade, baixa autoconsciência emocional e ao estresse. Quando estão em frequências adequadas favorecem conexões emocionais e a criatividade (MONTENEGRO et al., 2018).

As ondas alfa possuem uma faixa de frequência de 8 Hz a 13 Hz e são observadas com facilidade na região occipital do crânio relacionada ao relaxamento de olhos fechados e calma (PARSI, 2019). Quando analisadas e sua frequência está em níveis elevados chegam a impedir que o indivíduo fique atento, a ponto de o

mesmo não conseguir realizar tarefas, quando estão em níveis baixos são associadas a falta de sono, estresse e a ansiedade (MONTENEGRO et al., 2018).

As ondas beta são características em estado de alerta ou vigília, sua frequência está entre 13 Hz e 28 Hz, sendo frequente em momentos que o indivíduo está com a atenção focada em algo e atento a inúmeros estímulos, por exemplo, quando se realiza uma prova, dirige um veículo ou apresentação de um projeto (PARSI, 2019).

Quando avaliadas e sua frequência está em níveis baixos, conduzem o indivíduo a um estado de relaxamento, desfalecido quase depressivo, quando seus níveis se encontram em parâmetros normais o indivíduo apresenta melhora na capacidade de resolver problemas, seu estado de concentração fica ativo e se torna mais receptivo. Porém, quando estão em níveis altos a atividade neural se torna extrema, gerando estresse e ansiedade (MONTENEGRO et al., 2018).

A frequência da onda gama varia de 28 Hz a 40 Hz e estão relacionadas ao estado de alto processamento cognitivo e de concentração tanto em adultos quanto em crianças, e também com os sentidos e percepções (PARSI, 2019) e se originam no hipotálamo e se movimentam em alta velocidade da parte posterior do cérebro para a frente.

Quando estão em alta atividade leva o indivíduo ao último estágio do ciclo do sono e ao sentimento de felicidade, porém, alguns estudos associam a baixa atividade com problemas de aprendizagem e até mesmo mentais (MONTENEGRO et al., 2018).

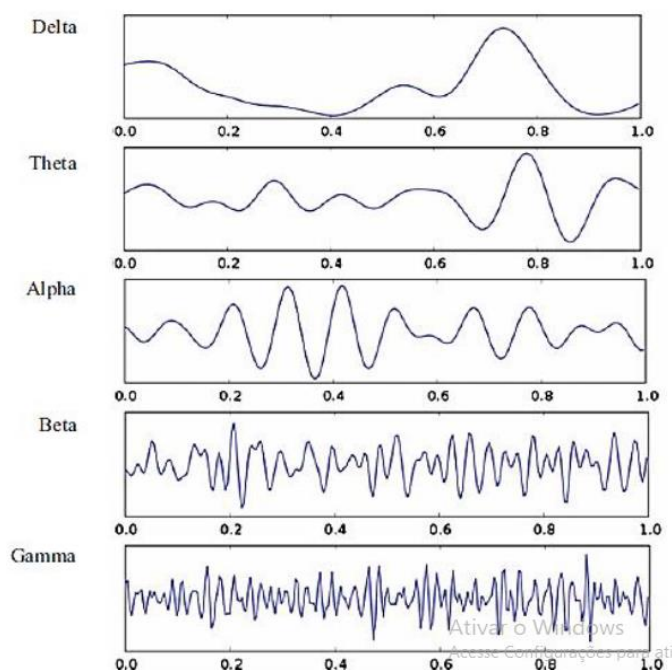


Figura 5 – Tipos de ondas cerebrais. Adaptado de Kouvelková e Strmiska, 2018.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo geral**

Relacionar convulsões únicas, perda neuronal e déficits de memória e aprendizado medidos por alterações eletroencefalográficas, histológicas e comportamentais após o tratamento de curto prazo com DEX em um modelo murino de convulsão induzida por pentilenotetrazol (PTZ).

### **4.2. Objetivos específicos**

- Investigar as possíveis oscilações cerebrais do rato após administração de pentilenotetrazol e os níveis de acomodação das faixas cerebrais após a utilização de DEX nos períodos de 0, 12, 24, 36 e 48 horas, nas bandas Delta (1-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alfa (8-13 Hz), Beta (13-28 Hz) e Gama (28-40 Hz);
- Investigar o efeito da dexametasona sobre os parâmetros comportamentais, após as convulsões deflagradas pelo pentilenotetrazol;
- Investigar o efeito da dexametasona sobre os parâmetros histológicos, após as convulsões deflagradas pelo pentilenotetrazol;
- Descrever os benefícios acerca da utilização da dexametasona no modelo animal de crise convulsiva induzida por PTZ.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. Animais experimentais

Este estudo experimental foi realizado na cidade de Belém-Pará, no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais da Universidade Federal do Pará (UFPA). Foram utilizados 108 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), com idade entre 100 e 110 dias, pesando entre 200 e 230g provenientes do biotério central do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará (ICB-UFPA). Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade adequada, em torno de  $55 \pm 10\%$  de umidade relativa, e luminosidade artificial de fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, considerando o período de luz de 6:00 às 18:00 e controle de ruído, colocados em gaiolas de polipropileno com acesso a água filtrada e ração oferecida à vontade durante todo o estudo, com limpeza das gaiolas realizada duas vezes por semana. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com os princípios do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do ICB-UFPA, sob nº 3133251121, ID 001824 (ANEXO A). Foram tomadas todas as precauções necessárias para evitar o sofrimento e angústia dos animais.

### 5.2. Experimento

O presente estudo foi baseado em três experimentos separados. O Experimento I foi destinado a gravações de EEG em diferentes momentos. Os animais receberam implantes de eletrodos para avaliação eletrocorticográfica, o registro ocorreu após a aplicação das drogas correspondentes aos respectivos grupos (Tabela 2) no quinto dia após o implante e logo após a aplicação das drogas, as gravações serão feitas por 5 minutos.

GRUPO	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12
Tempo	0h	0h	0h	0h	12h	12h	24h	24h	36h	36h	48h	48h
Tratamento	SS	DEX	PTZ	PTZ +DEX	PTZ	PTZ +DEX	PTZ	PTZ +DEX	PTZ	PTZ +DEX	PTZ	PTZ +DEX

Tabela 2 – Grupos experimentais.



**Grupo 1-** Os animais controle receberam uma dose única de solução salina (SS) 0,9% i.p. seguida da aquisição do registro eletrocorticográfico (ECoG) (n=9).

**Grupo 2-** Os animais receberam uma dose única de dexametasona (DEX) 0,6 mg/kg i.p. seguido de aquisição do registro eletrocorticográfico (ECoG) (n=9).

**Grupo 3-** Os animais receberam uma dose única de pentilenotetrazol (PTZ) 60 mg/kg i.p. seguido de aquisição do registro eletrocorticográfico (ECoG) (n=9).

**Grupo 4-** Os animais receberam uma dose de dexametasona 0,6 mg/kg i.p. seguido por dose de PTZ 60 mg/kg i.p. imediatamente após a aplicação do medicamento foram realizados ECoG (n=9).

**Grupo 5-** Os animais receberam uma dose única de PTZ 60 mg/kg i.p. seguido de aquisição do registro eletrocorticográfico (ECoG) 12 horas após a aplicação de PTZ (n=9).

**Grupo 6-** Os animais receberam uma dose de dexametasona 0,6 mg/kg i.p. seguido por dose de PTZ 60 mg/kg i.p. e 12 horas após a aplicação foram feitos registros de ECoG (n=9).

**Grupo 7-** Os animais receberam uma dose de PTZ 60 mg/kg i.p. com aquisição do registro de ECoG 24 horas após aplicação de PTZ (n=9).

**Grupo 8-** Os animais receberam uma dose de dexametasona 0,6 mg/kg i.p. seguido de aplicação de PTZ 60 mg/kg i.p. e 24 horas após a aplicação foram realizados ECoG (n=9).

**Grupo 9-** Os animais receberam uma dose única de PTZ 60 mg/kg i.p. seguido de aquisição do registro eletrocorticográfico (ECoG) 36 horas após a aplicação de PTZ (n=9).

**Grupo 10-** Os animais receberam uma dose de dexametasona 0,6 mg/kg i.p. associada a PTZ 60 mg/kg i.p. e 36 horas após a aplicação do fármaco foram realizados ECoG (n=9).

**Grupo 11-** Os animais receberam uma dose única de PTZ 60 mg/kg i.p. seguido de aquisição do registro eletrocorticográfico (ECoG) 48 horas após a aplicação do PTZ (n=9).

**Grupo 12-** Os animais receberam uma dose de dexametasona 0,6 mg/kg i.p. depois receberam uma dose de PTZ 60 mg/kg i.p. 48 horas após a aplicação do fármaco foram realizados ECoGs (n=9).

Os animais foram submetidos a exames eletrocorticográficos logo após a aplicação das drogas, considerado o tempo inicial para a execução do projeto, seguido

dos registros 0h, 12h, 24h, 36h e 48 horas após a aplicação dos medicamentos. As inscrições foram efetivadas para o período da manhã, das 7h30min às 11h30min.

Os experimentos II e III tiveram delineamento semelhante, a única diferença foi na avaliação comportamental através da tarefa de reconhecimento de objetos, sendo que o Experimento II foi baseado em treinamento animal antes da administração de DEX e convulsão induzida por PTZ, enquanto no Experimento III os animais foram treinados após a administração de DEX e convulsão induzida por PTZ, cujo objetivo desses dois últimos experimentos foi avaliar os déficits de memória e aprendizado diante da convulsão e tratamento (Figura 3).

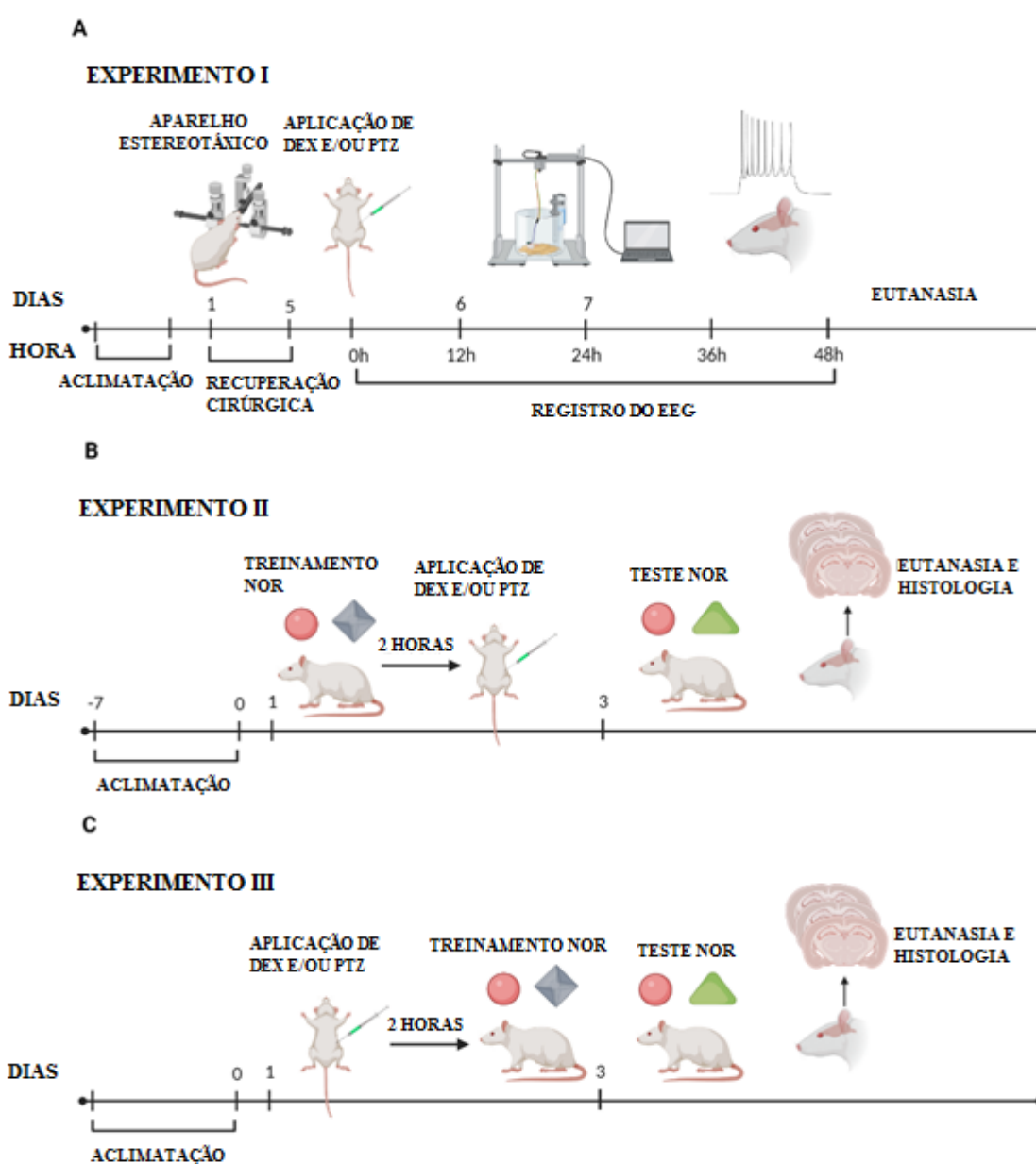


Figura 6 - Diagrama esquemático da linha do tempo dos delineamentos experimentais. (A) Experiência I. DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol; EEG: eletroencefalografia. (B) Experimento II e (C) Experimento III. NOR: reconhecimento de objeto novo.

Para todos os experimentos, os ratos foram divididos aleatoriamente em grupo controle (animais que receberam uma dose única de solução salina 0,9% por via intraperitoneal [i.p.]); grupo dexametasona (DEX; animais que receberam dose única de dexametasona [0,6 mg/kg, i.p.] baseada no Guia Terapêutico Veterinário (VIANA, 2014), fabricante MERK); grupo pentilenotetrazol (PTZ; animais que receberam uma dose única de pentilenotetrazol [60 mg/kg, i.p.]; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA); e grupo dexametasona + pentilenotetrazol (DEX+PTZ).

O pentilenotetrazol (PTZ), um antagonista não competitivo do receptor GABAA, é um agente químico indutor de convulsão amplamente utilizado em modelos experimentais de convulsão (Hashemi et al., 2013).

### **5.3. Implante de eletrodo, registros eletroencefalográficos e análise dos dados (Experimento I)**

Os EEGs foram registrados conforme descrito por Estumano et al. (2019). Os animais foram anestesiados com uma combinação de Cloridrato de Xilazina (10 mg/kg) e Cloridrato de Cetamina (100mg/kg) por via intraperitoneal. Após o animal apresentar a perda do reflexo interdigital, este foi fixado no aparelho estereotáxico, para implantação de eletrodos. O procedimento foi iniciado com a tricotomia da pele da região da cabeça, com assepsia adequada, foi infiltrada lidocaína a 2% no local da incisão cirúrgica, que deve conter 1,0 cm rostrocaudal na linha média, expondo a superfície óssea do crânio. A lidocaína também foi aplicada no meato acústico externo para reduzir os efeitos da pressão das barras do aparelho estereotáxico. Após a exposição do osso do crânio foram feitas duas perfurações com um aparelho micromotor elétrico para uso odontológico (Driller BLM 600 Double®), obedecendo as coordenadas estereotáxicas - 0,96 mm para bregma, 1 mm látero-lateral, onde os eletrodos de 1 mm de diâmetro foram acomodados na dura-máter, e fixados com resina acrílica autopolimerizável para uso odontológico (Jet Kit®), utilizando o parafuso como base e aterramento para os registros de EEG. Após a cirurgia, os animais foram mantidos em gaiolas individuais pelo período de cinco dias, após este período receberam seus respectivos tratamentos e os registros de EEG foram feitos por 5 minutos.

O principal meio de obtenção de dados foram os registros eletrofisiológicos de potencial de campo, que foram realizados através de um amplificador diferencial com

alta impedância de entrada AC (Grass Technologies, Model P511) ajustado com filtragem de 0,3 Hz (low pass) e 300 Hz (high pass), monitorado com um osciloscópio (Protek, Model 6510), e digitalizado continuamente a uma taxa de 1 kHz por um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX). Os dados foram armazenados em um disco rígido e processados por meio de software especializado (LabVIEW Express). Para analisar as alterações neuronais, o Signal® 3.0 e Matlab® 7.1, foram utilizados programas, nos quais possibilitaram a inspeção da frequência das ondas cerebrais. O eletrodo de registro foi localizado no lado direito do hemisfério e no lado esquerdo do eletrodo de referência. Todo o experimento foi realizado dentro da gaiola de Faraday. Após 10 minutos de acomodação, foi feita a inscrição de duração de 10 minutos para cada animal.

Para a análise dos sinais adquiridos, foi construída uma ferramenta utilizando a linguagem de programação Python versão 2.7. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para processamento matemático e a biblioteca Matplotlib para gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida usando a biblioteca PyQt4.

Os gráficos de amplitude demonstraram a diferença de potencial entre os eletrodos de referência e de registro. Nos sinais, foram observadas 1000 amostras por segundo. Os espectrogramas foram calculados usando uma janela de Hamming com 256 pontos (256/1000 segundos), e cada quadro foi gerado com uma sobreposição de 128 pontos por janela. Para cada quadro, a densidade de potência espectral (PSD) foi calculada pelo método do periodograma médio de Welch.

O histograma de frequência foi gerado primeiro calculando o PSD do sinal usando a janela de Hamming com 256 pontos, sem sobreposição, com o PSD, resultando em um histograma construído com caixas de 1 Hz. Para analisar a diferença entre os experimentos, foi construído um gráfico com a média e desvio padrão do PSD de vários experimentos, cada onda do gráfico foi gerada a partir de um conjunto de testes, onde foi gerado o PSD e calculado o padrão de média e desvio de cada grupo, para o cálculo da janela PSD Hamming foram utilizados 256 pontos sem sobreposição. A análise foi realizada em frequências de até 40 Hz, e dividida em bandas de acordo com Jalilifar, Yadollahpour, Moazedi e Ghotbeddin (2017) em Beta (1-4 Hz), Theta (4-8 Hz), Alpha (8-12), Beta (12-28) e Gamma (28-40 Hz), para interpretar a dinâmica durante o desenvolvimento da crise.

#### 5.4. Análise comportamental (Experimento II e III)

A tarefa de reconhecimento de objetos novos (NOR) foi realizada na madeira caseira da arena de campo aberto (100 cm X 100 cm X 50 cm), cercada por quatro paredes. Previamente, os animais foram colocados na arena para exploração livre por 2 minutos seguido da fase de treinamento, onde dois objetos idênticos (A+A) foram colocados simetricamente em cantos opostos do aparato e o comportamento exploratório dos ratos foi registrado por 5 minutos (300 seg). Quarenta e oito horas após a sessão de treinamento, os animais foram testados: dois objetos com cor, formato e textura diferentes (A+B), foram dispostos na mesma posição de treinamento. O teste durou 5 minutos (300 s) e a atividade exploratória dos animais em cada objeto foi registrada.

Os parâmetros analisados foram: (a) taxa de discriminação (DR) =  $[\text{tempo gasto explorando o objeto B (segundos)}] - [\text{tempo gasto explorando o objeto A (segundos)}] / [\text{tempo gasto explorando o objeto A (segundos)}] + [\text{tempo gasto explorando o objeto B (segundos)}]$ ; (b) razão de reconhecimento (RR) =  $[\text{tempo gasto explorando o objeto B (segundos)}] / [\text{tempo gasto explorando o objeto A (segundos)} + [\text{tempo gasto explorando o objeto B (segundos)}]$ ; e (c) tempo gasto em objeto antigo (segundos) e (d) novo objeto (Wang et al., 2020; Antunes et al., 2011).

Para o Experimento II, duas horas antes da administração das drogas (DEX e/ou PTZ), os ratos foram submetidos a uma sessão de treinamento para a tarefa de reconhecimento de objetos (dia 1) e a sessão de teste foi realizada 48 horas depois (dia 3). O treinamento e os testes foram organizados para avaliar os déficits de memória de curto prazo diante de um episódio de convulsão.

Para o Experimento III, os animais foram submetidos a uma sessão de treinamento para a tarefa de reconhecimento de objetos duas horas após a administração das drogas (DEX e/ou PTZ; dia 1). A sessão de teste foi realizada no final do experimento (dia 3). Treinamento e teste foram realizados para analisar déficits na aquisição de aprendizagem no estado pós-ictal.

#### 5.5. Coloração de Nissl e contagem de células

Os animais dos experimentos II e III foram anestesiados com uma combinação de overdose (i.p.) de cloridrato de xilazina (30 mg/kg) e cloridrato de cetamina (300

mg/kg) e foram perfundidos transcardialmente com solução salina tamponada com fosfato (pH 7,4) a 4°C seguido por formaldeído frio (pH 7,4). Os cérebros foram extraídos, transferidos para solução de sacarose a 30% por 24 horas, cortados em cortes coronais (40 µm) e corados com Nissl (0,3% de acetato de cresil violeta) (Mahmoud et al., 2016). O número de células no hipocampo (CA1, CA3, giro denteado e camadas do hilo) foi contado. As contagens de células foram realizadas em um quadro de 2500 µm<sup>2</sup> (50 µm x 50 µm) e observadas no software de imagem ImageJ (NIH, Bethesda, MD, EUA).

### **5.6. Análise estatística**

Antes das análises, a normalidade e a lognormalidade das variâncias foram verificadas por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados foram analisados usando o programa GraphPad Prism, versão 9 (Graph-Pad Software Inc San Diego, CA, EUA). Todos os dados foram apresentados como média e desvio padrão (DP) e os valores de F e p foram incluídos quando relevantes; e um nível de significância  $p < 0,05$  foi considerado para todas as análises. Diferenças significativas entre os grupos experimentais foram analisadas por análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas.

### **5.7. Eutanásia de animais**

Os animais utilizados no experimento I foram eutanasiados ao final do experimento. Para isso, foi utilizada a técnica de aprofundamento do plano anestésico para evitar ao máximo sofrimento aos animais. As drogas Cetamina na dose de 300mg/kg i.p. associada a 30 mg/kg de Xilazina e Diazepam 5 mg/kg i.p. foram utilizadas para a eutanásia.

## 6. RESULTADOS

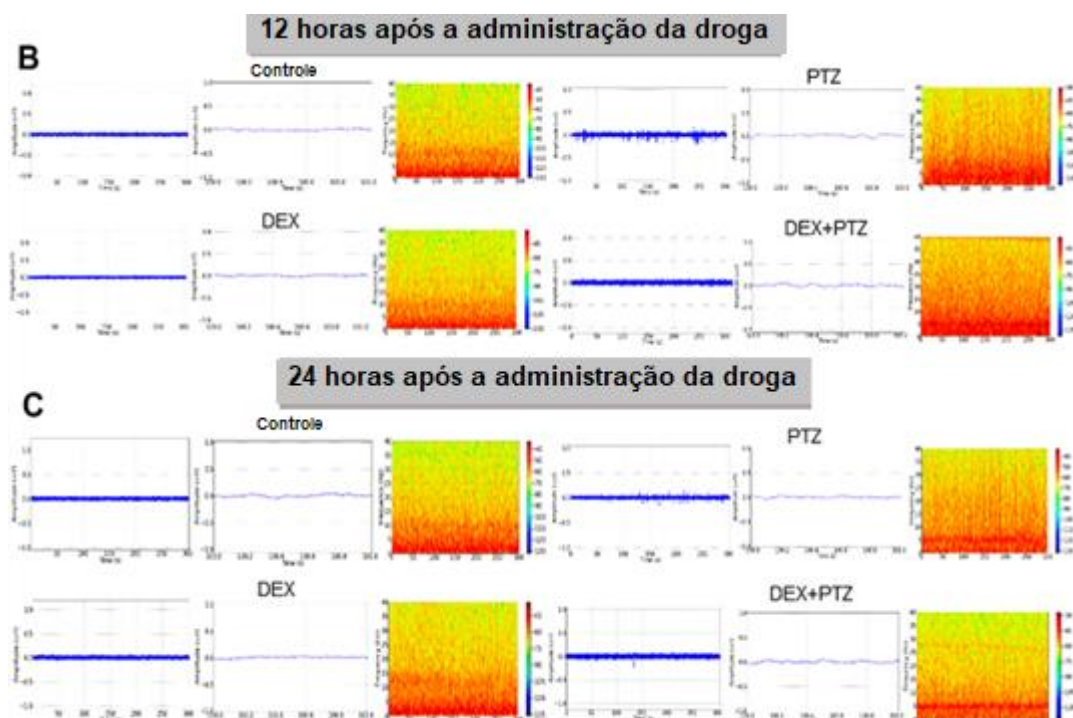
### 6.1. O pentilenotetrazol causa alterações no padrão do EEG mesmo após 48h de administração e a dexametasona atenua essas oscilações

Os traçados do EEG do grupo controle apresentaram amplitude característica inferior a 0,05 mV e as frequências observadas no espectrograma apresentaram maior intensidade energética abaixo de 10 Hz (Figura 7). O grupo que recebeu DEX apresentou padrão de EEG semelhante ao controle em todos os tempos analisados (Figura 7). Por outro lado, os grupos que receberam PTZ (grupo PTZ e DEX+PTZ) apresentaram alterações de EEG compatíveis com convulsiva, apresentaram irregularidades e amplitude registrada de até 0,7 mV, e aumento do nível de energia em frequências até 40 Hz observado em espectrograma, imediatamente após a administração das drogas (Figura 7).

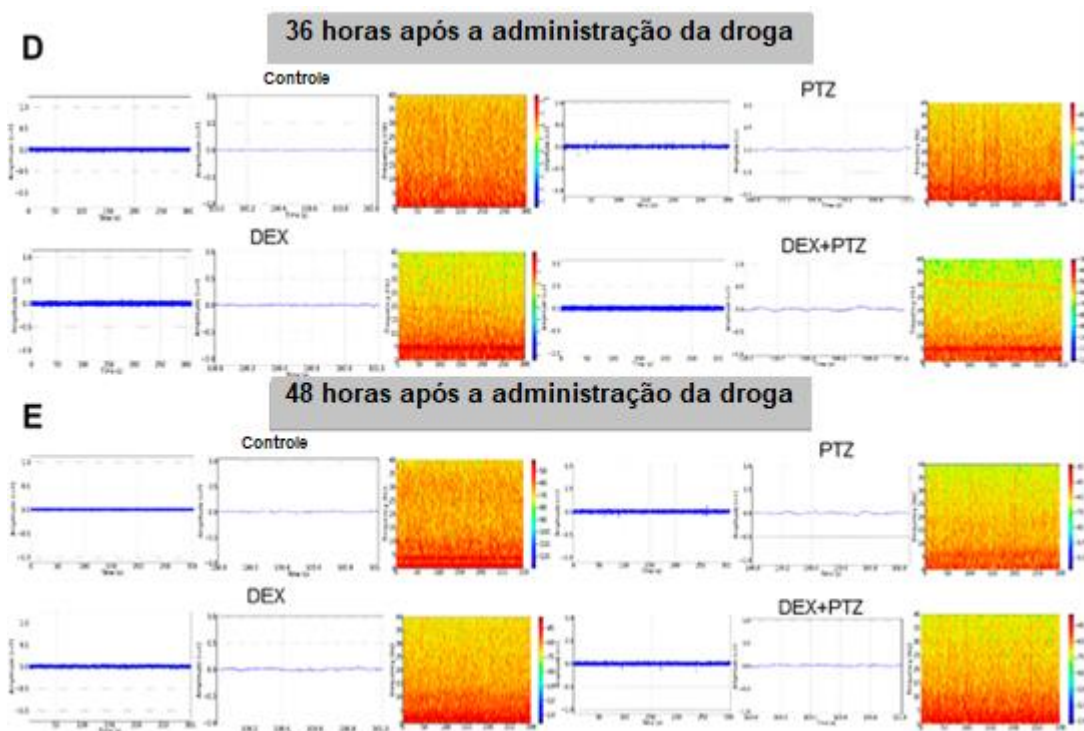
Após 12 horas, o grupo PTZ apresentou traçados de EEG com maiores oscilações em comparação ao grupo DEX+PTZ, que apresentou maior acomodação dos traçados de EEG, mais semelhante ao grupo controle, com menor distribuição de energia (Figura 8). Ao longo do tempo, as oscilações nos traçados do EEG foram semelhantes ao traçado basal (grupo controle) e esse processo foi mais rápido para o grupo DEX+PTZ do que para o grupo PTZ (Figura 8).



**Figura 7** - Registros eletroencefalográficos de animais submetidos ao modelo de crise induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. O traçado linear foi obtido por eletroencefalografia (esquerda). Sequência representativa de 1 s do traçado EEG (centro). Frequência do espectrograma (à direita). (A) Animais imediatamente após a administração das drogas (0h).



**Figura 8** - Registros eletroencefalográficos de animais submetidos ao modelo de crise induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. O traçado linear foi obtido por eletroencefalografia (esquerda). Sequência representativa de 1 s do traçado EEG (centro). Frequência do espectrograma (à direita). (B) Animais 12 horas após a administração das drogas. (C) Animais 24 horas após a administração das drogas.

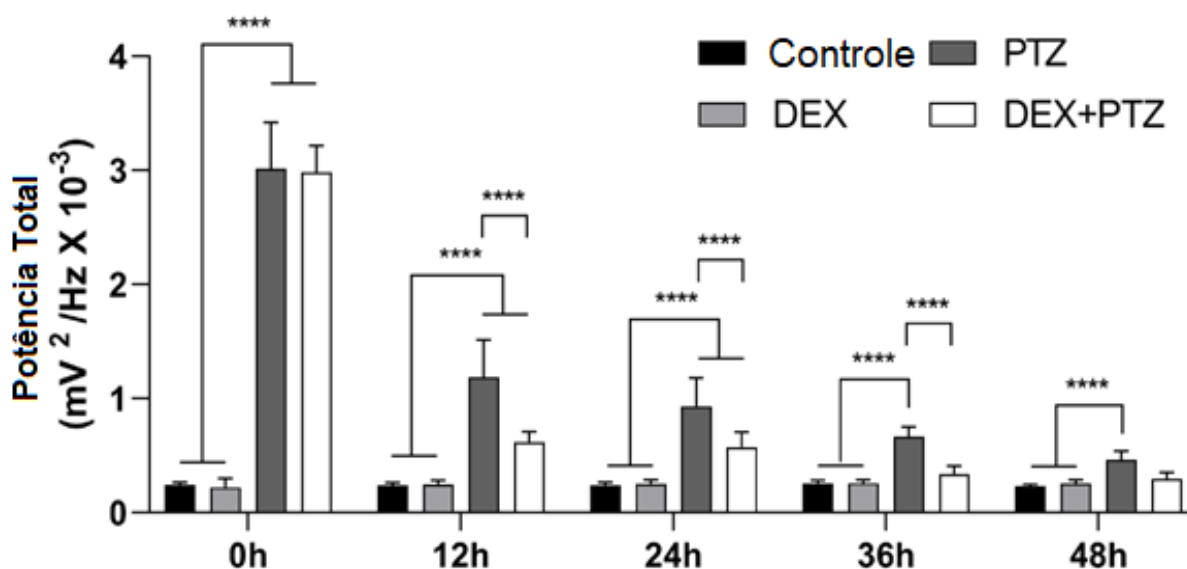


**Figura 9** - Registros eletroencefalográficos de animais submetidos ao modelo de crise induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. O traçado linear foi obtido por eletroencefalografia (esquerda). Sequência representativa de 1 s do traçado EEG (centro). Frequência do espectrograma (à direita). (D) Animais 36 horas após a administração das drogas. (E) Animais 48 horas após a administração das drogas. DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.



Na análise de potência total, houve um efeito significativo do tratamento [F (3, 160) = 524,2,  $p < 0,0001$ ] e tempo de tratamento [F (4, 160) = 457,2,  $p < 0,0001$ ] entre os grupos, embora não variaram significativamente entre os grupos controle e DEX em todos os tempos investigados ( $p > 0,05$ , para todas as comparações). Os grupos que receberam PTZ (grupos PTZ e DEX+PTZ) apresentaram aumento da potência total em comparação com os grupos controle e DEX imediatamente após a administração das drogas ( $p < 0,0001$ , para todas as comparações).

Embora os valores absolutos dos grupos PTZ e DEX+PTZ tenham diminuído ao longo do tempo, as diferenças se mantiveram quando comparados ao controle e os grupos DEX permaneceram até 24 horas ( $p < 0,0001$ , para todas as comparações). Após 36 horas, apenas o grupo PTZ foi diferente dos grupos controle e DEX ( $p < 0,0001$ , para todas as comparações). Surpreendentemente, a administração de DEX concomitantemente com PTZ foi capaz de reduzir a potência total quando comparada ao grupo PTZ após 12 horas de administração da droga até 36 horas ( $p < 0,0001$ , para todas as comparações), sendo igual à potência total do controle e grupos DEX após 36 horas ( $p > 0,05$ , para todas as comparações; Figura 10).



**Figura 10** - Dados eletroencefalográficos quantitativos da potência total das ondas cerebrais da atividade cerebral. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 9$  animais por grupo; \*\*\*\* $p < 0,0001$ , ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.

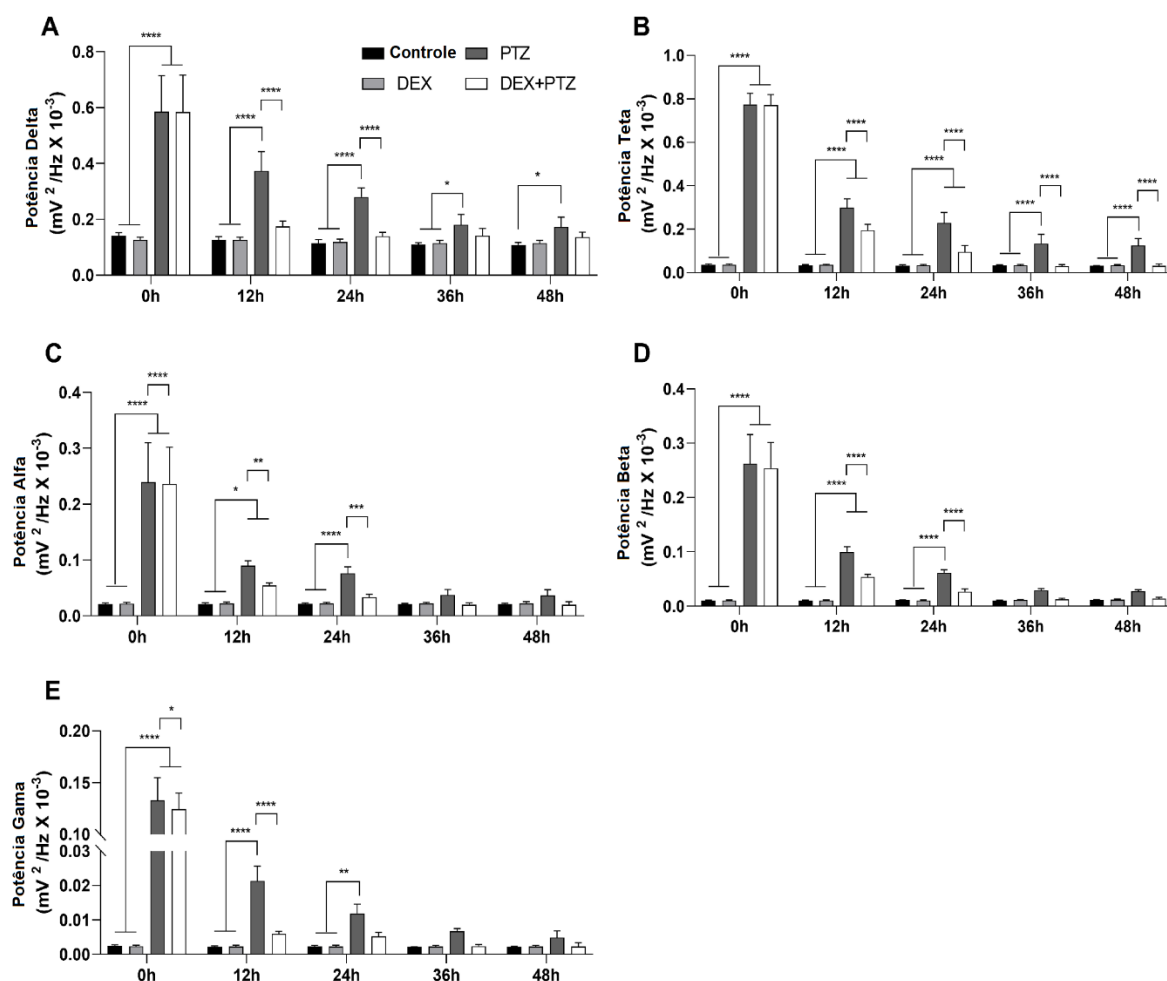
## **6.2. O tratamento com dexametasona atenuou o distúrbio induzido por PTZ na potência de banda das ondas cerebrais**

A potência de banda relativa das ondas cerebrais foi decomposta. Analisamos o tempo de efeito do tratamento para todas as ondas cerebrais (as comparações relacionadas ao tratamento ao longo do tempo foram resumidas na Figura 11).

Para a onda delta [F (4, 160) = 139,6,  $p < 0,0001$ ; Figura 11A], onda teta [F (4, 160) = 1138,  $p < 0,0001$ ; Figura 11B], onda alfa [F (4, 160) = 141,3,  $p < 0,0001$ ; Figura 11C], onda beta [F (4, 160) = 339,5,  $p < 0,0001$ ; Figura 11D] e onda gama [F (4, 160) = 706,9,  $p < 0,0001$ ; Figura 11E], houve efeito significativo do tempo de tratamento entre os grupos, embora não tenha sido observada variação entre os grupos controle e DEX em todos os tempos investigados ( $p > 0,05$ , para todas as comparações).

O grupo PTZ apresentou aumento da potência de banda relativa para as ondas cerebrais delta e teta em todos os tempos analisados em comparação com os grupos controle e DEX ( $p < 0,05$ , para todas as comparações). Além disso, também observamos valores maiores para o grupo PTZ para a potência de banda relativa alfa, beta e gama até 24 horas em relação aos grupos controle e DEX ( $p < 0,05$ , para todas as comparações). Para o grupo DEX+PTZ, houve diferença significativa dos grupos controle e DEX apenas para onda cerebral teta (12 e 24 horas;  $p < 0,0001$ , para todas as comparações), onda cerebral alfa (12 horas;  $p < 0,05$ , para ambas as comparações), e onda cerebral beta (12 horas;  $p < 0,0001$ , para ambas as comparações).

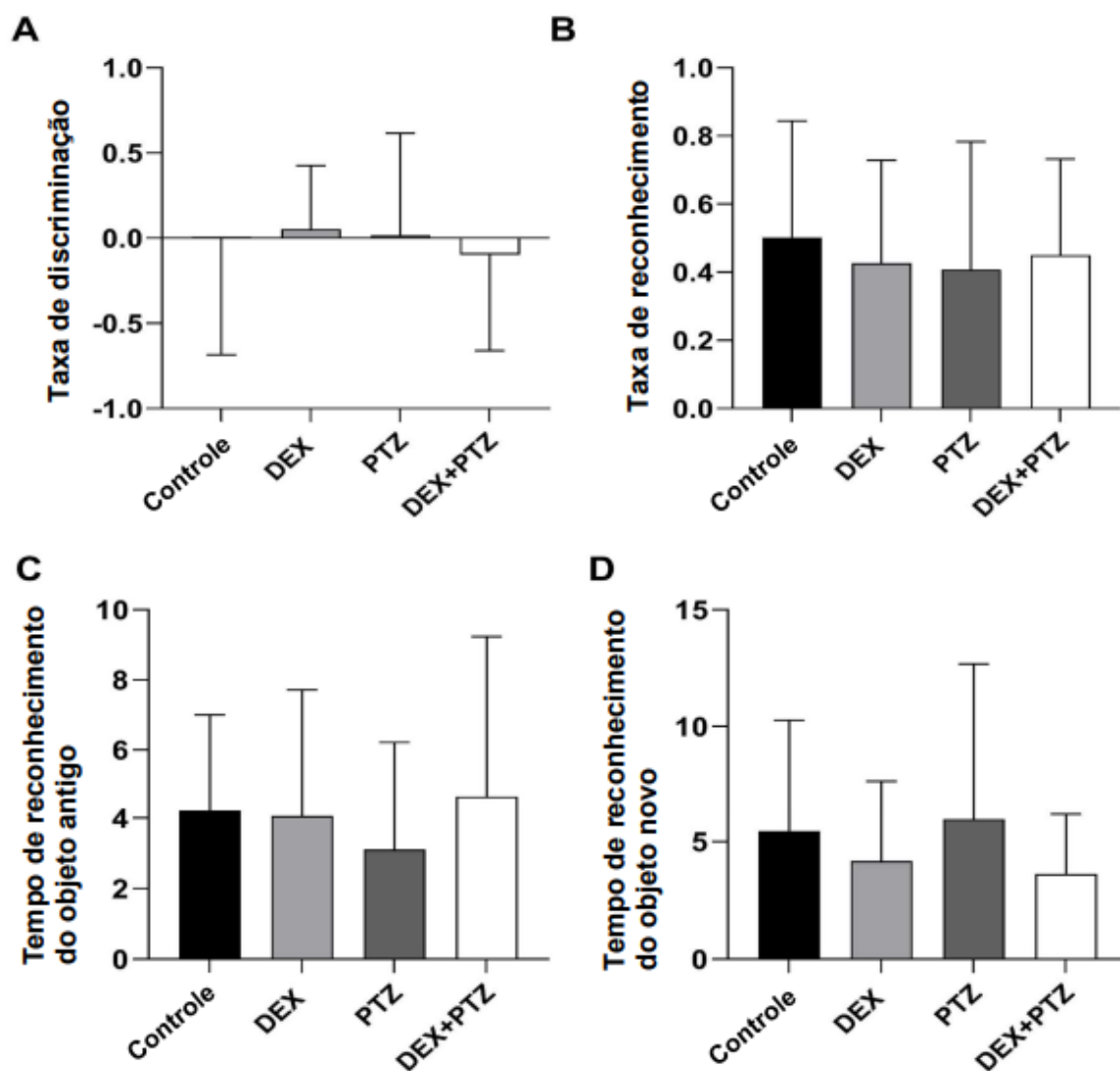
Além disso, o tratamento concomitante com dexametasona (grupo DEX+PTZ) reduziu as oscilações induzidas por PTZ (grupo PTZ) para todas as ondas cerebrais (delta, teta, alfa, beta e gama), logo após 12 horas ( $p < 0,01$ , para todas as comparações). Após 24 horas da administração das drogas, o tratamento com DEX ainda foi capaz de diminuir a potência relativa das ondas delta, teta, alfa e beta ( $p < 0,001$ , para todas as comparações). A partir de 36 horas, o efeito do tratamento com DEX foi observado apenas para a potência de banda relativa teta ( $p < 0,0001$ , para todas as comparações).



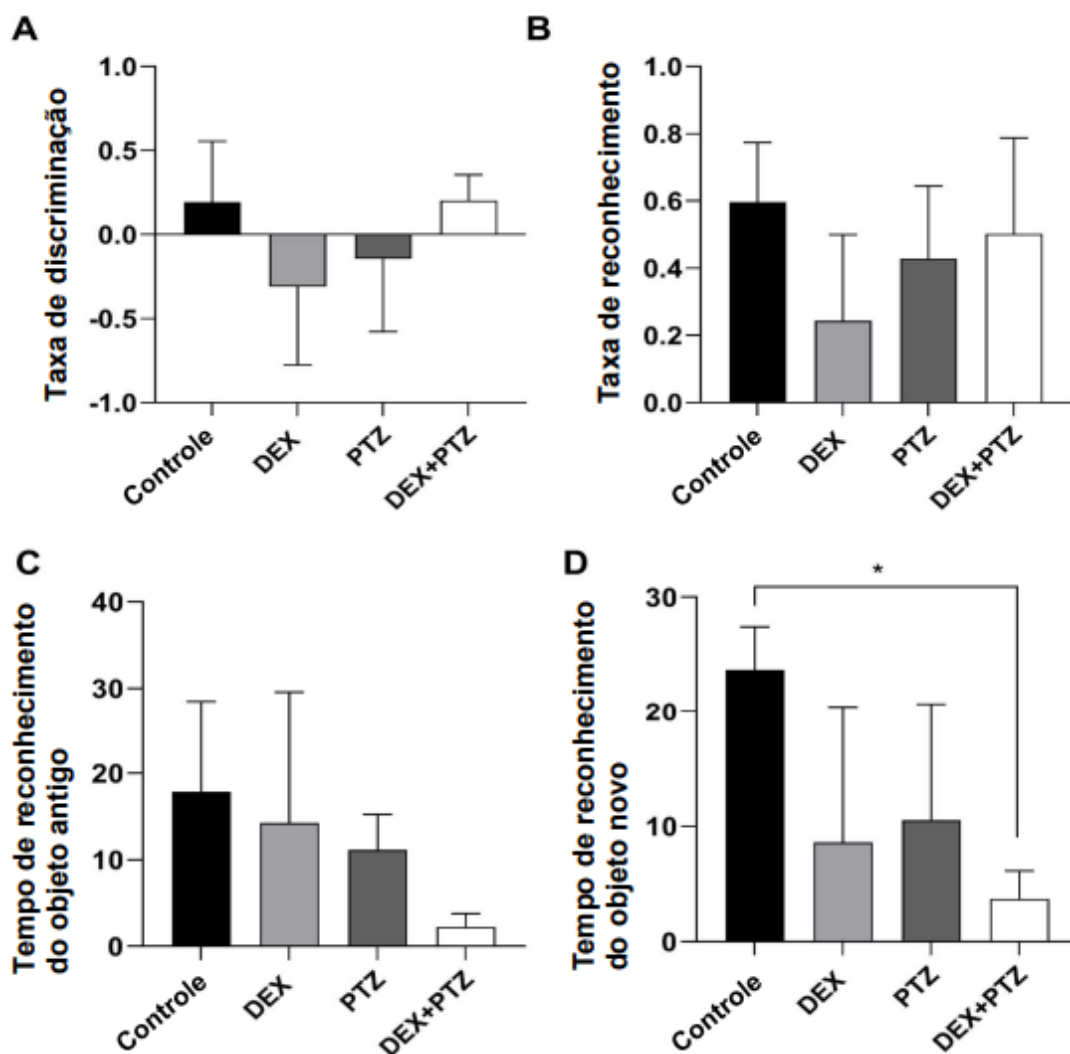
**Figura 11** - Dados eletroencefalográficos quantitativos sobre a potência de banda relativa das ondas cerebrais. (A) Potência de banda relativa da onda delta. (B) Potência de banda da onda teta relativa. (C) Potência de banda de onda alfa relativa. (D) Potência de banda de onda beta relativa. (E) Potência de banda de onda gama relativa. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 9$  animais por grupo; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\*\* $p < 0,0001$ , ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.

### 6.3. O tratamento com dexametasona não alterou a memória de curto prazo nem a aquisição de aprendizado na crise induzida por PTZ

Ao contrário do esperado, não foi observada influência de ambos os tratamentos (DEX e/ou PTZ) no teste de reconhecimento de objetos para os parâmetros analisados tanto no Experimento II (Figura 12) quanto no Experimento III (Figura 13), exceto na comparação em que o grupo DEX+PTZ gastou menos tempo no novo objeto em relação ao grupo controle ( $p = 0,0380$ ).



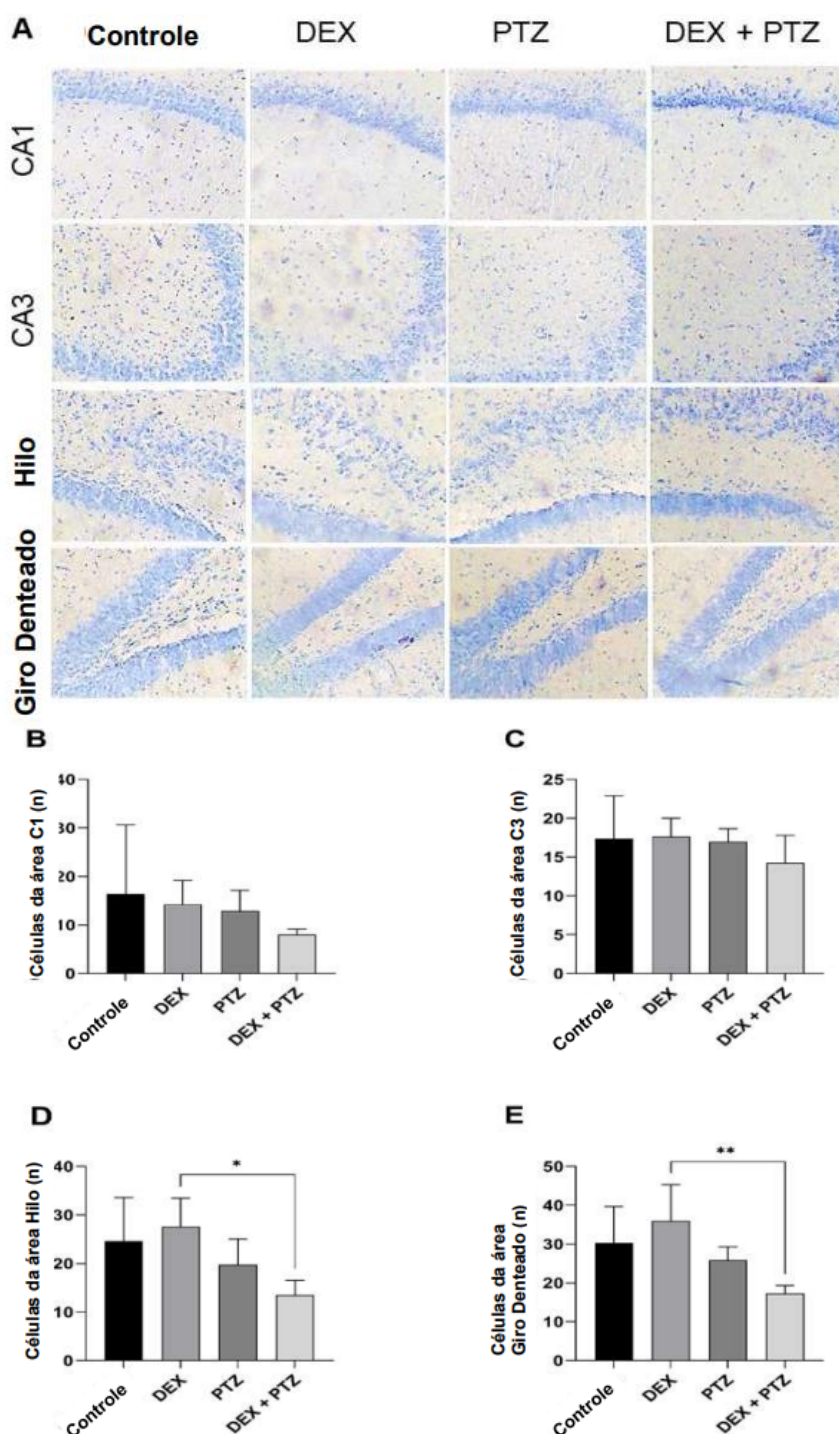
**Figura 12** - Dados do teste de reconhecimento de objetos do Experimento II de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (A) Taxa de discriminação. (B) Taxa de reconhecimento. (C) Tempo absoluto gasto reconhecendo o objeto antigo. (D) Tempo absoluto gasto reconhecendo o novo objeto. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 5$  animais por grupo). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.



**Figura 13** - Dados do teste de reconhecimento de objetos do Experimento III de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (A) Taxa de discriminação. (B) Taxa de reconhecimento. (C) Tempo absoluto gasto reconhecendo o objeto antigo. (D) Tempo absoluto gasto reconhecendo o novo objeto. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 5$  animais por grupo; \* $p < 0,05$ , teste de Kruskal-Wallis). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol.

#### 6.4. O pentilenotetrazol não induziu a morte celular e, portanto, o tratamento com dexametasona não protegeu contra o dano celular

Ambos os tratamentos (DEX e/ou PTZ) não alteraram a contagem de células no hipocampo no Experimento II, exceto hilo [ $F(3, 14) = 3,873$ ,  $p < 0,05$ ] e giro denteado [ $F(3, 14) = 5,219$ ,  $p < 0,05$ ], onde o grupo DEX + PTZ apresentou menor número de células em relação ao grupo que recebeu apenas DEX ( $p = 0,0328$  e  $p = 0,0093$ , respectivamente). Surpreendentemente, a administração de PTZ não promoveu a morte celular e, portanto, a DEX foi inerte no resgate de danos celulares no hipocampo (Figura 14).

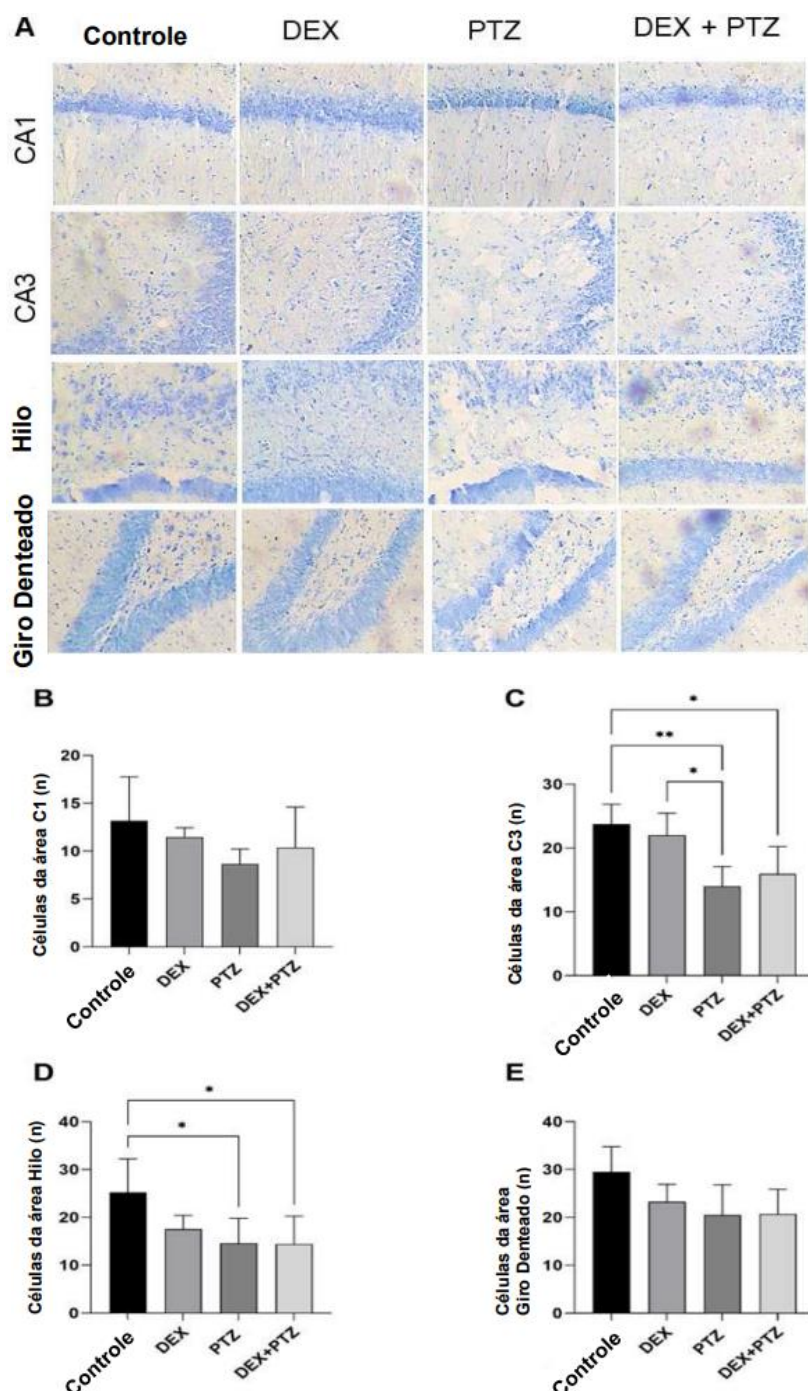


**Figura 14** - Coloração de Nissl do hipocampo de rato no Experimento II de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (A) Imagens representativas. (B) Dados quantitativos sobre o número de células na região CA1. (C) Dados quantitativos para o número de células na região CA3. (D) Dados quantitativos sobre o número de células na região do hilo. (E) Dados quantitativos sobre o número de células na região do giro denteado. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 5$  animais por grupo;  $*p < 0,05$ ,  $**p < 0,001$ , ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol. Barra de escala = 25  $\mu$ m.

No Experimento III, os dados indicaram que ratos tratados com PTZ sofreram redução no número de células em relação ao controle e DEX em CA3 [F (3, 16) =



8,831,  $p < 0,001$ ; Controle vs. PTZ,  $p < 0,001$ ; Controle vs. DEX + PTZ,  $p < 0,05$ ; DEX vs. PTZ,  $p < 0,05$ ) e regiões hilus [ $F(3, 16) = 4,383$ ,  $p < 0,05$ ; Controle vs. PTZ; Controle vs. DEX + PTZ,  $p < 0,05$  para todas as comparações). Não foram detectadas diferenças na contagem de células após a administração de DEX (Figura 15).



**Figura 15** - Coloração de Nissl do hipocampo de ratos no Experimento III de animais submetidos à convulsão induzida por PTZ e tratados ou não com dexametasona. (A) Imagens representativas. (B) Dados quantitativos sobre o número de células na região CA1. (C) Dados quantitativos para o número de células na região CA3. (D) Dados quantitativos sobre o número de células na região do hilo. (E) Dados quantitativos sobre o número de células na região do giro denteado. Os dados são expressos como média  $\pm$  DP ( $n = 5$  animais por grupo; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,001$ , ANOVA de duas vias seguida do teste de Tukey). DEX: dexametasona; PTZ: pentilenotetrazol. Barra de escala = 25  $\mu$ m.

## 7. DISCUSSÃO

As convulsões são alterações transitórias na atividade cerebral induzidas por excitabilidade neuronal anormal. Nas convulsões tônico-clônicas, os sintomas podem incluir rigidez, espasmos, espasmos e perda de consciência (Devinsky et al., 2018). No presente estudo, avaliamos os efeitos da dexametasona, uma droga com potente atividade glicocorticoide, em um modelo de convulsões agudas generalizadas induzidas por pentilenotetrazol, uma droga antagonista do receptor GABA-A (Kandratavicius et al., 2014). Aqui, mostramos que a DEX é eficaz em mitigar as alterações elétricas cerebrais observadas nas convulsões, antecipando a acomodação ao padrão de controle de maneira dependente do tempo, sem afetar o comportamento ou reverter a morte celular no hipocampo.

Pesquisas clínicas e experimentais têm demonstrado a importância da neuroinflamação na epileptogênese, que envolve o aumento da excitabilidade neuronal e redução do limiar convulsivo (Loringados et al., 2013). Várias evidências também apontam que a violação da barreira hematoencefálica (BHE) está envolvida no desenvolvimento da epilepsia (Löscher et al., 2020). Em condições saudáveis, as células imunes periféricas são parcialmente restritas do sistema nervoso central (SNC) devido a BHE. Quando a integridade da BHE é prejudicada, as células imunes inatas e adaptativas podem entrar no SNC e iniciar respostas inflamatórias, que podem ser neuroprotetoras ou neurotóxicas (Prinz & Priller, 2017).

Evidências sugerem que a DEX exerce seus efeitos via receptores de glicocorticoides (GR) no cérebro, que reduzem lentamente a transmissão excitatória mediada pelo glutamato e atenuam a resposta celular (Xiaoqing et al., 2022; Joëls, 2009). Assim, é possível que a DEX antecipe o tempo de acomodação na crise aguda reduzindo diretamente a excitabilidade via GR e também exerça ações anti-inflamatórias na BHE, na redução da potência total após 12 horas de tratamento até 36 horas. Além disso, DEX reduziu as oscilações induzidas por PTZ para todas as ondas cerebrais abaixo de 28 Hz nas primeiras 24 horas. Em uma visão translacional, esses dados estão de acordo com os achados de Gofshteyn et al. (2021) que mostrou por um estudo de coorte envolvendo crianças com encefalopatia epiléptica tratadas com DEX uma redução pela DEX na frequência de convulsões e melhora no perfil do EEG.



Os resultados do EEG demonstraram que a convulsão induzida por PTZ tem efeitos duradouros até 48 horas. O EEG tem alta probabilidade (71%) de detectar atividade epileptiforme quando realizado nas primeiras 48 horas após a convulsão. Isso confirma o valor preditivo do monitoramento eletroencefalográfico de longo prazo em relação ao risco de recorrência após uma única crise aguda e sua aplicabilidade clínica (Schreiner & Pohlmann-Eden, 2003). Os padrões eletrocorticográficos mostram que nosso modelo leva a um aumento imediato de todas as ondas cerebrais de potência relativa, com cessação da atividade rápida após 24 horas e manutenção das ondas cerebrais lentas por até 48 horas. A atividade delta e teta são patologicamente encontradas em lesões subcorticais e encefalopatias metabólicas e, em circunstâncias normais, no sono de ondas lentas, quando atua consolidando a memória (Roohi-Azizi et al., 2017). Diferentemente das condições fisiológicas, as convulsões generalizadas tônico-clônicas de fato são responsáveis pelo declínio cognitivo, destacando o comprometimento da memória. (Höller et al., 2015).

Além de ser uma condição elétrica do cérebro, uma convulsão é um evento estressante marcado pelo aumento dos níveis séricos de cortisol (Cano-López & González-Bono; 2019). Os efeitos mediados por glicocorticoides são duplos, dependendo da dose, tempo de tratamento e receptores ativados. Evidências mostraram que a ação mediada pelo cortisol na cognição segue uma dose-resposta em forma de U invertido com níveis extremamente altos ou baixos prejudicando a memória e doses intermediárias melhorando a consolidação da memória (Wigenfeld et al., 2011). Em nossos experimentos, uma única dose baixa de DEX foi aplicada antes ou depois da NOR e, em ambas as situações, não foi observado comprometimento da memória após a convulsão nem melhora cognitiva com a DEX. Ressalta-se que o Estresse Oxidativo e a neuroinflamação contribuem para a neuropatologia e déficits comportamentais associados à epileptogênese e tem papel determinante no limiar convulsivo em modelos animais.

Os glicocorticoides podem ativar receptores de mineralocorticoides (MR) ou GR no cérebro, com ativação e expressão suficientes de MR associados ao aumento da neurogênese e melhora no desempenho cognitivo e na consolidação da memória. Por outro lado, a saturação ou superexpressão de GRs com altas doses de glicocorticoides ou drogas com alta afinidade por seus receptores, como DEX, estão correlacionadas com déficits de memória (Brandner et al., 2020; Gray et al., 2017; Gesmundo et al., 2016). Além disso, uma ação inibitória clínica para DEX emerge da

descoberta de que os níveis de cortisol aumentam durante as convulsões, a fim de neutralizar o circuito epiléptico via RG e fornecer resiliência contra a hiperexcitabilidade (Cano-López & González-Bono; 2019; Di Maio et al., 2011; Maslarova e outros, 2011). Nessa linha, embora inúmeras pesquisas clínicas e experimentais sustentem que as convulsões podem induzir déficits cognitivos, não pudemos observar declínio da memória em nosso modelo de convulsão induzida por PTZ. Além disso, embora a dexametasona tenha antecipado o distúrbio das ondas cerebrais, ela não se refletiu funcionalmente na análise comportamental da memória.

Um único ataque de convulsão é suficiente para induzir a morte neuronal apoptótica, principalmente em áreas cerebrais ricas em receptores glutamatérgicos, responsáveis pela hiperexcitabilidade, como CA1, CA3, hilo e giro denteado (Nascimento et al., 2022; Mátyás et al., 2021; Casillas-Espinosa et al., 2020). Os mecanismos subjacentes envolvem a liberação de glutamato, que aumenta o cálcio intracelular e, conseqüentemente, a morte celular (Mohamed et al., 2020). Além disso, foi sugerido que as espécies reativas de oxigênio produzidas durante as convulsões também ativam vias relacionadas ao dano celular, resultando em morte neuronal, apoptose e necrose (Shin et al., 2011). Em uma perspectiva de longo prazo, esses processos podem gerar esclerose hipocampal (Chauhan et al., 2022).

Não foram encontrados estudos utilizando pré-tratamento com DEX em crises agudas induzidas por PTZ, porém, em relação a outros modelos farmacológicos, seu papel permanece controverso. Nas crises evocadas por hipóxia-isquemia, a administração de 10 µg/kg de DEX 24 horas após o insulto não ofereceu nenhum benefício em conferir neuroproteção hipocampal (Kruegers et al., 1999). Caso contrário, Al-Shorbagy et al. (2012) mostraram que o uso de 10 mg/kg de DEX não só teve efeito anticonvulsivante, mas também diminuiu a perda neuronal em CA3, enquanto nem 5 mg/kg nem 20 mg/kg foram eficazes na prevenção da morte celular em uma infecção induzida por lítio-pilocarpina modelo epiléptico.

Em outro modelo animal de epilepsia, o modelo da pilocarpina, foi encontrado resultado semelhante, a dose de DEXA utilizada foi de 10 mg/kg e nenhum anticonvulsivante foi usado como controle, houve redução do tempo de latência no início da crise demonstrando o possível efeito anticonvulsivante da DEXA no modelo animal de pilocarpina e foi possível verificar que a DEXA atua na redução não só da intensidade das crises, mas também do tempo de início das crises, reforçando o possível papel anticonvulsivante e neuroprotetor desta droga (GUZZO et al., 2021).

Da mesma forma, Yang e colaboradores (2012) observaram que 10 mg/kg de DEX por 3 dias seguidos após um único episódio convulsivo provocado por pilocarpina aumentou o número de células NeuN-positivas em CA1 e CA3 e diminuiu notavelmente as frequências de pico. Esses resultados ilustram que a possível neuroproteção conferida pela DEX envolve não apenas a dinâmica dose-resposta, mas também a duração do tratamento com glicocorticoides. Em nosso modelo, sugerimos que a baixa dose de DEX aplicada não foi suficiente para reverter o dano celular desencadeado pelo PTZ, sendo necessários estudos complementares para elucidar a duração ideal do tratamento que melhor demonstre seu papel na neuroproteção.

Sinha et al. 2021, verificou se o tratamento com dexametasona altera a duração, latência e/ou gravidade das convulsões induzidas por PTZ em modelos de camundongos da Doença de La Fora (LD). Eles mostraram que os animais tratados com dexametasona não influenciaram o tempo limite para indução de cada estágio de convulsão; no entanto, pode reduzir a gravidade e a duração das convulsões.

É importante notar que a resposta não foi avaliada apenas no desaparecimento do padrão EEG da SCWS, mas também na melhora clínica e neuropsicológica, especialmente quando os antiepilépticos falham.

## **8. CONCLUSÃO**

Considerando que os resultados obtidos demonstram que um único ataque convulsivo pode conferir sobrevivência às células do hipocampo, mesmo que essa mudança não afete o comportamento cognitivo. Mesmo que a dexametasona não tenha revertido o dano celular, é uma droga terapêutica considerável para convulsões devido aos seus efeitos duradouros em atenuar a atividade epileptiforme conforme demonstrado no EEG.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADCOCK, Ian M.; MUMBY, Sharon. Glucocorticoids. **Handbook of Experimental Pharmacology**, [S. l.], v. 237, p. 171–196, 2016. DOI: 10.1007/164\_2016\_98/COVER. Disponível em: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/164\\_2016\\_98](https://link.springer.com/chapter/10.1007/164_2016_98). Acesso em: 14 nov. 2022.

AMINOV A, ROGERS JM, JOHNSTONE SJ, MIDDLETON S, WILSON PH. Acute single channel EEG predictors of cognitive function after stroke. **PLoS One**. 2017 Oct 2;12(10):e0185841. doi: 10.1371/journal.pone.0185841. PMID: 28968458; PMCID: PMC5624638.

ARVOLD, Nils D.; PINNELL, Nancy E.; MAHADEVAN, Anand; CONNELLY, Sheila; SILVERMAN, Rachel; WEISS, Stephanie E.; KELLY, Paul J.; ALEXANDER, Brian M. Steroid and anticonvulsant prophylaxis for stereotactic radiosurgery: Large variation in physician recommendations. **Practical Radiation Oncology**, [S. l.], v. 6, n. 4, p. e89–e96, 2016. DOI: 10.1016/j.prro.2015.11.004. Disponível em: <http://www.practicalradonc.org/article/S1879850015004038/fulltext>. Acesso em: 14 nov. 2022.

BASCUÑANA, Pablo; JAVELA, Julián; DELGADO, Mercedes; FERNÁNDEZ DE LA ROSA, Rubén; SHIHA, Ahmed Anis; GARCÍA-GARCÍA, Luis; POZO, Miguel Ángel. [18F]FDG PET Neuroimaging Predicts Pentylentetrazole (PTZ) Kindling Outcome in Rats. **Molecular Imaging and Biology**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 733–740, 2016. DOI: 10.1007/S11307-016-0950-0/FIGURES/4. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11307-016-0950-0>. Acesso em: 14 nov. 2022.

BERTHELOT, J.M., & LE GOFF, B. & MAUGARS, Y. (2013) Side effects of corticosteroid injections: what's new? **Joint Bone Spine**. 80(4), 363-7. 10.1016/j.jbspin.2012.12.001. 10.1016/j.jbspin.2012.12.001

BORHAM LE, MAHFOZ AM, IBRAHIM IAA, SHAHZAD N, ALREFAI AA, LABIB AA, BIN SEF B, ALSHAREEF A, KHAN M, MILIBARY A, AL GHAMDI S. The effect of some immunomodulatory and anti-inflammatory drugs on Li-pilocarpine-induced epileptic disorders in Wistar rats. **Brain Res**. 2016 Oct 1;1648(Pt A):418-424. doi: 10.1016/j.brainres.2016.07.046. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27498238.

BRANDNER, S, SCHROETER, S, ÇALIŞKAN, G, SALAR, S, KOBOW, K, CORAS, R, ET AL. Glucocorticoid modulation of synaptic plasticity in the human temporal cortex of epilepsy patients: Does chronic stress contribute to memory impairment? **Epilepsia**. 2022; 63: 209– 221. <https://doi.org/10.1111/epi.17107>

CAFUIR L, LAWSON D, DESAI N, KESNER V, VOLOSCHIN A. Inflammatory demyelinating polyneuropathy versus leptomeningeal disease following Ipilimumab. **J Immunother Cancer**. 2018 Jan 30;6(1):11. doi: 10.1186/s40425-018-0318-x. PMID: 29382383; PMCID: PMC5791192.

CANO-LÓPEZ I, GONZÁLEZ-BONO E. Cortisol levels and seizures in adults with epilepsy: A systematic review. **Neurosci Biobehav Rev.** 2019 Aug;103:216-229. doi: 10.1016/j.neubiorev.2019.05.023. Epub 2019 May 23. PMID: 31129236.

CASILLAS-ESPINOSA PM, ALI I, O'BRIEN TJ. Neurodegenerative pathways as targets for acquired epilepsy therapy development. **Epilepsia Open.** 2020 Mar 12;5(2):138-154. doi: 10.1002/epi4.12386. PMID: 32524040; PMCID: PMC7278567.

CHAUHAN P, PHILIP SE, CHAUHAN G, ET AL. The Anatomical Basis of Seizures. In: Czuczwar SJ, editor. **Epilepsy** [Internet]. Brisbane (AU): Exon Publications; 2022 Apr 2. Chapter 2. doi: 10.36255/exon-publications-epilepsy-anatomical-basis

CHEN J, CAI F, JIANG L, HU Y, FENG C. A prospective study of dexamethasone therapy in refractory epileptic encephalopathy with continuous spike-and-wave during sleep. **Epilepsy Behav.** 2016 Feb;55:1-5. doi: 10.1016/j.yebeh.2015.10.003. Epub 2015 Dec 22. PMID: 26720702.

CHEUNG, KEITH A. KWAN ET AL. A interação entre o sistema endocanabinoide, epilepsia e canabinoides. **Jornal Internacional de Ciências Moleculares.** v. 20, n. 6079, p. 1-21, 2 dez. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/23/6079>. Acesso em: 01 mai. 2023. DOI:10.3390/ijms20236079

COSTA, M. H.; 1994. Derivação da Fonte de Sinais EEG: Correlação e Mapeamento Cerebral. Rio de Janeiro. **Tese (Mestrado em Engenharia Biomédica)** - Programa de Engenharia Biomédica, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

D. G. AMARAL, P. L. STRICK, "Voluntary Movement: The Primary Motor Cortex" em Principles of Neural Science, E. R. Kandel, J. H. Schwartz, T. M. Jessell, S. A. Siegelbaum, A. J. Hudspeth, Eds. 5ª ed. McGraw-Hill, 2013.

DE VRIES EE., MUNCKHOF BVD, BRAUN KPJ, ROYEN-KERKHOF AV, JAGER W, JANSEN AE. (2016). Mediadores inflamatórios na epilepsia humana: uma revisão sistemática e meta-análise. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** .Volume 63,177-190 <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.02.007>

DEJEAN, C.; RICHARD, D. Mécanismes d'action des glucocorticoïdes. **La Revue de Médecine Interne**, [S. l.], v. 34, n. 5, p. 264–268, 2013. DOI: 10.1016/J.REVMED.2013.02.021.

DEVINSKY O, VEZZANI A, O'BRIEN TJ, JETTE N, SCHEFFER IE, DE CURTIS M, PERUCCA P. Epilepsy. **Nat Rev Dis Primers.** 2018 May 3;4:18024. doi: 10.1038/nrdp.2018.24. PMID: 29722352.

DUPUIS N, AUVIN S. Inflammation and epilepsy in the developing brain: clinical and experimental evidence. **CNS Neurosci Ther.** 2015 Feb;21(2):141-51. doi: 10.1111/cns.12371. Epub 2014 Dec 23. PMID: 25604829; PMCID: PMC6495285.

ESTUMANO DP, FERREIRA LO, BEZERRA PAL, DA SILVA MCP, JARDIM GC, SANTOS GFS, GUSTAVO KS, MATTOS BG, RAMOS JAB, JÓIA DE MELLO V, DA COSTA ET, LOPES DCF, HAMOY M. Alteration of Testosterone Levels Changes

Brain Wave Activity Patterns and Induces Aggressive Behavior in Rats. **Front Endocrinol (Lausanne)**. 2019 Sep 24;10:654. doi: 10.3389/fendo.2019.00654. PMID: 31616380; PMCID: PMC6768956.

FINE, Anthony; WIRRELL, Elaine C. Seizures in children. **Pediatrics in Review**, [S. l.], v. 41, n. 7, p. 321–347, 2020. DOI: 10.1542/PIR.2019-0134.

GARCIA-CURRAN, Megan M.; HALL, Alicia M.; PATTERSON, Katelin P.; SHAO, Manlin; ELTOM, Nihal; CHEN, Kevin; DUBÉ, Celine M.; BARAM, Tallie Z. Dexamethasone Attenuates Hyperexcitability Provoked by Experimental Febrile Status Epilepticus. **eNeuro**, [S. l.], v. 6, n. 6, 2019. DOI: 10.1523/ENEURO.0430-19.2019. Disponível em: /pmc/articles/PMC6860985/. Acesso em: 14 nov. 2022.

GEDDES, L. A.; BAKER, L. E.; 1989. Principles os Applied Biomedical Instrumentation. **Third Ed.** New York: Wiley-Interscience.

GESMUNDO I, VILLANOVA T, GARGANTINI E, ARVAT E, GHIGO E, GRANATA R. The Mineralocorticoid Agonist Fludrocortisone Promotes Survival and Proliferation of Adult Hippocampal Progenitors. **Front Endocrinol (Lausanne)**. 2016 Jun 16;7:66. doi: 10.3389/fendo.2016.00066. PMID: 27379018; PMCID: PMC4910464.

GOFSHTEYN JS, K KG, MARQUIS BO, J JL, GOURLEY D, GRINSPAN Z, NANGIA S. Measurable outcomes for pediatric epileptic encephalopathy: a single-center experience with corticosteroid therapy. **Epileptic Disord**. 2021 Feb 1;23(1):111-122. doi: 10.1684/epd.2021.1247. PMID: 33622664.

GRAY JD, KOGAN JF, MARROCCO J, MCEWEN BS. Genomic and epigenomic mechanisms of glucocorticoids in the brain. **Nat Rev Endocrinol**. 2017 Nov;13(11):661-673. doi: 10.1038/nrendo.2017.97. Epub 2017 Sep 1. PMID: 28862266.

GUZZO EFM, LIMA KR, VARGAS CR, COITINHO AS. Effect of dexamethasone on seizures and inflammatory profile induced by Kindling Seizure Model. **J Neuroimmunol**. 2018 Dec 15;325:92-98. doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.10.005. Epub 2018 Oct 7. PMID: 30316679.

GUZZO, EFM; ROSA, GL; BREMM, RP; MESKA, CP; VARGAS, CR; COITINHO, AS. Parameters of Oxidative Stress and Behavior in Animals Treated with Dexametasone and Submitted to Pentylene tetrazol Kindling. **Journal of Epilepsy Research**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. 113–119, 2021. DOI: 10.14581/JER.21017.

HALL, J. E., & JOHN E. (2017) Guyton & Hall Tratado de Fisiologia Médica GEN. (13a ed.). **Guanabara Koogan**.

HASHEMI P, EBRAHIMI L, SABOORY E, ROSHAN-MILANI S. Effect of Restraint Stress during Gestation on Pentylene tetrazol-Induced Epileptic Behaviors in Rat Offspring. **Iran J Basic Med Sci**. 2013 Sep;16(9):979-84. PMID: 24171076; PMCID: PMC3804846.

HÖLLER Y, TRINKA E. Is There a Relation between EEG-Slow Waves and Memory Dysfunction in Epilepsy? A Critical Appraisal. **Front Hum Neurosci**. 2015 Jun 11;9:341. doi: 10.3389/fnhum.2015.00341. PMID: 26124717; PMCID: PMC4463866.

ISSURIYA A, KUMARNSIT E, REAKKAMNUAN C, SAMERPHOB N, SATHIRAPANYA P, CHEAHA D. Dexamethasone induces alterations of slow wave oscillation, rapid eye movement sleep and high-voltage spindle in rats. **Acta Neurobiol Exp (Wars)**. 2019;79(3):251-260. PMID: 31587017.

JALILIFAR M, YADOLLAHPOUR A, MOAZEDI AA, GHOTBEDDIN Z. Low Frequency Electrical Stimulation Either Prior to Or after Rapid Kindling Stimulation Inhibits the Kindling-Induced Epileptogenesis. **Biomed Res Int**. 2017;2017:8623743. doi: 10.1155/2017/8623743. Epub 2017 Mar 8. PMID: 28373988; PMCID: PMC5360964.

KANDRATAVICIUS, L., ALVES BALISTA, P., LOPES-AGUIAR, C., RUGGIERO, R.N., UMEOKA, E.H., GARCIA-CAIRASCO, N., BUENO-JUNIOR, L.S., LEITE, J.P., 2014. Animal models of epilepsy: use and limitations. **Neuropsychiatric Dis. Treat**. <https://doi.org/10.2147/NDT.S50371>

KOULDELKOVÁ, Z.; STRMISKA, M. Introduction to the identification of brain waves based on their frequency. **EDP Sciences**. MATEC Web of Conferences. 2018.

LISMAN J, BUZSÁKI G, EICHENBAUM H, NADEL L, RANGANATH C, REDISH AD. Viewpoints: how the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. **Nat Neurosci**. 2017 Oct 26;20(11):1434-1447. doi: 10.1038/nn.4661. Erratum in: *Nat Neurosci*. 2017 Dec 20; PMID: 29073641; PMCID: PMC5943637.

LORIGADOS PL, et al. Inflammatory Mediators in Epilepsy, **Current Pharmaceutical Design** 2013; 19(38). <https://dx.doi.org/10.2174/1381612811319380009>

LÖSCHER W, FRIEDMAN A. Structural, Molecular, and Functional Alterations of the Blood-Brain Barrier during Epileptogenesis and Epilepsy: A Cause, Consequence, or Both? **International Journal of Molecular Sciences**. 2020; 21(2):591. <https://doi.org/10.3390/ijms21020591>

MAHMOUD, R., WAINWRIGHT, S.R., CHAITON, J.A., LIEBLICH, S.E., & GALEA, L.A. (2016). Ovarian hormones, but not fluoxetine, impart resilience within a chronic unpredictable stress model in middle-aged female rats. **Neuropharmacology**, 107, 278-293.

MÁTYÁS A, BORBÉLY E, MIHÁLY A. Hippocampal Sclerosis in Pilocarpine Epilepsy: Survival of Peptide-Containing Neurons and Learning and Memory Disturbances in the Adult NMRI Strain Mouse. **Int J Mol Sci**. 2021 Dec 24;23(1):204. doi: 10.3390/ijms23010204. PMID: 35008630; PMCID: PMC8745054.

MOHAMED HK, ELTONY SA. Effect of acute pentylentetrazol injection induced epileptic seizures on rat dentate gyrus at different postnatal ages. **Anat Cell Biol**. 2020 Mar;53(1):84-94. doi: 10.5115/acb.19.083. Epub 2020 Feb 3. PMID: 32274253; PMCID: PMC7118254.



MOLL A, LARA M, POMAR J, OROZCO M, FRONTERA G, LLOMPART-POU JA, MORATINOS L, GONZÁLEZ V, IBÁÑEZ J, PÉREZ-BÁRCENA J. Effects of dexamethasone in traumatic brain injury patients with pericontusional vasogenic edema: A prospective-observational DTI-MRI study. **Medicine (Baltimore)**. 2020 Oct 23;99(43):e22879. doi: 10.1097/MD.00000000000022879. PMID: 33120830; PMCID: PMC7581187.

MONTENEGRO, MA et al. EEG na prática clínica. **Thieme Revinter Publicações LTDA**, 2018.

MOUSAVI-HASANZADEH, Morteza; REZAEIAN-VARMAZIAR, Hesamodin; SHAFAT, Omid; JAND, Aboufazi; PALIZVAN, Mohammad Reza. The effect of co-administration of pentylentetrazole with pilocarpine: New modified PTZ models of kindling and seizure. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [S. l.], v. 182, p. 7–11, 2019. DOI: 10.1016/J.PBB.2019.04.010.

NASCIMENTO CP, FERREIRA LO, DA SILVA ALM, DA SILVA ABN, RODRIGUES JCM, TEIXEIRA LL, AZEVEDO JEC, DE ARAUJO DB, HAMOY AO, GONÇALVES BH, COELHO BHO, LOPES DCF, HAMOY M. A Combination of Curcuma longa and Diazepam Attenuates Seizures and Subsequent Hippocampal Neurodegeneration. **Front Cell Neurosci**. 2022 Jun 14;16:884813. doi: 10.3389/fncel.2022.884813. PMID: 35774084; PMCID: PMC9237424.

NELSON, D. L. & COX, MICHAEL M. (2018) Princípios de Bioquímica de Lehninger. (7a ed.), Artmed.

NEVES, GS de ML et al. Computação na apresentação e análise do EEG digital e quantitativo. **Rev. bras. neurol**, p. 41-46, 2004.

NIEDERMEYER'S Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields. **United Kingdom**: Oxford University Press; 2018.

PERÄKYLÄ J, SUN L, LEHTIMÄKI K, PELTOLA J, ÖHMAN J, MÖTTÖNEN T, OGAWA KH, HARTIKAINEN KM. Causal Evidence from Humans for the Role of Mediodorsal Nucleus of the Thalamus in Working Memory. **J Cogn Neurosci**. 2017 Dec;29(12):2090-2102. doi: 10.1162/jocn\_a\_01176. Epub 2017 Aug 4. PMID: 28777058.

POBLET, J. M.; 1988. Introducción a la Bioingeniería. Barcelona: Marcombo-Boixareu Editores.

PRANZATELLI, Michael R.; TATE, Elizabeth D. Dexamethasone, Intravenous Immunoglobulin, and Rituximab Combination Immunotherapy for Pediatric Opsoclonus-Myoclonus Syndrome. **Pediatric Neurology**, [S. l.], v. 73, p. 48–56, 2017. DOI: 10.1016/J.PEDIATRNEUROL.2017.04.027.

PRINZ, M.; PRILLER, J. The role of peripheral immune cells in the CNS in steady state and disease. **Nat. Neurosci**. 2017, 20, 136–144.

RAMOS AB, CRUZ RA, VILLEMARETTE-PITTMAN NR, OLEJNICZAK PW, MADER EC JR. Dexamethasone as Abortive Treatment for Refractory Seizures or Status Epilepticus in the Inpatient Setting. **J Investig Med High Impact Case Rep**. 2019 Jan-Dec;7:2324709619848816. doi: 10.1177/2324709619848816. PMID: 31104535; PMCID: PMC6537247.

ROOHI-AZIZI M, AZIMI L, HEYSIEATTALAB S, AAMIDFAR M. Changes of the brain's bioelectrical activity in cognition, consciousness, and some mental disorders. **Med J Islam Repub Iran**. 2017 Sep 3;31:53. doi: 10.14196/mjiri.31.53. PMID: 29445682; PMCID: PMC5804435.

RUGGERO ERRANTE, P; SANDRO MENEZES-RODRIGUES, F; GUSTAVO PADRÃO TAVARES, J; DO CARMO MAIA REIS, M; YUDI ICIMOTO, M; RIBEIRO NOGUEIRA FERRAZ, R; CARICATI-NETO, A; LINEU PRESTES, Av. Mecanismo de Ação e Resistência ao Uso de Glicocorticóides. **Revista de Pesquisa e Inovação Farmacêutica**, [S. l.], v. 6, n. 2, 2014. Disponível em: <https://seer.pgsskroton.com/RPInF/article/view/20>. Acesso em: 14 nov. 2022.

SAMOKHINA, E.; SAMOKHIN, Alexander. Neuropathological profile of the pentylenetetrazol (PTZ) kindling model. <https://doi.org/10.1080/00207454.2018.1481064>, [S. l.], v. 128, n. 11, p. 1086–1096, 2018.

SANTOS, A. C.; VIANA D. C.; BERTASSOLI, B. M.; VASCONCELOS, B. G.; OLIVEIRA, D. M.; RICI, R. E. G.; OLIVEIRA, M. F.; MIGLINO, M. A.; ASSIS-NETO, A. C. Adrenal glands of Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii*, Wagler, 1831): morphological and morphometric aspects. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 3, July/Sept. 2016.

SHIMADA, Tadayuki; YAMAGATA, Kanato. Pentylenetetrazole-Induced Kindling Mouse Model. **Journal of Visualized Experiments** : JoVE, [S. l.], v. 2018, n. 136, p. 56573, 2018. DOI: 10.3791/56573.

SILLS, Graeme J.; ROGAWSKI, Michael A. Mechanisms of action of currently used antiseizure drugs. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 168, p. 107966, 2020. DOI: 10.1016/J.NEUROPHARM.2020.107966.

SILVA, CO; CORRE, FB; MATOS, MS; BURLA, RS; ROCHA, TPO. Anatomofisiologia do estresse e o processo de adoecimento. **Revista Científica da FMC** - Vol. 13, Nº 2, dezembro de 2018. Disponível em: <https://www.fmc.br/ojs/index.php/RCFMC/article/view/198/180>. Acesso em: 29/04/2023.

SIUCINSKA, Ewa.  $\Gamma$ -Aminobutyric acid in adult brain: an update. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 376, p. 112224, 2019. DOI: 10.1016/J.BBR.2019.112224.

SVEBERG, Line; SVALHEIM, Sigrid; TAUBØLL, Erik. The impact of seizures on pregnancy and delivery. **Seizure**, [S. l.], v. 28, p. 29–32, 2015. DOI: 10.1016/j.seizure.2015.02.020.

TAVARES, MC; ENG, M.; BIOMÉDICA, Eng. Eeg e potenciais evocados—uma introdução. **Contronic Sistemas Automáticos Ltda**, p. 1-13, 2011.

TORRES, R.C.; INSUELA, D.B.R.; CARVALHO, V.F. Mecanismos celulares e moleculares da ação anti-inflamatória dos glicocorticoides. **Corpus et Scientia**. RJ, v. 8, n. 2, p. 36-51. 2012.

VANDEWALLE, Jolien; LUYPAERT, Astrid; DE BOSSCHER, Karolien; LIBERT, Claude. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 42–54, 2018. DOI: 10.1016/j.tem.2017.10.010.

VEZZANI, Annamaria; BALOSSO, Silvia; RAVIZZA, Teresa. Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. **Nature Reviews Neurology** 2019 15:8, [S. l.], v. 15, n. 8, p. 459–472, 2019. DOI: 10.1038/s41582-019-0217-x.

VIANA, Fernando Antônio Bretas. GUIA TERAPÊUTICO VETERINÁRIO – 3ª ed – Lagoa Santa: Gráfica e Editora CEM, 2014.

VIEIRA V, GLASSMANN D, MARAFON P, PEREIRA P, GOMEZ R, COITINHO AS. Effect of diclofenac sodium on seizures and inflammatory profile induced by kindling seizure model. **Epilepsy Res**. 2016 Nov;127:107-113. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2016.08.020. Epub 2016 Aug 23. PMID: 27589413.

VITALITI G, PAVONE P, MAHMOOD F, NUNNARI G, FALSAPERLA R. Targeting inflammation as a therapeutic strategy for drug-resistant epilepsies: an update of new immune-modulating approaches. **Hum Vaccin Immunother**. 2014;10(4):868-75. doi: 10.4161/hv.28400. Epub 2014 Mar 7. PMID: 24609096; PMCID: PMC4896581

VIZUETE, Adriana Fernanda K.; HANSEN, Fernanda; NEGRI, Elisa; LEITE, Marina Concli; DE OLIVEIRA, Diogo Losch; GONÇALVES, Carlos Alberto. Effects of dexamethasone on the Li-pilocarpine model of epilepsy: protection against hippocampal inflammation and astrogliosis. **Journal of Neuroinflammation**, [S. l.], v. 15, n. 1, 2018. DOI: 10.1186/S12974-018-1109-5. Disponível em: /pmc/articles/PMC5839012/. Acesso em: 14 nov. 2022.

WANG L, SHI H, KANG Y, GUOFENG W. Hippocampal low-frequency stimulation improves cognitive function in pharmacoresistant epileptic rats. **Epilepsy Res**. 2020 Dec;168:106194. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2019.106194. Epub 2019 Sep 11. PMID: 31521425.

XIAOQING Z, XIAOLIN Y, BING C, KAIFENG S, GUOLONG L, ZHONGKE W, KAIXUAN H, GANG Z, TINGTING W, SHENGQING L, CHUNQING Z, HUI Y, ZHI H & SHIYONG L (2022) Glucocorticoid receptors participate in epilepsy in FCDII patients and MP model rats: A potential therapeutic target for epilepsy in patients with focal cortical dysplasia II (FCDII), **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, 26:2, 171-186, DOI: 10.1080/14728222.2022.2032650

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

YANG N, LI YC, XIONG TQ, CHEN LM, ZHAI Y, LIANG JM, HAO YP, MA DH, ZHANG YF. Dexamethasone ameliorates the damage of hippocampal filamentous actin cytoskeleton but is not sufficient to cease epileptogenesis in pilocarpine induced epileptic mice. **Epilepsy Res.** 2019 Aug;154:26-33. doi: 10.1016/j.eplesyres.2019.04.009. Epub 2019 Apr 18. PMID: 31022637.

YANG, N; ZHANG, Y; WANG, JT; CHEN, C; SONG, Y; LIANG, JM; MA, DH; ZHANG, YF. Effects of dexamethasone on remodeling of the hippocampal synaptic filamentous actin cytoskeleton in a model of pilocarpine-induced status epilepticus. **International Journal of Medical Sciences**, [S. l.], v. 17, n. 12, p. 1683–1691, 2020. DOI: 10.7150/IJMS.44927.

YAVAS E, GONZALEZ S, FANSELOW MS. Interactions between the hippocampus, prefrontal cortex, and amygdala support complex learning and memory. *F1000Res.* 2019 Jul 31;8:F1000 **Faculty Rev**-1292. doi: 10.12688/f1000research.19317.1. PMID: 31448084; PMCID: PMC6676505.

YILMAZ T, AKÇA M, TURAN Y, OCAK H, KAMAŞAK K, YILDIRIM M. Efficacy of dexamethasone on penicillin-induced epileptiform activity in rats: an electrophysiological study. **Brain Res.** 2014 Mar 20;1554:67-72. doi: 10.1016/j.brainres.2014.01.040. Epub 2014 Feb 1. PMID: 24495842.

## ANEXO A – Parecer do CEUA



**UFPA**  
Universidade Federal do Pará

**Comissão de Ética no  
Uso de Animais**

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITO DOS GLICOCORTICOIDES NA ACOMODAÇÃO DAS FAIXAS DE OSCILAÇÃO CEREBRAL APÓS CONVULSÃO DEFLAGRADA POR PENTILENOTETRAZOL", protocolada sob o CEUA nº 3133251121 (ID 001824), sob a responsabilidade de **Moisés Hamoy** - 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 do Pará (CEUA/UFPA) na reunião de 16/12/2021.

We certify that the proposal "EFFECT OF GLYCOCORTICOIDES ON THE ACCOMMODATION OF BRAIN OSCILLATION STRIPS AFTER SEIZURE DEFLAGRATED BY PENTILENETETRAZOLE", utilizing 27 Heterogenics rats (27 males), protocol number CEUA 3133251121 (ID 001824), under the responsibility of **Moisés Hamoy** - 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 Para (CEUA/UFPA) in the meeting of 12/16/2021.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **12/2021** a **11/2022**

Área: **Instituto de Ciências Biológicas**

Origem: **Biotério Central ICB/UFPA**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **90 a 110 dias**

N: **27**

Linhagem: **Wistar**

Peso: **200 a 220 g**

Local do experimento: **Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais/ICB? UFPA**

Belém, 23 de setembro de 2022

Prof. Dra. Barbarella de Matos Macchi  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Pará

Prof. Dra. Maria Vivina Barros Monteiro  
Vice-Coodenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Pará

## ANEXO B – Submissão do Artigo

30/05/2023, 12:24

Gmail - Confirm co-authorship of submission to Epilepsy Research



rafaela marques &lt;rafaelamarques5989@gmail.com&gt;

### Confirm co-authorship of submission to Epilepsy Research

1 mensagem

Epilepsy Research &lt;em@editorialmanager.com&gt;

12 de maio de 2023 às 14:52

Responder a: Epilepsy Research &lt;support@elsevier.com&gt;

Para: Rafaella Marques Ribeiro &lt;rafaelamarques5989@gmail.com&gt;

\*This is an automated message.\*

Journal: Epilepsy Research

Title: Dexamethasone ameliorates epileptiform discharges in EEG with no impact in cognitive behavior or hippocampal cell death after administration of pentylentetrazole

Corresponding Author: Dr Moisés Hamoy

Co-Authors: Rafaella Marques Ribeiro; Esther Padilha da Silveira; Vitoria Corrêa Santos; Leonan Lima Teixeira; Gisely Santiago Santos; Izabela Nascimento Galvão; Maria Klara Otake Hamoy; Allan Carlos da Silva Tiago; Danella Bastos de Araújo; Nilton Muto; Dielly Catrina Favacho Lopes, Ph.D.

Manuscript Number: EPIRES-D-23-00192

Dear Rafaella Marques Ribeiro,

The corresponding author Dr Moisés Hamoy has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for Epilepsy Research.

Submission Title: Dexamethasone ameliorates epileptiform discharges in EEG with no impact in cognitive behavior or hippocampal cell death after administration of pentylentetrazole

Elsevier asks all authors to verify their co-authorship by confirming agreement to publish this article if it is accepted for publication.

Please read the following statement and confirm your agreement by clicking on this link: [Yes, I am affiliated.](#)

I irrevocably authorize and grant my full consent to the corresponding author of the manuscript to: (1) enter into an exclusive publishing agreement with Elsevier on my behalf (or, if the article is to be published under a CC BY license, a non-exclusive publishing agreement), in the relevant form set out at [www.elsevier.com/copyright](http://www.elsevier.com/copyright); and (2) unless I am a US government employee, to transfer my copyright or grant an exclusive license of rights (or for CC BY articles a non-exclusive license of rights) to Elsevier as part of that publishing agreement, effective on acceptance of the article for publication. If the article is a work made for hire, I am authorized to confirm this on behalf of my employer. I agree that the copyright status selected by the corresponding author for the article if it is accepted for publication shall apply and that this agreement is subject to the governing law of the country in which the journal owner is located.

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at [hamoy@ufpa.br](mailto:hamoy@ufpa.br).

Thank you,  
Epilepsy Research

More information and support

FAQ: What is copyright co-author verification?

[https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/28460/supporthub/publishing/](https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28460/supporthub/publishing/)

You will find information relevant for you as an author on Elsevier's Author Hub: <https://www.elsevier.com/authors>

FAQ: How can I reset a forgotten password?

[https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a\\_id/28452/supporthub/publishing/kw/editorial+manager/](https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/kw/editorial+manager/)

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

*In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Remove my information/details). Please contact the publication office if you have any questions.*