



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS-UFAL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE-ICBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE-PPCS**

DELMA HOLANDA DE ALMEIDA

**EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL EM PACIENTES COM EPILEPSIA DO
LOBO TEMPORAL: REVISÃO SISTEMÁTICA ACOPLADA A ANÁLISE DE
BIOINFORMÁTICA**

**MACEIÓ- AL
2023**

DELMA HOLANDA DE ALMEIDA

**EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL EM PACIENTES COM EPILEPSIA DO
LOBO TEMPORAL: REVISÃO SISTEMÁTICA ACOPLADA A ANÁLISE DE
BIOINFORMÁTICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Doutora.

Orientador: Dr. Daniel Leite Góes
Gitaí

**MACEIÓ- AL
2023**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

A447c Almeida, Delma Holanda de.

Expressão gênica diferencial em pacientes com epilepsia do lobo temporal: revisão sistemática acoplada a análise de bioinformática / Delma Holanda de Almeida. – 2023.

50 f. : il. color.

Orientador: Daniel Leite Goês Gitai.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 34-47.

Apêndices: f. 49-50.

1. Epilepsia do lobo temporal. 2. Esclerose hipocampal. 3. Expressão gênica. 4. Epileptogênese. I. Título.

CDU: 577.2 : 616.853

Dedicatória

Aos meus pais (in memoriam), Dimas de Almeida Lima e Marili de Holanda,
minha inspiração diária.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por ter me concedido a sabedoria, paciência e perseverança necessárias para concluir mais esta etapa na minha vida. Agradeço pela Sua graça e amor incondicional, que me fortaleceram nos momentos difíceis e me guiaram ao longo deste processo; gostaria de expressar minha gratidão ao programa de pós-graduação em Ciências da Saúde, pelo apoio e oportunidades que me foram concedidos durante a realização desta tese;

Agradeço especialmente aos professores do programa de pós-graduação em Ciências da Saúde que me guiaram e incentivaram ao longo deste processo, compartilhando seus conhecimentos e experiências e contribuindo significativamente para o meu desenvolvimento acadêmico;

Gostaria de expressar minha gratidão à universidade Federal de Alagoas pela oportunidade de realizar a minha tão sonhada qualificação, doutorado. A universidade forneceu o ambiente de aprendizagem ideal e os recursos necessários para que eu pudesse me concentrar na realização deste trabalho;

Aos meus alunos da Universidade Estadual de Alagoas pela inspiração e força para finalizar esta etapa tão importante da minha vida;

Ao meu orientador, Daniel Leite Goes Gitaí, por ter me oportunizado e conduzido um doutorado de forma tão leve, pelos ensinamentos preciosos que dão um combustível e faz aumentar o amor pela ciência;

A Myka, pela “co-orientação” deste trabalho com tanto carinho e meiguice que a faz uma pessoa única;

Aos meus amigos, parceiros do laboratório, que sempre se fizeram presentes nos momentos difíceis, tornando os momentos leves; aos meus amigos, montessorianos com mais de 20 anos de amizade: Layse Amorim, minha irmã de outras vidas, minha confidente e meu porto seguro; Airton Omena, o amigo trapalhão que já me socorreu de alguns apuros; Samira Ogasawara, a japa mais sincera e a única do grupo com pensamento veloz, Renata Nobre a que transmite paz e calma;

Aos meus amigos, Hermes Fonseca, que mesmo distante, continuamos em sintonia, Alfredo Junior, o amigo sempre presente que me socorre dos problemas do trabalho e de saúde; Poliana, valeria Sotero pela companhia e conversas no trabalho;

Ao meu companheiro, Eduardo Jorge Vasconcelos de Lima, meu “porto seguro”, pela compreensão e ausência durante a realização do doutorado;

Aos meus sogros, dona Selma e seu Marcus, por todo apoio e segurança; a tia Tea, pelas palavras e orientação em momentos de dificuldade que sempre me deram a força necessária para seguir em frente.

“O conhecimento é uma viagem sem fim.”

Provérbio chinês.

Resumo

Introdução: A epilepsia do Lobo Temporal associada à Esclerose Hipocampal I (ELT-EH) é o tipo mais comum entre as epilepsias parciais em indivíduos adultos. Caracterizada por um processo patológico complexo, que envolve perdas neuronais, reorganização das sinapses, inflamação e molecularmente pela reorganização global da expressão gênica, além de uma refratariedade de 30% dos pacientes às drogas antiepilépticas (DAE's) existentes. Muitos estudos de expressão gênica tanto em modelos animais, como em humanos, procuram investigar as alterações moleculares subjacentes ao processo epileptogênico, porém devido a heterogeneidade dos estudos se fez necessário a realização de uma revisão sistemática criteriosa com o **objetivo** de identificar os genes consistentes que participam do processo epileptogênico em humanos com ELT-EH. **Metodologia:** Trata-se de uma revisão sistemática registrada no PROSPERO sob o número ID: CRD42020180745, de acordo com o protocolo descrito pelo prisma 2020. Realizamos a busca no dia 30 de janeiro de 2021, utilizando-se os bancos de dados PubMed, LILACS, EMBASE e SIGLE, open gray, com as palavras-chave: "Gene Expression" AND "Epilepsy"; "Gene Expression" AND "Seizure"; "Protein Expression" AND "Seizure" AND "Human"; "Protein Expression" AND "Epilepsy" AND "Human". Os resultados analisados tiveram um foco no dado de expressão gênica, bem como tecido, moléculas e técnicas avaliadas. Além disso, para os genes diferencialmente expressos e consistentes em mais de um estudo, procedemos com análises de bioinformática, tais como avaliação das categorias funcionais do Gene Ontology (GO) e busca por reguladores da expressão gênica, tais como, microRNAs (miRs) validados experimentalmente e análise de fatores transcricionais. Para diminuir os vieses, todas as etapas foram executadas por três pesquisadores de forma independente e para elegibilidade dos estudos foram aplicados critérios de inclusão e exclusão. **Resultados:** 202 estudos preencheram os critérios de elegibilidade com um total de 448 genes que estudaram em ELT-EH. 95 genes foram estudados, pelo menos, duas vezes, desses, 47 apresentaram dados consistentes. 34 genes foram superexpressos nos tecidos cerebrais, 7 genes subexpressos e 6 genes não apresentaram diferença estatística significativa. Os 41 genes foram submetidos a análise funcional no GO para obtenção das vias na função molecular, componente celular e processo biológico. Para análise das vias ativadoras obtivemos sete genes com potencial de regulação transcricional. Quanto à análise de miRs, para os 34 genes superexpressos em tecido epilético encontramos 105 miRs validados no total para os 7 genes com expressão reduzida. Além disso, encontramos mais de três miRs validados dos genes superexpressos: BCL2, DNMT1, TLR4, BDNF, NFKB1, VEGFA, CASP3, TNF, COX2 e dos genes regulados negativamente GSK3B E HCN2. **Conclusão:** nosso trabalho fornece um compilado de informações robustas de expressão gênica associada à ELT farmacorresistente, bem como de seus reguladores. Além disso, subsidia dados preciosos para estudos futuros de descoberta e validação

de novos alvos terapêuticos baseados na manipulação da expressão gênica em mTLE.

Palavras- chave: epileptogênese, esclerose hipocampal, expressão gênica, farmacorresistência.

Abstract

Introduction: Temporal Lobe Epilepsy associated with Hippocampal Sclerosis I (TLE-EH) is the most common type of partial epilepsy in adults. Characterized by a complex pathological process, which involves neuronal losses, reorganization of synapses, inflammation and molecularly by the global reorganization of gene expression, in addition to a refractoriness of 30% of patients to existing antiepileptic drugs (AEDs). Many gene expression studies, both in animal models and in humans, seek to investigate the molecular alterations underlying the epileptogenic process, but due to the heterogeneity of the studies, it was necessary to carry out a careful systematic review with the objective of identifying the consistent genes that participate of the epileptogenic process in humans with ELT-EH. **Methodology:** This is a systematic review registered in PROSPERO under the ID number: CRD42020180745, according to the protocol described by prism 2020. We carried out the search on January 30, 2021, using the PubMed and LILACS databases. EMBASE and SIGLE, open gray, with the keywords: "Gene Expression" AND "Epilepsy"; "Gene Expression" AND "Seizure"; "Protein Expression" AND "Seizure" AND "Human"; "Protein Expression" AND "Epilepsy" AND "Human". The results extracted and analyzed had a focus on gene expression data, as well as tissue, molecules, and techniques evaluated. In addition, for genes that are differentially expressed and consistent in more than one study, we proceed with bioinformatics analyses, such as assessing the functional categories of the Gene Ontology (GO) and searching for regulators of gene expression, such as validated microRNAs (miRs) experimentally and analysis of transcriptional factors. To reduce biases, three researchers independently performed all steps and inclusion and exclusion criteria were applied for study eligibility. **Results:** 202 studies met the eligibility criteria, with 448 genes studied in ELT-EH. 95 genes at least twice, of which 47 showed consistent data. Thirty-four genes were up-regulated in the brain, seven down regulated and six genes showed no statistically significant difference. The 41 genes were submitted to functional analysis in GO to obtain pathways in molecular function, cellular components and biological processes. To analyze activating ways; we got seven genes with the potential for transcriptional regulation. As for the analysis of miRs, for the 34 genes up-regulated in epileptic tissue, we found 105 validated miRs in total for the seven genes with reduced expression. Furthermore, we found more than three validated miRs from the overexpressed genes: BCL2, DNMT1, TLR4, BDNF, NFKB1, VEGFA, CASP3, TNF, COX2 and from the negatively regulated genes GSK3B AND HCN2. **Conclusion:** In this sense, our work provides a compilation of vital information on gene expression associated with drug-resistant ELT and its regulators. In addition, it subsidizes precious data for future studies of discovering and validating new therapeutic targets based on manipulating gene expression in mTLE.

Keywords: epileptogenesis, hippocampal sclerosis, gene expression, pharmacoresistance.

Lista de ilustrações

Figura 1-	Fluxograma de identificação do estudo.	17
Figura 2-	Heatmap com genes investigados em estudos independentes.	19
Figura 3-	Heatmap com genes consistentes.	20
Figura 4-	Resultados da Gene Ontology (GO)	23
Figura 5-	Análise de enriquecimento no TRRUST.	24

Lista de tabelas

Tabela 1- miRNA validados dos genes superexpressos e sub- 25
expressos

Lista de abreviaturas e siglas

DAE's	Drogas antiepilépticas
DGCs	Celulas do giro denteado
ELT-EH	Epilepsia do lobo temporal associada a esclerose hipocampal
ELT	Epilepsia do Lobo Temporal
GCD	Dispersão de células granulares
GO	gene Ontology
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
MDR	Multirresistência
miRs	microRNAs
RE	Epilepsia Refreatória
RT-qPCR	Quantitative Reverse Transcription
SRCs	Convulsões Recorrentes Espontâneas
SIGLE	System for Information on Grey Literature in Europe

Sumário

1	Introdução.....	12
2	Materiais e Métodos.....	15
2.1	Estratégia de Busca para a Revisão sistemática.....	15
2.2	Critérios de Seleção.....	15
2.3	Extração de Dados.....	16
2.4	Análise e Enriquecimento de Funções.....	16
2.5	Análise de microRNAs e Fatores de Transcrição.....	16
3	Resultados.....	17
3.1	Visão Geral.....	17
3.2	Nível de Expressão de Genes Codificantes na Epilepsia do Lobo Temporal com Esclerose Hipocampal.....	18
3.3	Expressão Gênica dos Genes Consistentes por Tecido.....	20
3.4	Expressão Gênica dos Genes Consistentes por Moléculas.....	21
3.5	Identificação dos Genes Expressos Diferencialmente Consistentes.....	22
3.5.1	Análise de enriquecimento na Expressão Gênica Diferencial.....	22
3.6	Fatores de Transcrição e Análises de microRNAs.....	24
4	Discussão.....	26
4.1	Processo Epileptogênicos Diferencialmente Expressos no Hipocampo e Córtex de Pacientes com ELT-HS.....	27
5	Conclusão.....	33
	Referências.....	34
	Apêndices.....	58
	Apêndice A- Artigo 2018: Lack of association between COMT Val158met polymorphism and Juvenile Myoclonic Epilepsy	49
	Apêndice B- Artigo 2021: Clinical and genetic aspects of CADASIL syndrome: A systematic review.	50

1 Introdução

Epilepsia é um distúrbio neurológico caracterizado pela predisposição duradoura do cérebro a gerar crises, que geralmente, têm início nas áreas do hipocampo ou córtex cerebral. (BLUMCKE *et al.*, 2017) resultantes de atividades neuronais excessivas ou síncronas do cérebro, como descargas elétricas não provocadas.(PIRTTILÄ *et al.*, 2005).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a epilepsia é uma das doenças neurológicas mais comuns, afetando em torno de 68 milhões de pessoas no mundo, com uma proporção de 4 a 10 casos para cada 1000 habitantes em países desenvolvidos, e, em países em desenvolvimento, essa proporção pode dobrar, a sugerir que a doença tenha direta relação com fatores sociais. (NGUGI *et al.*, 2010).

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é a mais frequente em indivíduos adultos e compreende 50% de todas as epilepsias parciais, as quais surgem da parte mesial da região temporal, que inclui a amígdala e o hipocampo. (KIRMANI, 01/2012). A característica histopatológica mais comum em pacientes com ELT é a esclerose mesial temporal, caracterizada por perda segmentar de neurônios piramidais nos subcampos de cornu ammonis (CA) CA1, 3 e 4. Dessa forma, grande parte dos pacientes com esclerose hipocampal, tem anormalidades afetando as células do giro denteado (DGCs), incluindo dispersão de células granulares (GCD) e brotamento de fibras musgosas. De acordo com essas alterações, a esclerose hipocampal pode ser classificada em quatro tipos (WIESER,; BLÜMCKE *et al.*, 2009; BLUMCKE *et al.*, 2017).

Quanto a etiologia da esclerose mesial temporal, ela é incerta e controversa. O mecanismo mais comum, implicado nessa patologia, envolve a liberação em excesso do glutamato. O outro mecanismo envolvido, é a morte neuronal induzida por convulsão e déficits do metabolismo energético, sugerindo o envolvimento por expressão gênica e vias sinalizadoras (KIRMANI, 01/2012; EMRAH *et al.*, 01/2011).

Cerca de um terço dos pacientes com ELT e com esclerose hipocampal tem um fenótipo de multirresistência (MDR) as drogas antiepilépticas e desenvolve epilepsia refratária (RE). Esta refratariedade é atribuída a fatores multifatoriais e tem levado a várias hipóteses como a) “transporter hypothesis,” que resulta da superexpressão de proteínas envolvidas no efluxo de drogas através da barreira hemato encefálica como a superfamília ABC, (PEROSA *et al.*, 2002; DOMBROSKI *et al.*, 2020), b) “target hypothesis”, os mecanismos básicos para o farmacorresistentes estão envolvidas na mudança da sensibilidade nos alvos das drogas, c) “neuronal network hypothesis”, o excesso de neurotransmissores, principalmente, o glutamato pode ser responsável pela MDR, d) “intrinsic severity hypothesis que sugere que fatores neurobiológicos podem ser responsáveis por convulsões graves e as mesmas causar a MDR, e) “genetic variant hypothesis”, que as variações nos genes que são responsáveis pelo metabolismo das drogas alteram a farmacocinética e a farmacodinâmica dos alvos da drogas e predispondo o indivíduo a desenvolver multirresistência (BRUXEL *et al.*, 2022; FANG *et al.*, 2011; ROGAWSKI; JOHNSON,).

Além da multirresistência e da esclerose hipocampal, em um terço dos pacientes com ELT, o hipocampo é o local primário para a epileptogênese que envolve o período de transição do cérebro “normal” para o cérebro com crises epiléticas recorrentes e espontâneas, o qual envolve três períodos: a) agudo b) latente e c) crônico. As alterações fisiopatológicas ocorrem na zona lesionada na fase aguda, que é seguida pelas alterações celulares, alterações moleculares na fase latente e o aparecimento de crises recorrentes espontâneas (CRE's) na fase crônica (EMRAH *et al.*, 01/2011).

Dentre as alterações no processo epileptogênico, a reorganização global da expressão gênica está bem estabelecida (WANG *et al.*, 2010). Segundo Butler-Ryan, (2019), um insulto, como uma convulsão inicial, pode alterar os padrões de expressão gênica e a função celular, o que leva a hiperexcitabilidade neuronal e à epileptogênese, tornando o indivíduo mais suscetível a novas convulsões. Múltiplos genes de sinalização de glutamato, e genes que codificam o receptor AMPA podem ter influências mais fortes no processo epileptogênico. (KIRMANI, 01/2012).

O perfil de expressão gênica durante a epileptogênese permite uma maior compreensão dos amplos mecanismos subjacentes ao processo, o qual tem demonstrado mudanças genômicas específicas em todo o ambiente molecular, abrindo caminhos para mais pesquisas sobre possíveis vias causais e funções através de anotações de ontologias gênicas de componentes celulares, processos biológicos e funções moleculares (WANG *et al.*, 2010).

Embora, muitos estudos tenham descoberto a importância do processo transcricional na epileptogênese, é importante ressaltar que o processo pós transcricional, também, tem contribuído de forma significativa para elucidação do processo epileptogênico como a ação de pequenos RNAs não codificantes, os microRNAs (DIXIT *et al.*, 2017; PARRAS *et al.*, 2020). Araujo e colaboradores em um estudo com modelos animais identificaram 73 miRNAs que tiveram sua expressão alterada durante o processo epileptogênico (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Estudos com modelos animais para epilepsia têm sido úteis para a compreensão de processos básicos epileptogênicos no painel transcricional, pós transcricional e epigenético. Porém, as heterogeneidades no desenho experimental, modelo, tempo de amostragem e tamanho da amostra tem gerado muitos resultados inconsistentes e caracterizar os perfis de expressão gênica e identificar os principais genes reguladores são cruciais para elucidar os mecanismos de epileptogênese na ELT (WANG *et al.*, 2010; LEE *et al.*, 2007)

Neste contexto, a realização de estudos com tecidos humanos obtidos de hipocampos de pacientes submetidos a processo cirúrgico para remissão das crises a fim de obter genes com expressão diferencial têm sido importantes para a obtenção de biomarcadores preditivos do processo epileptogênico, assim como, a identificação de novos alvos terapêuticos. Todavia, devido a inconsistências destes resultados o objetivo desta revisão foi analisar os estudos com expressão gênica diferencial, com epilepsia do lobo temporal e esclerose hipocampal em humanos, a fim de obter um painel de genes diferencialmente expressos para subsidiar estudos, com o escopo de identificar novos mecanismos moleculares subjacentes à ELT associada à esclerose hipocampal.

2 Materiais e Métodos

O estudo foi uma revisão sistemática, registrado no PROSPERO sob o número de ID: CRD42020180745 e seguiu o protocolo descrito pelo prisma 2020 com todas as etapas realizadas por três pesquisadores de forma independente. Disponível em:

https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42020180745

2.1 Estratégia de Busca para a Revisão Sistemática

Para identificar genes diferencialmente expressos em estudos com epilepsia do lobo temporal e esclerose hipocampal. As bases de dados selecionadas foram: PubMed, LILACS, EMBASE e SIGLE, open grey. As buscas foram realizadas no dia 30 de janeiro de 2021, no mesmo dia em todas as plataformas, utilizando as seguintes palavras-chave: 1) “Gene Expression” AND “Epilepsy”; 2) “Expressão gênica” AND “Apreensão”; 3) “Expressão de Proteína” AND “Apreensão” AND “Humano”; 4) “Expressão de proteínas” AND “Epilepsia” AND “Humano”. Após as buscas, todos os estudos foram exportados para a plataforma Rayyan.

2.2 Critérios de Seleção

Foram incluídos estudos com expressão gênica diferencial em humanos com epilepsia do lobo temporal e esclerose hipocampal. Para isso, os estudos deveriam ser originais, com dados de expressão gênica diferencial e validados por técnicas individuais. Para isso, os artigos foram filtrados em sete etapas: I) Foram excluídos estudos duplicados; II) estudos com outro tipo de epilepsia que não epilepsia do lobo temporal; III) estudos não relevantes (com base nos critérios de elegibilidade), como revisões, simpósios, relatos de casos e em idioma diferente do inglês; IV) estudos com modelos animais; V) estudos com outra metodologia sem análise de expressão gênica; VI) exclusão de estudos com expressão gênica não validados por métodos individuais como RT-qPCR, Western Blot, Northern Blot, hibridização in situ, imuno-histoquímica e Elisa; e VII) foram excluídos estudos com epilepsia do lobo temporal que não apresentavam esclerose hipocampal.

2.3 Extração de Dados

Três pesquisadores independentes (Delma Holanda de Almeida, Pedro Augusto Tibúrcio Paulino e Maria Letícia Pereira Aquino) participaram das buscas dos estudos e todos os critérios foram aplicados e cruzados para garantir a consistência. Títulos, resumos e estudos completos foram selecionados sequencialmente para serem aplicados os critérios de elegibilidade e quaisquer discordâncias foram resolvidas por um quarto pesquisador. Os dados extraídos continham informações sobre: I) idade de início da epilepsia; II) idade média de epilepsia; III) tipos de crises epiléticas; IV) frequência de crises epiléticas antes e após a cirurgia; V) drogas antiepiléticas utilizadas; VI) número de indivíduos recrutados (epilepsia do lobo temporal e esclerose hipocampal); VII) número de indivíduos no estudo (controles) e o tipo de controle; VIII) tipo de tecido e sub-região analisada; IX) metodologia de análise da expressão gênica; X) gene analisado; e XI) gene de referência. Os genes foram considerados significativamente expressos diferencialmente de acordo com os critérios de corte e valor de p estabelecidos pelos autores de cada estudo.

2.4 Análise e Enriquecimento de Funções

A análise de enriquecimento de vias e processos foi realizada com as seguintes fontes de ontologia: GO Processo biológico, função molecular e componente celular e TRRUST para fatores transcricionais. Todos os genes consistentes foram usados como um fundo de enriquecimento.

2.5 Análise de microRNAs e Fatores de Transcrição

Procuramos microRNAs reguladores de genes consistentemente expressos diferencialmente. Para isso, utilizando a plataforma miRTarbase (<https://mirtarbase.cuhk.edu.cn>), utilizamos a “pesquisa avançada” por genes-alvo e selecionamos dados de “validação forte”, que incluem microRNAs validados experimentalmente por técnicas de RT-qPCR e ensaio repórter e western blotting. O enriquecimento da lista de genes é identificado nas seguintes categorias de ontologia: Cell Type Signatures, DisGeNET, PanGenBase, TRRUST e transcription Factor Targets. Todos os genes do genoma foram usados como um fundo de enriquecimento. Termos com um valor $p < 0,01$.

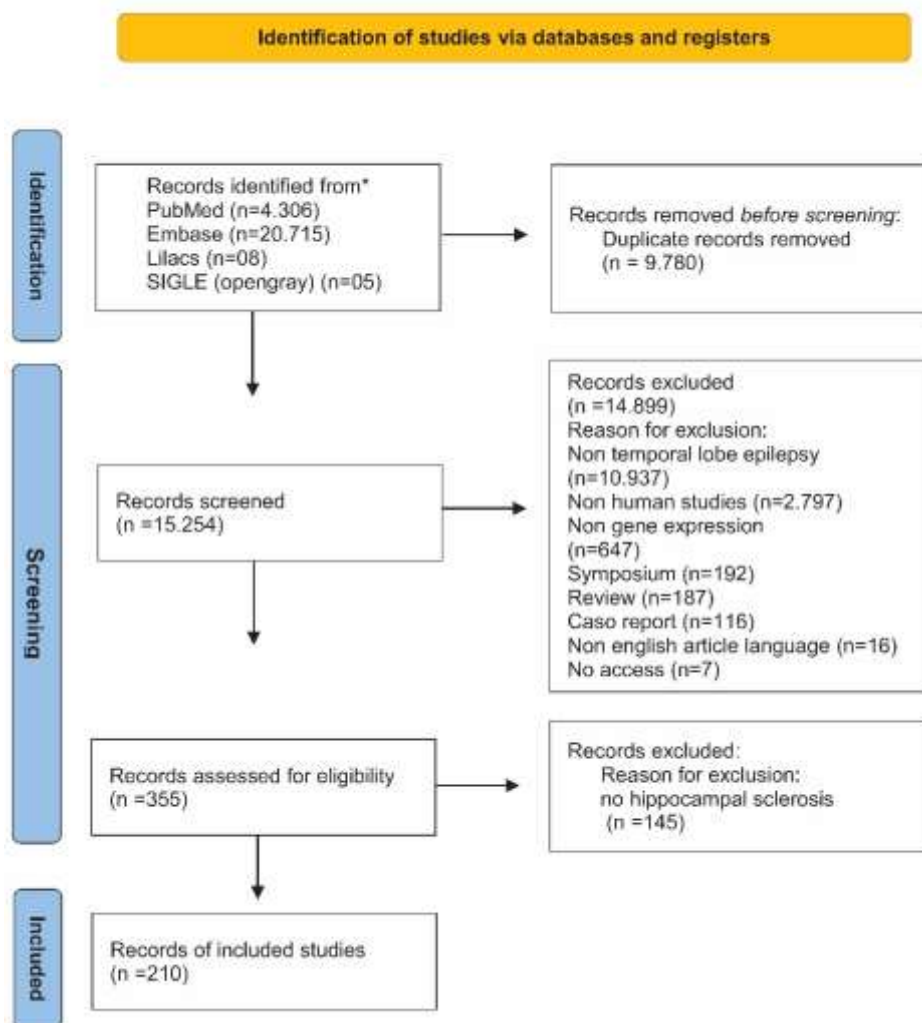
OBS: Todos os dados gerados ou analisados durante este estudo estão incluídos como arquivos de Informações Suplementares.

3 Resultados

3.1. Visão Geral

Um total de 25.034 registros foram retornados dos parâmetros escolhidos. A partir daqui, 9780 foram removidos como estudos duplicados. Quinze mil duzentos e cinquenta e quatro foram analisados pelos critérios de exclusão restantes 355 estudos. Destes trabalhos elegíveis, 145 foram excluídos porque não estavam envolvidos na marca registrada da esclerose hipocampal. Assim, foram incluídos 202 registros nesta pesquisa, fornecendo dados de 448 análises de expressão gênica em pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal com Esclerose Hipocampal (ELT-HS) farmacorresistentes submetidos à cirurgia de ressecção (figura 1).

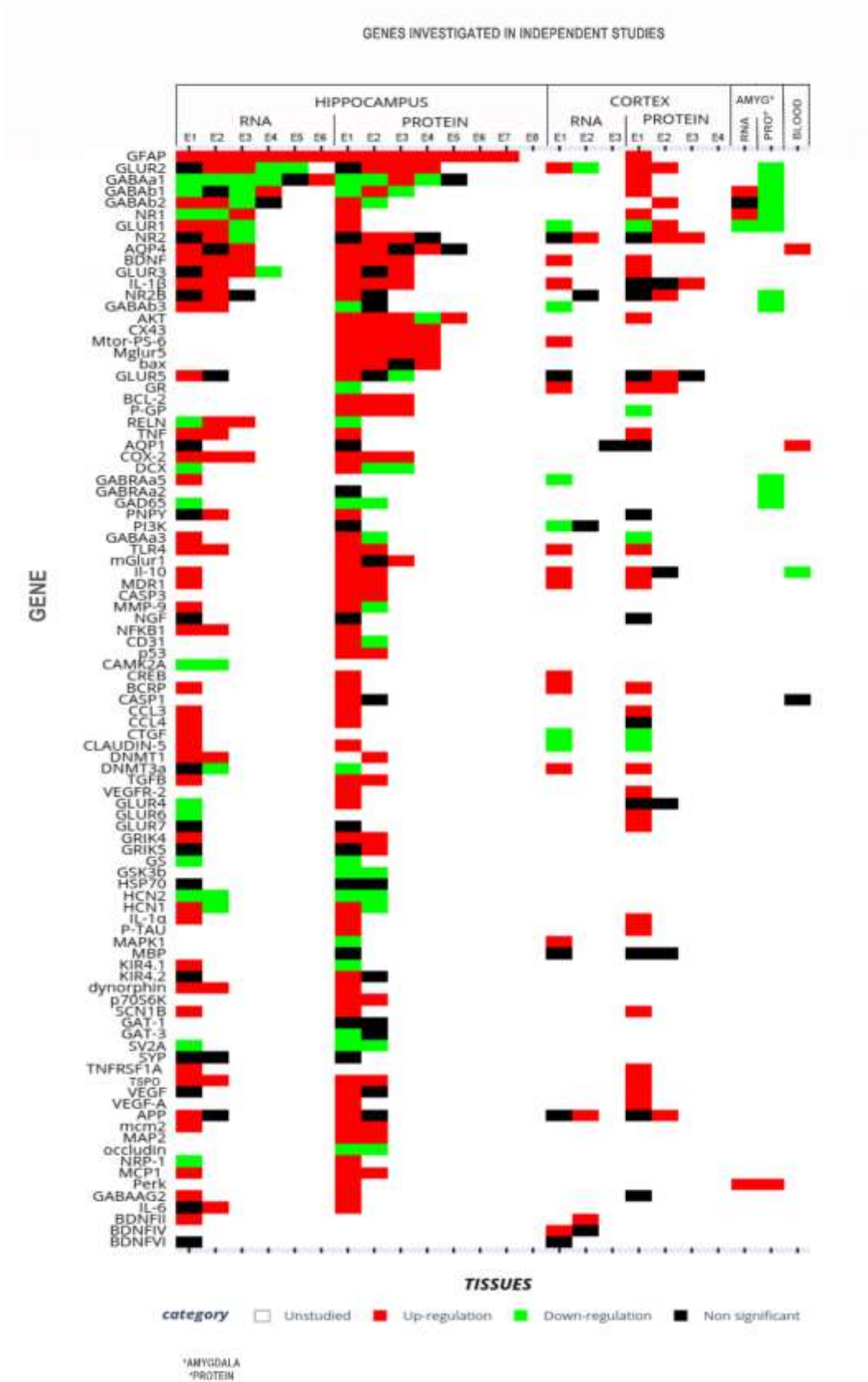
Figura 1 – Fluxograma de identificação do estudo. De: Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, *et al.* A declaração PRISMA 2020: uma diretriz atualizada para relatar revisões sistemáticas. BMJ 2021;372:n71. doi: 10.1136/bmj.n71. Para obter mais informações, visite <https://www.prisma-statement.org/> * Número de registros identificados em cada banco de dados ou registro pesquisado.



3.2 Nível de Expressão de Genes Codificantes na Epilepsia do Lobo Temporal com Esclerose Hipocampal.

Verificamos que 448 genes foram analisados. Noventa e cinco genes foram estudados independentemente em pelo menos dois estudos. Analisamos esses dados por expressão tecidual (hipocampo, córtex, amígdala) e molécula (RNA e/ou-proteína). Como esperado, verificamos que o tecido mais avaliado foi o hipocampo (61%), córtex (34%) e amígdala (5%), respectivamente. Comparando todos os tecidos juntos, 49,47% (47/95) eram genes consistentemente repetidos. Trinta e quatro genes foram regulados positivamente e sete regulados negativamente. 50,53% (48/95) dos genes estavam up, down ou não regulados em estudos independentes, apresentando resultados inconsistentes (Figura 2 e Tabela Complementar 1)

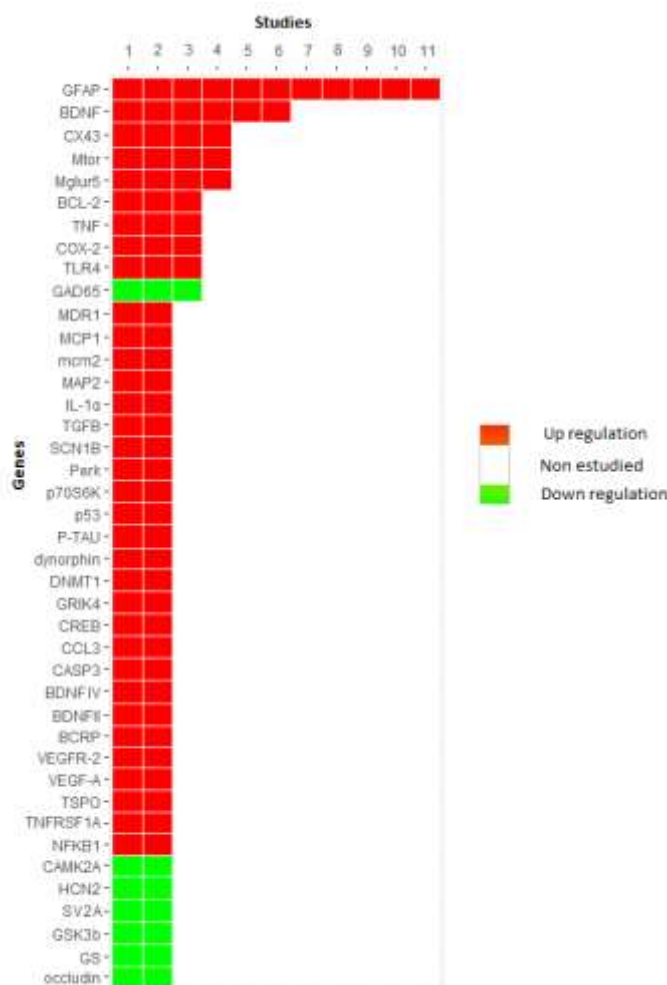
Figura 2 – Heatmap com genes investigados em estudos independentes. Em vermelho estão os genes super-expressos, em verde os sub-expressos e em preto os não significativos



3.3 Expressão Gênica dos Genes Consistentes por Tecido

Observamos, apenas, dados consistentes de diferentes estudos que analisaram o mesmo gene independentemente, trinta e quatro genes (34/47, 72,3%) foram regulados positivamente. Os genes regulados positivamente foram: GFAP, BDNF, CX43, MTOR, MGLUR5, BCL-2, TNF, COX-2, TLR4, MDR1, CASP3, NFKB1, p53, CREB, BCRP, CCL3, DNMT1, TGFB, VEGFR-2, GRIK4, IL-1 α , P-TAU, dinorfina, p70S6K, SCN1B, TNFRSF1A, TSPO, VEGF-A, mcm2, MAP2, MCP1, Perk, BDNFII, BDNFIV (Figura 3). Sete genes (7/47, 14,9%) foram regulados negativamente: AD65, CAMK2A, GS, GSK3b, HCN2, SV2A, ocludina. Além disso, seis genes (6/47, 12,8%) estavam desregulados: NGF, HSP70, GAT-1, SYP, BDNFVI e MBP (Figura 3).

Figura 3 – Heatmap com genes consistentes. Em vermelho, os genes regulados positivamente e em verde os genes regulados negativamente.



Quatorze genes super-expressos (14/34, 41,2%) foram estudados apenas no tecido hipocampal CX43, Mglur5, BCL-2, COX-2, NFKB1, p53, DNMT1, TGFB, GRIK4, DYNORPHIN, p70S6K, MCM2, MAP2, MCP1. Observamos uma sobreposição de dezenove genes (19/34, 55,9%) estudados no tecido hipocampal e córtex: GFAP, BDNF, MTOR, PGP, TNF, TLR4, MDR1, CASP3, CREB, BCRP, CCL3, VEGFR-2, IL - 2 α , P-TAU, SCN1B, TNFRSF1A, TSPO, VEGF-A, PERK, BDNFII; e apenas um gene (1/14, 2,9%) foi estudado no hipocampo e na amígdala. 6 genes sub-expressos (6/7, 85,7%) foram estudados apenas no tecido hipocampal: CAMK2A, GS, GSK3B, HCN2, SV2A, OCLUDIN. Apenas um gene (1/7, 14,3%) foi estudado no tecido hipocampal, e na amígdala, o GAD65. Embora a região do córtex tenha sido a segunda porção mais estudada, não houve genes desregulados exclusivos. (Figura 2).

Dos seis genes não regulados, 3 (3/6, 50%) foram estudados apenas no hipocampo: HSP70, GAT-1, SYP, e três genes (3/6, 50%) foram estudados no tecido hipocampal e córtex: NGF, BDNFVI, MBP.

3.4 Expressão Gênica dos Genes Consistentes por Moléculas

Ao nível da transcrição, foram utilizados RT-qPCR, Northern blotting ou hibridização in situ. A maioria das técnicas foram por western blotting, imunohistoquímica ou Elisa ao nível da proteína.

Entre os genes regulados positivamente, GFAP, BCRP, BDNF, TLR4, MDR1 e O CCL3 foram avaliados no nível de transcrição e proteína no hipocampo e no córtex. Os genes NFKB1, DNMT1, TGFB, GRIK4, DYNORPHIN, MCM2 e MCP1, COX-2 foram analisados em níveis de RNA e proteína apenas no hipocampo. Os genes CX43, MGLUR5, BCL-2, CASP3, P70S6K, MAP2 e P53 foram avaliados quanto aos níveis de expressão de proteínas no hipocampo. MTOR e CREB foram estudados no nível de proteína no hipocampo e RNA no córtex. TNF, IL-1 α e SCN1B, e TSPO foram analisados ao nível de RNA e proteína no hipocampo e apenas o perfil de expressão da proteína no córtex. Por outro lado, VEGFR-2, P-TAU e VEGF-A foram avaliados quanto aos níveis de proteína no hipocampo e córtex. PERK. Um avaliou o nível de proteína no hipocampo e RNA e proteína na amígdala. BDNFII foi avaliado no nível de RNA

no hipocampo e córtex. A expressão de TNFRSF1A foi verificada em nível de RNA no hipocampo e proteína no córtex.

Dos genes sub-expressos, GAD65 foi avaliado por RNA e proteína no hipocampo e apenas proteína na amígdala. O gene CAMK2A foi avaliado apenas no nível do RNA no hipocampo. GS, HCN2, SV2A nos níveis de RNA e proteína no hipocampo. GSK3B e OCLUDIN avaliaram apenas o nível de proteína no hipocampo.

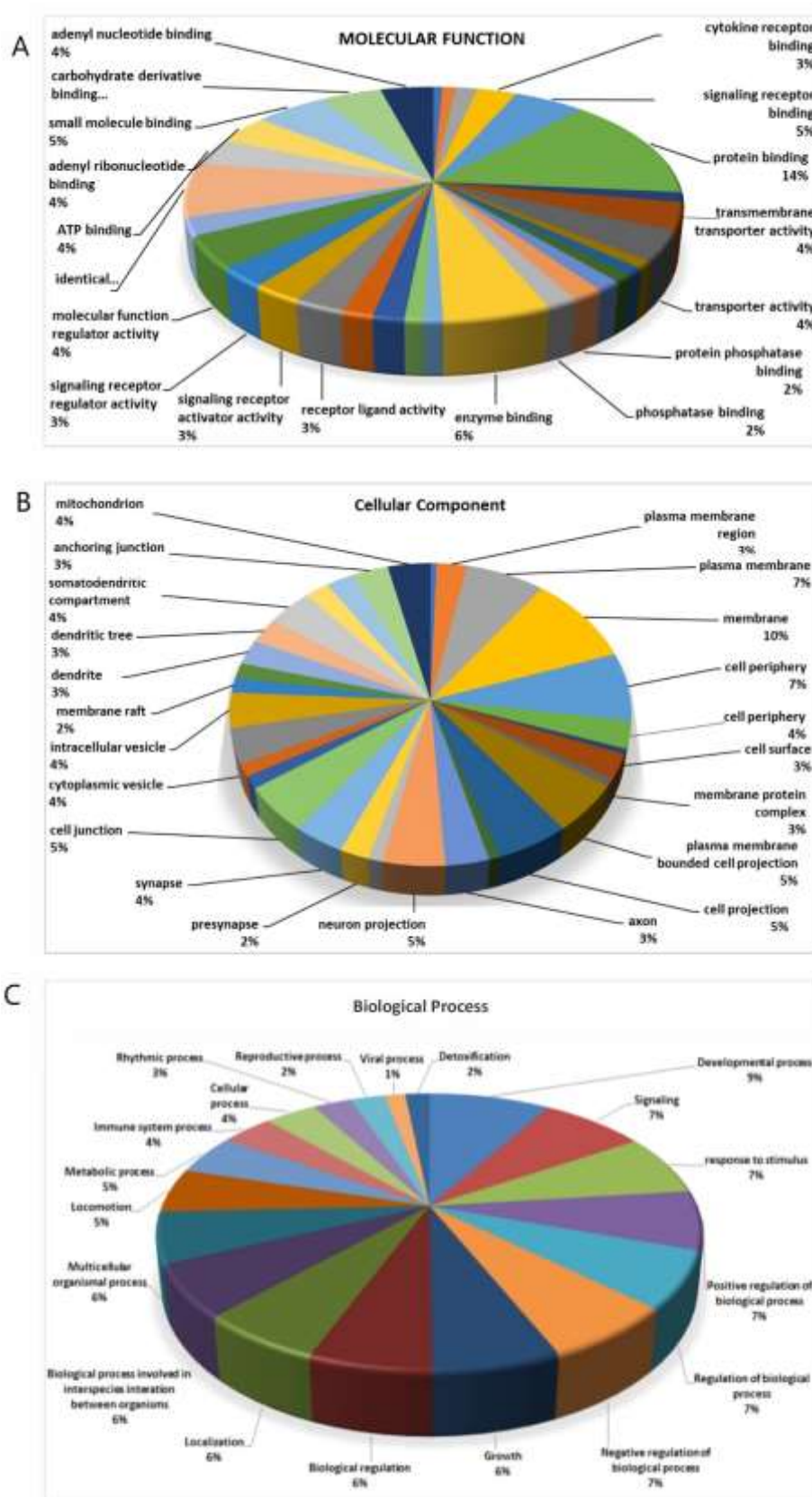
3.5 Identificação dos genes expressos diferencialmente consistentes

3.5.1 Análise de enriquecimento na expressão gênica diferencial

Realizamos a análise da ontologia genética para obter informações sobre os papéis e caminhos de genes diferenciais consistentes incluídos nesta revisão. A Figura 4 mostra a distribuição total de termos significativamente enriquecidos por processos biológicos, funções moleculares e categorias de compartimentos celulares.

A análise GO mostra termos de moléculas predominantemente de ligação como ligação de proteína idêntica, sinalização de ligação de enzima, ligação de receptor, ligação de molécula insignificante, ligação de derivado de carboidrato, regulador de função molecular, transportador de atividade, ligação de adenil ribonucleotídeo de atividade e ligação de nucleotídeo de adenil (Fig 4A). Também descobrimos que os principais genes pertenciam a Membrana (10%), seguido por membrana plasmática (7%), periferia celular (7%), projeção neuronal (5%), projeção celular (5%), projeção celular membrana plasmática (5%), sinapse (4%), compartimento somatodendrítico (4%) e vesícula citoplasmática (4%) (fig. 4B). Dos 836 processos biológicos enriquecidos, os termos com maior número de genes foram: processo celular (GO:0009987), regulação biológica (GO:0065007), resposta a estímulo (GO:0050896), regulação de processo biológico (GO:0050789), regulação do processo celular (GO:0050794), resposta a produtos químicos (GO:0042221), resposta celular a estímulos (GO:0051716), regulação da qualidade biológica (GO:0065008), processo do organismo multicelular (GO:0032501), regulação positiva do processo biológico (GO:0048518) (Fig. 4C).

Figura 4 – Resultados da Gene Ontology (GO). A Figura (A) mostra as vias associadas na função molecular, sendo a Figura (B) o componente celular e a Figura (C) os processos biológicos da epilepsia.



3.6 Fatores de Transcrição e Análise de microRNAs

Investigamos os potenciais reguladores de genes consistentemente estudados (Fig. 5). A Figura 5 mostra o resultado da categoria TRRUST relacionada aos fatores de transcrição. NFKB1 é o melhor classificado e o mais enriquecido, seguido por SP1, RELA, E2F1, JUN, ING4 e STAT3. Para os 34 genes consistentes com expressão aumentada, a análise de microRNAs validados (miRs) retornou 105 miRs no total e 86 únicos. Encontramos 14 microRNAs reguladores validados experimentalmente para sete genes com expressão reduzida. Além disso, encontramos mais de três microRNAs validados de genes BCL2, DNMT1, TLR4, BDNF, NFKB1, VEGFA, CASP3, TNF, COX2 regulados positivamente e de genes regulados negativamente GSK3B e HCN2 (Tabela 1). Os miRs que regulam mais de dois genes codificadores desta revisão estão coloridos na Tabela 1.

Figura 5 – Análise de enriquecimento no TRRUST. A análise foi realizada por metacaspé.

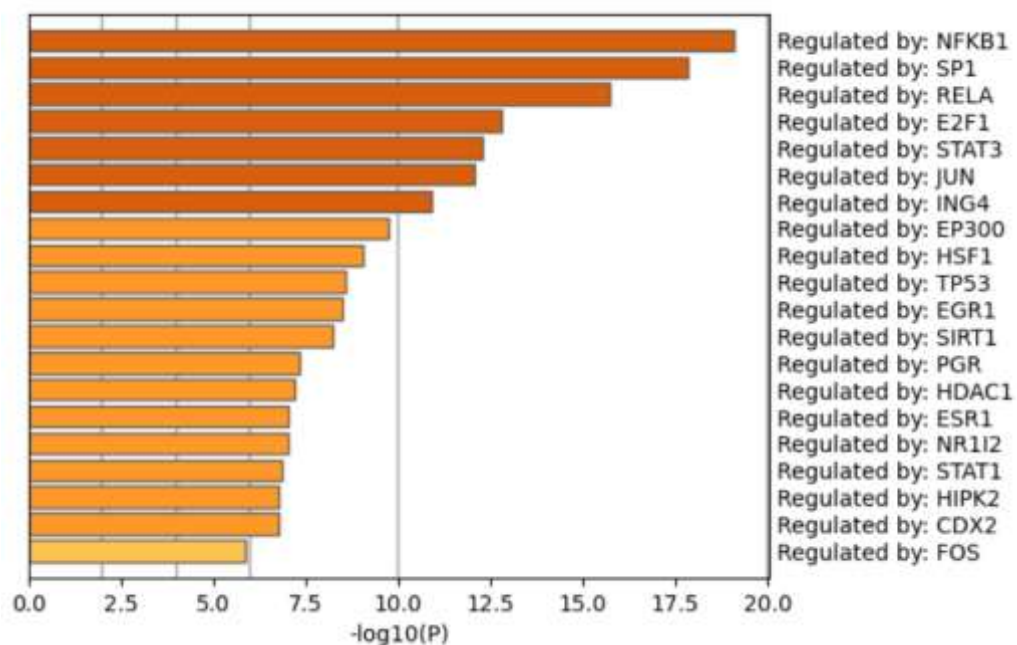


Tabela 1: miRNA validados dos genes superexpressos e sub-expressos

GENE UP-REGULATED									GENE DOWN-REGULATED	
<i>BCL2</i>	<i>DNMT1</i>	<i>TLR4</i>	<i>BDNF</i>	<i>NFKB1</i>	<i>VEGFA</i>	<i>CASP3</i>	<i>TNF</i>	<i>COX2</i>	<i>GSK3B</i>	<i>HCN2</i>
miR-34b-5p	miR-148a-3p	let-7i-5p	miR-210-3p	miR-146a-5p	miR-126-3p*	miR-98-5p	miR-19a-3p	miR-143-5p	miR-99b-3p	miR-1-3p**
miR-21-5p	miR-29b-3p*	miR-146a-5p	miR-204-5p*	miR-210-3p	miR-29b-3p*	miR-138-5p	miR-130a-3p	miR-137	miR-675-5p	miR-133a-3p
miR-204-5p*	miR-152-3p	miR-485-3p	miR-16-5p*	miR-155-5p*	miR-16-5p*	miR-421	miR-34a-5p	miR-26b-5p	miR-92b-3p	
miR-15a-5p*	miR-342-3p	miR-140-5p*	miR-1-5p	miR-199a-5p**	miR-15a-5p*	let-7b-3p	miR-381-3p		miR-132-3p	
miR-15b-5p	miR-185-5p*	miR-23b-5p	miR-155-5p*	miR-508-3p	miR-378a-3p	miR-30c-5p			miR-27a-3p	
miR-16-5p*	miR-140-5p*	miR-885-3p	miR-202-3p	miR-375	miR-125a-5p	miR-582-5p			miR-769-5p	
miR-34a-5p*	miR-126-3p*	miR-216a-5p	miR-10a-5p		miR-361-5p	miR-363-3p			miR-199a-5p**	
miR-17-5p	miR-17-3p	miR-329-3p			miR-20b-5p				miR-346	
miR-29c-3p		miR-145-3p			miR-205-5p*				miR-182-5p**	
miR-29b-3p		miR-1178-3p			miR-145-5p				miR-96-5p	
miR-29a-3p*					miR-200b-3p*				miR-183-5p	
miR-34c-5p					miR-29a-3p*				miR-26a-5p	
miR-195-5p					miR-451b					
miR-449a					miR-646					
miR-200b-3p*					miR-374b-5p					
miR-200c-3p					miR-1-3p**					
miR-429					miR-125a-3p					
miR-7-5p					miR-452-5p					
miR-182-5p**					miR-214-3p*					
miR-143-3p					miR-4316					
miR-205-5p*					miR-377-3p					
miR-126-3p*					miR-185-5p*					
miR-18a-5p										
miR-497-5p										
miR-1915-3p										
miR-125a-5p										
miR-503-5p										
miR-211-5p										
miR-139-5p										
miR-214-3p*										
miR-27a-5p										
miR-188-3p										

*colorido- os microRNAs que regulam dois ou mais genes.

**Em vermelho- os microRNAs reguladores para os super-expressos e sub-expressos. Todas as buscas foram com microRNA homo sapiens.

4 Discussão

Esforços têm sido feitos para identificar genes desregulados no mELT e propor novas abordagens terapêuticas, no entanto, pouco progresso foi alcançado devido à natureza complexa do processo epileptogênico, à heterogeneidade intrínseca do paciente, ao padrão de expressão gênica nas fases do processo epileptogênico, e as diferentes abordagens de análise metodológica tornam difícil estratificar o papel desses genes (GALANOPOULOU *et al.*, 2021). Além disso, um aspecto muito relevante do mTLE diz respeito à sua refratariedade aos DAE's existentes, e para esses casos, a ressecção cirúrgica ainda é uma alternativa de escolha, o que torna a busca contínua por tratamentos alternativos. Para superar essa limitação, este trabalho realizou uma revisão sistemática de literatura para rastrear dados de expressão gênica que poderiam ser úteis e mobilizados para a medicina translacional. Assim, no presente estudo, revisamos os dados de 47 estudos elegíveis que abrangeram a expressão de genes codificantes de pacientes submetidos a lobectomia e apenas daqueles com HS. Noventa e cinco genes foram estudados independentemente em pelo menos dois estudos, dos quais 48 mostraram inconsistência e 47 consistências em seus dados de expressão. Destes, 34 foram regulados positivamente, 7 foram regulados negativamente e seis não apresentaram diferença significativa.

A inconsistência nos dados de expressão gênica pode ser explicada por diferenças nos produtos gênicos avaliados (RNA ou proteína), diferentes abordagens metodológicas, grupo controle e fatores intrínsecos dos pacientes, como idade. Por exemplo, já foi demonstrado que o tempo de coleta de tecido post-mortem pode mascarar mudanças nos dados de expressão gênica em um modelo experimental (BORN *et al.*, 2017). De fato, Leal e colaboradores (2017) observaram níveis aumentados de IL-1B no RNA (RT-qPCR) e nível de proteína (Imunohistoquímica) usando controles de autópsia com um curto atraso post-mortem (de 4 a 7 h) (LEAL *et al.*, 2017). Em contraste, Kan e colegas (2012) avaliaram apenas o nível de proteína por meio de imunoensaio baseado em esferas multiplex. Eles observaram que o grau desregulado de IL-1B com um grupo de controle com pH cerebral ou atraso post-mortem estava em conformidade). Decidimos direcionar esta revisão com foco em genes consistentes (KAN *et al.*, 2012).

4.1 Processos epileptogênicos diferencialmente expressos no hipocampo e córtex de pacientes com ELT-HS

GFAP (proteína glial fibrilar ácida) foi o gene mais estudado com níveis de expressão consistentemente mais elevados, independentemente do tecido a partir do qual foi detectado no hipocampo, córtex e amígdala ou por molécula (LEE *et al.*, 2007; ÖZBAS-GERÇEKER *et al.*, 2006; LU *et al.*, 2019; UYSAL *et al.*, 2003; GASSEN *et al.*, 2008; STEFANITS *et al.*, 2019; OH *et al.*, 2008; PAPAGEORGIOU *et al.*, 2018; J.-J *et al.*, 2006; FAHRNER *et al.*, 2007).

Esta é uma proteína glial fibrilar ácida, um filamento intermediário de classe III de astrócitos maduros comumente utilizado como um marcador dessas células gliais (ENDICOTT *et al.*, 2020). Como medida compensatória da perda neuronal na CA, o aumento de astrócitos é uma marca registrada na ELT-HS. Sabe-se que os astrócitos atuam na recaptação do glutamato na fenda sináptica reduzindo a produção da glutamina sintase, gerando excitotoxicidade (PAJARILLO *et al.*, 2019), seguindo nossos resultados. Quian e colegas (2022), na abordagem proteômica, descreveram um aumento de GFAP e gliose típica no hipocampo do modelo animal Litio-pilo, corroborando a percepção de que o aumento de GFAP está envolvido na gliose hipocampal e na epileptogênese (QIAN *et al.*, 2022). Curiosamente, um estudo de Yuehui e colaboradores (2020) mostrou que o aumento da expressão de miR-15a reduziu a apoptose em células epiléticas e os níveis de expressão de IL-1 β , IL-6 e TNF- α in vitro e in vivo pela modulação de GFAP (FAN *et al.*, 2020).

O BDNF e suas isoformas BDNF II e BDNF IV foram consistentemente superexpressos tanto no hipocampo quanto no córtex (COLLIGNON; DESHPANDE *et al.*, 2017; FONSECA; GREEN; NICHOLSON, 2002; MARTÍNEZ-LEVY *et al.*, 2018; MARTÍNEZ-LEVY *et al.*, 2016). Um membro da família de proteínas do fator de crescimento nervoso foi observado no processo epileptogênico, nos sinaptossomas do hipocampo em modelos crônicos de ratos com ELT induzida por cainato e pacientes (EGBENYA *et al.*, 2022) e pacientes. Recentemente, uma revisão mostrou estratégias para modular a sinalização de BDNF/TrkB para prevenir a epilepsia. Por exemplo, a atenuação do BDNF após convulsões em camundongos mutantes pode ter efeitos anti-epileptogênicos (LIN *et al.*, 2020a).

O mTOR foi o terceiro gene mais estudado no hipocampo e no córtex. De fato, a inibição da via através da modulação pela rapamicina demonstrou efeitos positivos em modelos animais de cainato e pilocarpina, mais especificamente na supressão do surgimento de fibras musgosas (ZENG; RENSING; WONG, 2009; BUCKMASTER; INGRAM; WEN, 2009) um substrato patológico no mTLE envolvido na hiperexcitabilidade neuronal no circuito do hipocampo (KOYAMA; IKEGAYA, 2004). Pesquisadores observaram que drogas que suprimem mTORC1, como rapamicina e análogos, poderiam ser uma nova alternativa ao tratamento anti-epileptogênico (TALOS *et al.*, 2018).

O alvo mecanístico da rapamicina quinase (mTOR) tem ampla expressão cerebral e codifica a proteína que pertence à família das fosfatidil-inositol quinase. Composto de dois complexos diferentes, mTORC1 e C2, C1 regula a síntese e proliferação de proteínas e é sensível à rapamicina; e a segunda diz respeito à manutenção do citoesqueleto de actina, progressão do ciclo e sobrevivência celular (CHI *et al.*, 2017).

Talos e colegas (2018) mostraram que neurotransmissores podem modular complexos como Glutamato e Gaba, fatores de crescimento como BDNF e hormônios como insulina e citocinas. A ativação de seus receptores, portanto, recruta a sinalização intracelular PI3K/AKT e Ras/quinase, ativando mTORC 1 e 2, tornando-se assim um ponto de convergência entre eles (TALOS *et al.*, 2018). A sinalização MTOR é significativamente desregulada em ELT humana associada a HS e em um modelo experimental (ZENG; RENSING; WONG, 2009).

Para obter informações sobre as funções sobrepostas de todos os genes consistentes incluídos, exploramos os termos mais representativos da análise dos genes expressos diferencialmente. Nossa análise bioinformática GO foi capaz de identificar, em cada uma das três categorias funcionais enriquecidas, um padrão no grupo de genes do papel; por exemplo: na função molecular, destacaram-se as moléculas ligantes; no compartimento celular: membranas e seus ramos salientes; finalmente, entre os processos celulares, observamos um enriquecimento nos processos regulatórios. Faz sentido, algumas associações GO na função/localização/processo de genes desregulados corroboram as da

literatura, e outras que não foram analisadas anteriormente foram mencionadas aqui (LIU *et al.*, 2016).

As atividades que podem ser realizadas por genes ou produtos de múltiplos genes estão relacionadas à categoria de ligação molecular (função reguladora molecular (que inclui subunidades de enzimas multiméricas e canais) e transportadora de atividade. parte pode ser explicada pela desregulação na expressão de receptores acoplados à proteína G e canais iônicos controlados por ligantes como AMPA e NMDA (HANADA, 2020). Além do processo epileptogênico, a hipótese do transportador é uma das que sugere o mecanismo de farmacoresistentes ligados a DAEs, tendo a proteína P-gp, um transportador de efluxo da barreira hematoencefálica com níveis de expressão aumentados em pacientes relatados aqui e outros (HARTZ *et al.*, 2017).

Além disso, o local onde, estruturalmente, os produtos gênicos aqui encontrados atuam é, em suma, nas membranas, na periferia celular, nas projeções/sinapses neurais e nas vesículas citoplasmáticas. Curiosamente, todos estes permitem a comunicação intercelular-intracelular. Seja para promover o processo epileptogênico ou na tentativa de restaurar a homeostase celular, essa comunicação é interrompida na epilepsia, por exemplo, brotamento de fibras musgosas (DINGLELINE; VARVEL; DUDEK, 2014), conteúdo de vesículas exossomais potenciais bioelétricos de neurônios excitatórios e inibitórios (UPADHYA *et al.*, 2020).

Em relação aos processos biológicos realizados por múltiplas atividades moleculares, os processos regulatórios representaram os mais diferentes mecanismos de regulação da expressão gênica, como fatores de transcrição e microRNAs (GHAFOURI-FARD *et al.*, 2022).

Quanto à manipulação da expressão gênica como estratégia terapêutica, focamos na bioinformática de análise de microRNA. Como moduladores críticos da expressão gênica, muitos microRNAs já foram investigados em um modelo animal e/ou epilepsia humana do ponto de vista do perfil de expressão (KOROTKOV *et al.*, 2017). A manipulação de miRs tem sido amplamente utilizada em pesquisa básica e começando em ensaios clínicos para outras doenças neurodegenerativas, como a esclerose lateral amiotrófica. Do ponto de

vista da modulação da expressão gênica, eles estão usando a abordagem sintética (KIM *et al.*, 2022; CHAKRABORTY *et al.*, 2021). RNAs, como mimics e antagomiRs, e vários microRNAs já foram estudados em modelos experimentais de epilepsia (BHALALA; SRIKANTH; KESSLER, 2013).

Como um único miR pode regular centenas de genes codificantes (BARTEL, 2009), focamos nossa atenção nos miRs regulatórios de mais de um gene codificador consistente em nossa análise, como miR-146, 155, 34^a; todos já foram estudados na abordagem de manipulação em TLE (GHAFOURI-FARD *et al.*, 2022). A suplementação e inibição do miR-146 foram capazes de reduzir as convulsões na fase aguda da epileptogênese e nas convulsões espontâneas e recorrentes nos modelos Pilo e cainato, evidenciando essa propriedade anticonvulsivante (ZHANG *et al.*, 2018); além disso, os mediadores inflamatórios estavam disponíveis por RT-qPCR após mimetizar este microRNA, de modo que os resultados foram implicados na redução da inflamação (CHELESCHI *et al.*, 2019).

Além disso, o potencial terapêutico do miR-155 foi estudado no modelo lítio-pilo, mostrando uma redução das convulsões na fase aguda do processo epileptogênico. Curiosamente, o antagonista do miR-155 atua no SE regulando diretamente a atividade do BDNF, aumentando seu nível (CAI *et al.*, 2016). Outra molécula interessante é o miR-34a, Hu e colegas (2012) modularam essa expressão pela injeção de ant-miR-34 no ventrículo lateral no pilo-modelo, resultando no aumento do número de neurônios sobreviventes (neuroproteção) e diminuição da morte neuronal em CA1 e CA2 (HU *et al.*, 2012). A identificação desses reguladores é essencial para projetar a manipulação de genes.

miRs-199-5p, miR-1-3p e 182-5p aparecem como reguladores de genes nos diferentes sentidos NFKb, VEGFA, GSK3B e HCN2, possivelmente porque existem outros mecanismos além dos reguladores epigenéticos. Nesse sentido, avaliamos também outro grupo de reguladores, os fatores transcricionais. Curiosamente, a análise das vias de transcrição usando o banco de dados TRRUST com os genes consistentes do estudo resultou em NFKB1 como o melhor classificado e o mais enriquecido, seguido por SP1, RELA, E2F1, STAT3, JUN e ING4.

O gene NFKB1 (nuclear factor kappa B subunit 1) é o principal gene regulador da via transcricional para epilepsia, este gene é uma família de fatores de transcrição responsáveis pela regulação de mais de 200 genes relacionados à inflamação, resposta imune, diferenciação celular, apoptose e outras funções (BALTUS *et al.*, 2021). Nesta revisão, encontramos três estudos com o gene e isoformas (TOSCANO *et al.*, 2021; LEE *et al.*, 2007; TEOCCHI *et al.*, 2013a). Estudos afirmam que a inflamação desempenha um papel crucial na epileptogênese das estruturas cerebrais, particularmente do hipocampo (POHLENTZ *et al.*, 2022; XIANG *et al.*, 2022; ERISKEN *et al.*, 2022). A ativação inadequada do NFKB tem sido associada a várias doenças inflamatórias (TEOCCHI *et al.*, 2013b).

O gene SP1 foi o segundo gene que mais regula o processo transcricional, exercendo forte influência na regulação dos 47 genes consistentes. Os fatores de transcrição SP1 estão ligados à manutenção de ilhas CpG livres de metilação (ZHANG *et al.*, 2012) e estão correlacionados com a diferenciação e desenvolvimento celular (SHA *et al.*, 2022). Um estudo de Feng (1999) com um modelo animal de ácido caínico (KA) levantou a hipótese de que o aumento na atividade Sp-1 pode estar associado a mudanças de longo prazo na plasticidade da função do hipocampo após convulsões induzidas por KA (WU *et al.*, 2011).

O terceiro gene que mais controlou o processo transcricional de genes consistentes foi o RELA (proto-oncogene, subunidade NF-kB) (ZHAO *et al.*, 2020). Um estudo com Status Epilepticus mostrou que o RELA atua na regulação durante a formação do edema vasogênico, que é o tipo mais comum de edema cerebral devido ao rompimento da barreira hematoencefálica, o que resulta em um aumento abrupto da pressão intracraniana, transporte hematoencefálico de moléculas anormais e derivados séricos e excitabilidade neuronal favorecendo o estado de mal epiléptico (KIM *et al.*, 2019). O gene E2F1 é um fator de transcrição, e a regulação positiva desse gene tem sido associada à modificação de histonas e regulação do ciclo celular na diferenciação neuronal e células GABAérgicas (SCHUSTER *et al.*, 2019).

STAT3 é um transdutor de sinal gênico e ativador da transcrição. Um estudo de tecido cerebral ressecado cirurgicamente em pacientes com epilepsia do lobo temporal e esclerose hipocampal encontrou perda neuronal mais

significativa e cicatrização glial associada ao aumento da expressão de STAT3 em comparação com o controle da autópsia (AULICKÁ *et al.*, 2022), com papel vital e importante na manutenção dos astrócitos (CEYZÉRIAT *et al.*, 2016). Um estudo de modelo experimental por pilocarpina com inibição de STAT3 reduziu o estado epiléptico e as frequências de crises espontâneas, reduzindo os alvos STAT3 a jusante da ciclina D1 e mcl-1, conhecidos por seus papéis na progressão do ciclo celular e na sobrevivência celular (GRABENSTATTER *et al.*, 2014).

O gene ING4 também foi um gene que segundo a análise TRRUST é um gene regulador dos genes consistentes analisados no estudo. É um gene que faz parte de uma família de proteínas inibidoras do crescimento. Ele codifica uma proteína supressora de tumor que contém um dedo PHD, um motivo comum em proteínas envolvidas na remodelação da cromatina (NABBI *et al.*, 2017). Muito se tem estudado com o câncer, mas não foi encontrado nenhum estudo que o relacione com o processo epileptogênico. Está envolvido com a ativação do p53 na ativação tumoral (CHEN *et al.*, 1999) e está relacionado com a inibição da proliferação celular através do NF- κ B (HOU *et al.*, 2014). No entanto, seu papel na proliferação celular é controverso e necessita de mais estudos para ser elucidado (TRINH *et al.*, 2019).

O gene JUN é um fator de transcrição AP-1 associado a vias inflamatórias com processo epileptogênico. No entanto, uma pesquisa com microRNA e regulação de citocinas pró-inflamatórias em COVID mostrou que o miR-155-5p afeta a expressão de JUN (KHOKHAR; TOMO; PUROHIT, 2022). Ao analisar os microRNAs validados para genes consistentes upregulated em epilepsia, encontramos miR-155-5p regulando os genes BDNF e NFKB1. Portanto, abre caminho para novos estudos com alvos terapêuticos em epilepsia do lobo temporal com base na abordagem de expressão gênica.

5 Conclusão

Após a análise do nível de perfis de expressão dos trabalhos incluídos e lançamos um conjunto robusto de genes de codificação expressos diferencialmente na epilepsia humana mTLE. Identificamos os sete genes expressos diferencialmente mais comuns e consistentes, apesar da inconsistência dos genes mais repetidos. A ontologia associada aos genes revelou diferentes formas de observar o papel do conjunto de genes consistentemente desregulados, interligando-se entre si por atuarem predominantemente em membranas, associando-se a ligações e atuando como reguladores de processos biológicos. Em relação aos reguladores de expressão no nível transcricional da expressão, identificamos miRs direcionados a mais de um gene rastreado aqui e fatores transcricionais, incluindo aqueles associados à epileptogênese. Nesse sentido, o foco nos genes centrais aqui descritos fornece informações vitais para futuros estudos de descoberta e validação de novos alvos terapêuticos baseados na manipulação da expressão gênica em mELT. Além disso, futuros estudos pré-clínicos baseados na manipulação de genes poderiam usar uma mistura de miRs 146, 155 e 34a e/ou siRNA contra BDNF, GFAP e mTOR.

Referências

- AOKI, Y. et al. Altered Expression of Astrocyte-Related Receptors and Channels Correlates With Epileptogenesis in Hippocampal Sclerosis. v. 22, n. 6, p. 532 – 539, 12 2019.
- ARAI, A. et al. Abnormal maturation and differentiation of neocortical neurons in epileptogenic cortical malformation: Unique distribution of layer-specific marker cells of focal cortical dysplasia and hemimegalencephaly. v. 1470, p. 89 – 97, 8 2012.
- ARAÚJO, M. A. D. et al. Identification of microRNAs with dysregulated expression in status epilepticus induced epileptogenesis. v. 11, n. 10, 10 2016.
- ARGAÑARAZ, G. A. et al. The renin-angiotensin system is upregulated in the cortex and hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy related to mesial temporal sclerosis. v. 49, n. 8, p. 1348 – 1357, 8 2008.
- ARION, D. et al. Correlation of transcriptome profile with electrical activity in temporal lobe epilepsy. v. 22, n. 2, p. 374 – 387, 5 2006.
- ARONICA, E. et al. Expression and localization of voltage dependent potassium channel Kv4.2 in epilepsy associated focal lesions. v. 36, n. 1, p. 81 – 95, 10 2009.
- ARONICA, E. et al. Expression and regulation of voltage-gated sodium channel β 1 subunit protein in human gliosis-associated pathologies. v. 105, n. 5, p. 515 – 523, 5 2003.
- AULICKÁ, S. et al. Cytokine-chemokine profiles in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. v. 180, 2 2022.
- BALTUS, T. H. L. et al. Association of -94 ATTG insertion/deletion NFkB1 and c.*126G>A NFkBIA genetic polymorphisms with oxidative and nitrosative stress biomarkers in Brazilian subjects with Parkinson's Disease. v. 740, 1 2021.
- BANDO, S. Y. et al. Hippocampal CA3 transcriptome signature correlates with initial precipitating injury in refractory mesial temporal lobe epilepsy. v. 6, n. 10, 2011.
- BANDTLOW, C. E. et al. Increased expression of Nogo-A in hippocampal neurons of patients with temporal lobe epilepsy. v. 20, n. 1, p. 195 – 206, 7 2004.
- BARTEL, D. P. **MicroRNAs**: Target Recognition and Regulatory Functions. 2009. 215 – 233 p.
- BASNYAT, P. et al. Chronically reduced IL-10 plasma levels are associated with hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy patients. v. 20, n. 1, 6 2020.
- BEBEK, N. et al. Expression analysis and clinical correlation of aquaporin 1 and 4 genes in human hippocampal sclerosis. v. 20, n. 11, p. 1564 – 1570, 11 2013.
- BENDER, R. A. et al. **Enhanced Expression of a Specific Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Cation Channel (HCN) in Surviving Dentate Gyrus Granule Cells of Human and Experimental Epileptic Hippocampus.** [S.l.], 2003.
- BEYENBURG, S. et al. **Expression of mRNAs encoding for 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase isozymes 1, 2, 3 and 4 in epileptic human hippocampus.** [S.l.], 2000. Disponível em: www.elsevier.com/locate/epilepsyres.

- BEYENBURG, S. et al. **Androgen receptor mRNA expression in the human hippocampus**. [S.l.]. Disponível em: www.elsevier.com/locate/neulet.
- BHALALA, O. G.; SRIKANTH, M.; KESSLER, J. A. **The emerging roles of microRNAs in CNS injuries**. 2013. 328 – 339 p.
- BILLINTON, A. et al. **GABA mRNA expression in hippocampal sclerosis associated with B(1) human temporal lobe epilepsy**. [S.l.], 2001. 84 – 89 p. Disponível em: www.elsevier.com/locate/bres.
- BLÜMCKE, I. et al. Towards a clinico-pathological classification of granule cell dispersion in human mesial temporal lobe epilepsies. **Acta Neuropathol**, v. 009, p. 535 – 544, 2009. ISSN 10.1007/s00401-009-0512-5.
- BLUMCKE, I. et al. Histopathological Findings in Brain Tissue Obtained during Epilepsy Surgery. v. 377, n. 17, p. 1648 – 1656, 10 2017.
- BORN, J. P. L. et al. Using Postmortem hippocampi tissue can interfere with differential gene expression analysis of the epileptogenic process. v. 12, n. 8, 8 2017.
- BRINES, M. L. Quantitative autoradiographic analysis of ionotropic glutamate receptor subtypes in human temporal lobe epilepsy: Up-regulation in reorganized epileptogenic hippocampus. v. 9, n. 10, p. 2035 – 2044, 1997.
- BROEKAART, D. W. et al. Increased expression of (immuno)proteasome subunits during epileptogenesis is attenuated by inhibition of the mammalian target of rapamycin pathway. v. 58, n. 8, p. 1462 – 1472, 8 2017.
- BRUXEL, E. M. et al. **Multi-omic strategies applied to the study of pharmacoresistance in mesial temporal lobe epilepsy**. 2022. S94 – S120 p.
- BUCKMASTER, P. S.; INGRAM, E. A.; WEN, X. Inhibition of the mammalian target of rapamycin signaling pathway suppresses dentate granule cell axon sprouting in a rodent model of temporal lobe epilepsy. v. 29, n. 25, p. 8259 – 8269, 6 2009.
- CAI, Z. et al. Antagonist targeting microRNA-155 protects against lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in C57BL/6 mice by activating brain-derived neurotrophic factor. v. 7, n. MAY, 2016.
- CASTAÑEDA-CABRAL, J. L. et al. Increased protein expression of VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C and their receptors in the temporal neocortex of pharmacoresistant temporal lobe epilepsy patients. v. 328, p. 68 – 72, 3 2019.
- CASTAÑEDA-CABRAL, J. L. et al. Increased expression of proinflammatory cytokines and iNOS in the neocortical microvasculature of patients with temporal lobe epilepsy. v. 68, n. 3, p. 169 – 176, 6 2020.
- CEYZÉRIAT, K. et al. **The complex STATes of astrocyte reactivity**: How are they controlled by the JAK-STAT3 pathway? 2016. 205 – 218 p.
- CHAKRABORTY, C. et al. **Therapeutic advances of miRNAs**: A preclinical and clinical update. 2021. 127 – 138 p.
- CHELESCHI, S. et al. Microrna mediate visfatin and resistin induction of oxidative stress in human osteoarthritic synovial fibroblasts via nf-kb pathway. v. 20, n. 20, 10 2019
- CHEN, H. et al. **Human Nopp140, Which Interacts with RNA Polymerase I: Implications for rRNA Gene Transcription and Nucleolar Structural Organization**. [S.l.], 1999. 8536 – 8546 p.

CHEN, Q. et al. Identification of serum biomarkers for evaluating seizure outcome after resective epilepsy surgery. v. 29, n. 8, p. 528 – 541, 2020.

CHI, X. et al. Inhibition of mTOR Pathway by Rapamycin Decreases P-glycoprotein Expression and Spontaneous Seizures in Pharmacoresistant Epilepsy. v. 61, n. 4, p. 553 – 562, 4 2017.

COLLIGNON, F. 2006. CRÈVECŒUR, J. et al. Expression pattern of synaptic vesicle protein 2 (SV2) isoforms in patients with temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. v. 40, n. 2, p. 191 – 204, 2 2014.

CRINO, P. B. et al. **Increased Expression of the Neuronal Glutamate Transporter (EAAT3/EAAC1) in Hippocampal and Neocortical Epilepsy.** [S.I.]. CUELLAR-HERRERA, M. et al. Mu opioid receptor mRNA expression, binding, and functional coupling to G-proteins in human epileptic hippocampus. v. 22, n. 2, p. 122 – 127, 2 2012.

D'ALESSIO, L. et al. Dentate gyrus expression of nestin-immunoreactivity in patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. v. 27, p. 75 – 79, 4 2015.

D'ALESSIO, L. et al. Reduced expression of the glucocorticoid receptor in the hippocampus of patients with drug-resistant temporal lobe epilepsy and comorbid depression. v. 61, n. 8, p. 1595 – 1605, 8 2020.

DAS, A. et al. Hippocampal tissue of patients with refractory temporal lobe epilepsy is associated with astrocyte activation, inflammation, and altered expression of channels and receptors. v. 220, p. 237 – 246, 9 2012.

DESHPANDE, T. et al. Subcellular reorganization and altered phosphorylation of the astrocytic gap junction protein connexin43 in human and experimental temporal lobe epilepsy. v. 65, n. 11, p. 1809 – 1820, 11 2017.

DESJARDINS, P. et al. **Induction of astrocytic cyclooxygenase-2 in epileptic patients with hippocampal sclerosis.** [S.I.], 2003. 299 – 303 p.

DINGLELINE, R.; VARVEL, N. H.; DUDEK, F. E. When and How Do Seizures Kill Neurons, and Is Cell Death Relevant to Epileptogenesis? **Advances in experimental medicine and biology**, v. 813, p. 109 – 122, 2014. ISSN 0065-2598. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4624106/>.

DIXIT, A. B. et al. RNA-seq analysis of hippocampal tissues reveals novel candidate genes for drug refractory epilepsy in patients with MTLE-HS. v. 107, n. 5, p. 178 – 188, 5 2016.

DIXIT, A. B. et al. Upregulation of breast cancer resistance protein and major vault protein in drug resistant epilepsy. v. 47, p. 9 – 12, 4 2017.

DIXIT, A. B. et al. Integrated Genome-Wide DNA Methylation and RNAseq Analysis of Hippocampal Specimens Identifies Potential Candidate Genes and Aberrant Signalling Pathways in Patients with Hippocampal Sclerosis. **Neurology India**, v. 68, n. 2, p. 307 – 313, 05 05/2020.

DOMBROSKI, T. C. D. et al. Drebrin expression patterns in patients with refractory temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. v. 61, n. 8, p. 1581 – 1594, 8 2020.

DOMBROWSKI, S. M. et al. **Overexpression of Multiple Drug Resistance Genes in Endothelial Cells from Patients with Refractory Epilepsy.** [S.I.].

EGBENYA, D. L. et al. Synapse-specific changes in Arc and BDNF in rat hippocampus following chronic temporal lobe epilepsy. 12 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168010222002978>.

EICHLER, S. A. et al. Splice-specific roles of glycine receptor $\alpha 3$ in the hippocampus. v. 30, n. 6, p. 1077 – 1091, 9 2009.

EID, T. et al. Gene expression of glutamate metabolizing enzymes in the hippocampal formation in human temporal lobe epilepsy. v. 54, n. 2, p. 228 – 238, 2 2013.

EMRAH, Y. et al. Investigating the expression of apoptosis related genes in mesial temporal lobe epilepsy. **HUGO J**, v. 5, n. 1, p. 207 – 2013, 01 01/2011.

ENDICOTT, S. J. et al. Inhibition of class I PI3K enhances chaperone-mediated autophagy. v. 219, n. 12, 12 2020. ENGEL, T. et al. Elevated p53 and lower MDM2 expression in hippocampus from patients with intractable temporal lobe epilepsy. v. 77, n. 2-3, p. 151 – 156, 12 2007.

ENGEL, T. et al. Expression of neurogenesis genes in human temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. **International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology**, e-Century Publishing Corporation, v. 3, n. 1, p. 38 – 47, 1 2011. ISSN 1944-8171. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3068852/>.

ERISKEN, S. et al. Time and age dependent regulation of neuroinflammation in a rat model of mesial temporal lobe epilepsy: Correlation with human data. v. 10, 9 2022.

FAHRNER, A. et al. Granule cell dispersion is not accompanied by enhanced neurogenesis in temporal lobe epilepsy patients. v. 203, n. 2, p. 320 – 332, 2 2007.

FAN, Y. et al. miR-15a inhibits cell apoptosis and inflammation in a temporal lobe epilepsy model by downregulating GFAP. v. 22, n. 4, p. 3504 – 3512, 07 2020.

FANG, M. et al. A new hypothesis of drug refractory epilepsy: Neural network hypothesis. v. 76, n. 6, p. 871 – 876, 6 2011.

FONSECA, C. G.; GREEN, C. R.; NICHOLSON, L. F. B. **Interactive report Upregulation in astrocytic connexin 43 gap junction levels may exacerbate generalized seizures in mesial temporal lobe epilepsy**. [S.l.], 2002. 105 – 116 p. Disponível em: www.bres-interactive.com.

FÖRSTER, B. et al. Irregular RNA splicing curtails postsynaptic gephyrin in the cornu ammonis of patients with epilepsy. v. 133, n. 12, p. 3778 – 3794, 12 2010.

FROTSCHER, M.; HAAS, C. A.; FÖRSTER, E. Reelin Controls Granule Cell Migration in the Dentate Gyrus by Acting on the Radial Glial Scaffold. **Cerebral Cortex J**, v. 13, n. 6, 06 06/2023.

FURTINGER, S. Increased expression of γ -aminobutyric acid type B receptors in the hippocampus of patients with temporal lobe epilepsy. 9 2003.

FURTINGER, S. et al. **Plasticity of Y1 and Y2 Receptors and Neuropeptide Y Fibers in Patients with Temporal Lobe Epilepsy**. [S.l.], 2001.

GALANOPOULOU, A. S. et al. Antiepileptogenesis and disease modification: Progress, challenges, and the path forward—Report of the Preclinical Working Group of the 2018 NINDS-sponsored antiepileptogenesis and disease modification workshop. v. 6, n. 2, p. 276 – 296, 6 2021.

GASSEN, K. L. V. et al. Hippocampal Nav $\beta 3$ expression in patients with temporal lobe epilepsy. v. 50, n. 4, p. 957 – 962, 4 2009.

- GASSEN, K. L. V. et al. Possible role of the innate immunity in temporal lobe epilepsy. v. 49, n. 6, p. 1055 – 1065, 6 2008.
- GEHA, S. et al. NG2+/Olig2+ cells are the major cycle-related cell population of the adult human normal brain. v. 20, n. 2, p. 399 – 411, 3 2010.
- GHAFOURI-FARD, S. et al. **Aberrant expression of miRNAs in epilepsy.** 2022. 5057 – 5074 p.
- GHOSH, C. et al. Expression and functional relevance of UGT1A4 in a cohort of human drug-resistant epileptic brains. v. 54, n. 9, p. 1562 – 1570, 9 2013.
- GORTER, J. A. et al. Induction of sodium channel Nax (SCN7A) expression in rat and human hippocampus in temporal lobe epilepsy. v. 51, n. 9, p. 1791 – 1800, 2010.
- GOURMAUD, S. et al. Alzheimer-like amyloid and tau alterations associated with cognitive deficit in temporal lobe epilepsy. v. 143, n. 1, p. 191 – 209, 1 2020.
- GRABENSTATTER, H. L. et al. The effect of STAT3 inhibition on status epilepticus and subsequent spontaneous seizures in the pilocarpine model of acquired epilepsy. v. 62, p. 73 – 85, 2014.
- GRIFFIN, N. G. et al. Differential gene expression in dentate granule cells in mesial temporal lobe epilepsy with and without hippocampal sclerosis. v. 57, n. 3, p. 376 – 385, 3 2016.
- GRIGORENKO, E. et al. **Changes in glutamate receptor subunit composition in hippocampus and cortex in patients with refractory epilepsy.** [S.l.], 1997. 35 – 45 p.
- HAN, Y. et al. Increased expression of calponin-3 in epileptic patients and experimental rats. v. 233, n. 1, p. 430 – 437, 1 2012.
- HANADA, T. **Ionotropic glutamate receptors in epilepsy: A review focusing on ampa and nmda receptors.** 2020.
- HARTZ, A. M. et al. P-gp protein expression and transport activity in rodent seizure models and human epilepsy. v. 14, n. 4, p. 999 – 1011, 4 2017.
- HASHIMOTO, T. et al. Abnormal expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in brain arteriovenous malformations. v. 34, n. 4, p. 925 – 930, 4 2003.
- HE, J. J. et al. Increased expression of interleukin 17 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 298, p. 153 – 159, 9 2016.
- HENDRIKSEN, R. G. et al. Dystrophin distribution and expression in human and experimental temporal lobe epilepsy. v. 10, n. JULY, 7 2016.
- HENSHALL, D. C. et al. **Alterations in bcl-2 and caspase gene family protein expression in human temporal lobe epilepsy.** [S.l.], 2000.
- HENSHALL, D. C. et al. Death-Associated Protein Kinase Expression in Human Temporal Lobe Epilepsy. v. 55, n. 4, p. 485 – 494, 4 2004.
- HESSEL, E. V. et al. Identification of Srp9 as a febrile seizure susceptibility gene. v. 1, n. 4, p. 239 – 250, 4 2014.
- HOOGLAND, G. et al. The expression of the distal dystrophin isoforms Dp140 and Dp71 in the human epileptic hippocampus in relation to cognitive functioning. v. 29, n. 2, p. 102 – 110, 2 2019.

HOSSAIN, M. et al. Heat Shock Proteins Accelerate the Maturation of Brain Endothelial Cell Glucocorticoid Receptor in Focal Human Drug-Resistant Epilepsy. v. 57, n. 11, p. 4511 – 4529, 11 2020.

HOU, X.; WANG, X.; ZHANG, L. Conditional downregulation of brain- derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor B blocks epileptogenesis in the human temporal lobe epilepsy hippocampus. v. 58, n. 1, p. 29 – 34, 1 2010.

HOU, Y. et al. Inhibitor of growth 4 induces NFκB/p65 ubiquitin-dependent degradation. v. 33, n. 15, p. 1997 – 2003, 4 2014.

HU, K. et al. **MicroRNA expression profile of the hippocampus in a rat model of temporal lobe epilepsy and miR-34a-targeted neuroprotection against hippocampal neurone cell apoptosis post-status epilepticus.** [S.I.], 2012. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/13/115>.

HUANG, Y. Up-regulated cytoplasmic FMRP-interacting protein 1 in intractable temporal lobe epilepsy patients and a rat model. v. 126, n. 6, p. 542 – 551, 6 2016.

J.-J, S. et al. The expression of heat shock 27 000 associated protein 1 in the brains of drug-refractory epilepsy. **Chinese Journal of Neurology**, v. 39, n. 8, p. 552 – 555, 2006.

JAFARIAN, M. et al. Cell injury and receptor expression in the epileptic human amygdala. v. 124, p. 416 – 427, 4 2019.

JAMALI, S. et al. Large-scale expression study of human mesial temporal lobe epilepsy: Evidence for dysregulation of the neurotransmission and complement systems in the entorhinal cortex. v. 129, n. 3, p. 625 – 641, 3 2006.

JEONG, K. H. et al. Increased expression of WNK3 in dispersed granule cells in hippocampal sclerosis of mesial temporal lobe epilepsy patients. v. 147, p. 58 – 61, 11 2018.

KAN, A. A. et al. **Protein expression profiling of inflammatory mediators in human temporal lobe epilepsy reveals co-activation of multiple chemokines and cytokines.** [S.I.], 2012. Disponível em: www.brainbank.nl.

KANDRATAVICIUS, L. et al. Distinct increased metabotropic glutamate receptor type 5 (mGluR5) in temporal lobe epilepsy with and without hippocampal sclerosis. v. 23, n. 12, p. 1212 – 1230, 12 2013.

KARLÓCAI, M. R. et al. Enhanced expression of potassium-chloride cotransporter KCC2 in human temporal lobe epilepsy. v. 221, n. 7, p. 3601 – 3615, 9 2016.

KHOKHAR, M.; TOMO, S.; PUROHIT, P. MicroRNAs based regulation of cytokine regulating immune expressed genes and their transcription factors in COVID-19. v. 31, 2 2022.

KIM, G. et al. Genome-wide CRISPR screen reveals v-ATPase as a drug target to lower levels of ALS protein ataxin-2. v. 41, n. 4, 10 2022.

KIM, J. E. et al. Changes in TWIK-related acid sensitive K⁺-1 and -3 channel expressions from neurons to Glia in the hippocampus of temporal lobe epilepsy patients and experimental animal model. v. 36, n. 11, p. 2155 – 2168, 11 2011.

KIM, M. J. et al. CDDO-Me attenuates vasogenic edema and astroglial death by regulating NF-κB p65 Phosphorylations and Nrf2 expression following status epilepticus. v. 20, n. 19, 10 2019. KIM, S. K. et al. Gene expression profile analyses of cortical dysplasia by cDNA arrays. v. 56, n. 2-3, p. 175 – 183, 2003.

KIRMANI, B. Mesial temporal sclerosis. **J. Pediatr. Neuroradiology**, v. 1, n. 1, p. 19 – 24, 01/01/2012.

KITAO, Y. et al. Expression of the endoplasmic reticulum molecular chaperone (GRP78) rescues hippocampal neurons from glutamate toxicity. v. 108, n. 10, p. 1439 – 1450, 2001.

KOROTKOV, A. et al. **Systematic review and meta-analysis of differentially expressed miRNAs in experimental and human temporal lobe epilepsy**. 2017.

KOYAMA, R.; IKEGAYA, Y. Mossy Fiber Sprouting as a Potential Therapeutic Target for Epilepsy. *Current Neurovascular Research*, v. 1, p. 3 – 10, 2004.

KRUGLYAKOVA, E. P. et al. Nestin-Expressing Cells in the Human Hippocampus. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, v. 126, n. 6, p. 19 – 25, 2005.

KWAN, P. et al. Association between temporal lobe P-glycoprotein expression and seizure recurrence after surgery for pharmacoresistant temporal lobe epilepsy. v. 39, n. 2, p. 192 – 197, 8/2010.

LACHOS, J. et al. Characterization of the Gene Expression Profile of Human Hippocampus in Mesial Temporal Lobe Epilepsy with Hippocampal Sclerosis. v. 2011, p. 1 – 11, 3/2011.

LANEROLLE, N. C. de et al. Glutamate receptor subunits GluR1 and GluR2/3 distribution shows reorganization in the human epileptogenic hippocampus. [S.l.], 1998. 1687 – 1703 p.

LAURITZEN, F. et al. Redistribution of monocarboxylate transporter 2 on the surface of astrocytes in the human epileptogenic hippocampus. v. 60, n. 7, p. 1172 – 1181, 7/2012.

LEAL, B. et al. Brain expression of inflammatory mediators in Mesial Temporal Lobe Epilepsy patients. v. 313, p. 82 – 88, 12/2017.

LEE, T. S. et al. GAT1 and GAT3 expression are differently localized in the human epileptogenic hippocampus. v. 111, n. 4, p. 351 – 363, 4/2006.

LEE, T. S. et al. Aquaporin-4 is increased in the sclerotic hippocampus in human temporal lobe epilepsy. v. 108, n. 6, p. 493 – 502, 12/2004.

LEE, T. S. et al. Gene expression in temporal lobe epilepsy is consistent with increased release of glutamate by astrocytes. v. 13, n. 1-2, p. 1 – 13, 1/2007.

LI, J. M. et al. Aberrant glutamate receptor 5 expression in temporal lobe epilepsy lesions. v. 1311, p. 166 – 174, 1/2010.

LI, R. et al. HAP1 Modulates Epileptic Seizures by Regulating GABAAR Function in Patients with Temporal Lobe Epilepsy and in the PTZ-Induced Epileptic Model. v. 45, n. 9, p. 1997 – 2008, 9/2020.

LI, Y. et al. Expression of HIF-1 α and MDR1/P-glycoprotein in refractory mesial temporal lobe epilepsy patients and pharmacoresistant temporal lobe epilepsy rat model kindled by coriaria lactone. v. 35, n. 8, p. 1203 – 1208, 8/2014.

LIE, A. A. et al. **Up-Regulation of the Metabotropic Glutamate Receptor mGluR4 in Hippocampal Neurons with Reduced Seizure Vulnerability**. [S.l.], 2000.

LIEFFERINGE, J. V. et al. Altered vesicular glutamate transporter expression in human temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. v. 590, p. 184 – 188, 3/2015.

- LIN, T. W. et al. **Targeting BDNF/TrkB pathways for preventing or suppressing epilepsy.** 2020a.
- LIN, W. et al. Downregulation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channels (HCN) in the hippocampus of patients with medial temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis (MTLE-HS). v. 30, n. 10, p. 1112 – 1126, 10 2020b.
- LIU, B. et al. Decreased Astroglial Monocarboxylate Transporter 4 Expression in Temporal Lobe Epilepsy. v. 50, n. 2, p. 327 – 338, 10 2014.
- LIU, C. et al. Dysregulation of PINCH signaling in mesial temporal epilepsy. v. 36, p. 43 – 52, 2 2017.
- LIU, G. L. et al. Inositol-requiring protein 1 α signaling pathway is activated in the temporal cortex of patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 34, n. 3, p. 357 – 364, 3 2013.
- LIU, J. Y. et al. Granule Cell Dispersion in Human Temporal Lobe Epilepsy: Proteomics Investigation of Neurodevelopmental Migratory Pathways. v. 14, 3 2020.
- LIU, J. Y. et al. Doublecortin-expressing cell types in temporal lobe epilepsy. v. 6, n. 1, p. 60 –, 7 2018.
- LIU, X. et al. **New differentially expressed genes and differential DNA methylation underlying refractory epilepsy.** [S.l.], 2016. 87402 – 87416 p. Disponível em: www.impactjournals.com/oncotarget.
- LOUP, F. et al. Altered expression of $\alpha 3$ -containing GABAA receptors in the neocortex of patients with focal epilepsy. v. 129, n. 12, p. 3277 – 3289, 12 2006.
- LU, J. et al. Hippocampal neuron loss and astrogliosis in medial temporal lobe epileptic patients with mental disorders. v. 18, n. 2, p. 127 – 132, 6 2019.
- LU, Y. et al. Increased expression of TGF β type I receptor in brain tissues of patients with temporal lobe epilepsy. v. 117, n. 1, p. 17 – 22, 2009.
- LUDÁNYI, A. et al. Downregulation of the CB1 cannabinoid receptor and related molecular elements of the endocannabinoid system in epileptic human hippocampus. v. 28, n. 12, p. 2976 – 2990, 3 2008.
- MARTÍNEZ-LEVY, G. A. et al. Increased expression of BDNF transcript with exon VI in hippocampi of patients with pharmaco-resistant temporal lobe epilepsy. v. 314, p. 12 – 21, 2 2016.
- MARTÍNEZ-LEVY, G. A. et al. Increased Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor Transcripts I and VI, cAMP Response Element Binding, and Glucocorticoid Receptor in the Cortex of Patients with Temporal Lobe Epilepsy. v. 55, n. 5, p. 3698 – 3708, 5 2018.
- MARTINIAN, L. et al. Calbindin D28K expression in relation to granule cell dispersion, mossy fibre sprouting and memory impairment in hippocampal sclerosis: A surgical and post mortem series. v. 98, n. 1, p. 14 – 24, 1 2012.
- MATHERN, G. W. et al. **Human hippocampal AMPA and NMDA mRNA levels in temporal lobe epilepsy patients.** [S.l.], 1997. 1937 – 1959 p.
- MATHERN, G. W. et al. **Hippocampal AMPA and NMDA mRNA levels and subunit immunoreactivity in human temporal lobe epilepsy patients and a rodent model of chronic mesial limbic epilepsy.** [S.l.], 1998. 154 – 171 p.

- MAURER-MORELLI, C. V. et al. A comparison between different reference genes for expression studies in human hippocampal tissue. v. 208, n. 1, p. 44 – 47, 6 2012.
- MAZZUFERI, M. et al. Nrf2 defense pathway: Experimental evidence for its protective role in epilepsy. v. 74, n. 4, p. 560 – 568, 10 2013.
- MILLER-DELANEY, S. F. C. et al. Differential DNA methylation profiles of coding and non-coding genes define hippocampal sclerosis in human temporal lobe epilepsy. Disponível em: www.ebi.ac.uk/.
- MOTA, M. V. B. et al. ATP Synthase Subunit Beta Immunostaining is Reduced in the Sclerotic Hippocampus of Epilepsy Patients. v. 39, n. 1, p. 149 – 160, 1 2019.
- MOURA, J. C. de et al. Amygdala gene expression of NMDA and GABA A receptors in patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 22, n. 1, p. 92 – 97, 1 2012.
- MUÑOZ, A.; ARELLANO, J. I.; DEFELIPE, J. GABABR1 receptor protein expression in human mesial temporal cortex: Changes in temporal lobe epilepsy. v. 449, n. 2, p. 166 – 179, 7 2002.
- MURRAY, K. D. et al. **Altered mRNA Expression for Brain-Derived Neurotrophic Factor and Type II Calcium/Calmodulin-Dependent Protein Kinase in the Hippocampus of Patients With Intractable Temporal Lobe Epilepsy** **Indexing terms:** neurotrophins; type II calcium/calmodulin-dependent protein kinase; isoforms; regulation; plasticity. [S.I.], 2000. 411 – 422 p.
- NABBI, A. et al. ING3 promotes prostate cancer growth by activating the androgen receptor. v. 15, n. 1, 5 2017.
- NAGY, Z.; ESIRI, M. M. **Neuronal Cyclin Expression in the Hippocampus in Temporal Lobe Epilepsy**. [S.I.], 1998.
- NAVARRETE-MODESTO, V. et al. REST/NRSF transcription factor is overexpressed in hippocampus of patients with drug-resistant mesial temporal lobe epilepsy. v. 94, p. 118 – 123, 5 2019.
- NEDER, L. et al. Glutamate NMDA Receptor Subunit R1 and GAD mRNA Expression in Human Temporal Lobe Epilepsy. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 22, p. 689 – 698, 12 12/2022.
- NGUGI, A. K. et al. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: A meta-analytic approach. v. 51, n. 5, p. 883 – 890, 5 2010. NIJS, L. D. et al. DNA methyltransferase isoforms expression in the temporal lobe of epilepsy patients with a history of febrile seizures. v. 11, n. 1, 8 2019.
- NOTENBOOM, R. G. et al. Up-regulation of hippocampal metabotropic glutamate receptor 5 in temporal lobe epilepsy patients. v. 129, n. 1, p. 96 – 107, 2006.
- OH, H. S. et al. Pathophysiologic characteristics of balloon cells in cortical dysplasia. v. 24, n. 2, p. 175 – 183, 2 2008.
- ÖZBAS-GERÇEKER, F. et al. Serial analysis of gene expression in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 138, n. 2, p. 457 – 474, 2006.
- PAJARILLO, E. et al. **The role of astrocytic glutamate transporters GLT-1 and GLAST in neurological disorders:** Potential targets for neurotherapeutics. 2019.
- PAN, Y. et al. Abnormal expression of netrin-G2 in temporal lobe epilepsy neurons in humans and a rat model. v. 224, n. 2, p. 340 – 346, 8 2010.

- PAPAGEORGIOU, I. E. et al. Astrocytic glutamine synthetase is expressed in the neuronal somatic layers and down-regulated proportionally to neuronal loss in the human epileptic hippocampus. v. 66, n. 5, p. 920 – 933, 5 2018.
- PARADISI, M. et al. Ex vivo study of dentate gyrus neurogenesis in human pharmacoresistant temporal lobe epilepsy. v. 36, n. 6, p. 535 – 550, 10 2010.
- PARK, S. A. et al. Chronic activation of CREB and p90RSK in human epileptic hippocampus. **EXPERIMENTAL and MOLECULAR MEDICINE**, v. 35, n. 5, p. 365 – 370, 10 10/2003.
- PARRAS, A. et al. Polyadenylation of mRNA as a novel regulatory mechanism of gene expression in temporal lobe epilepsy. v. 143, n. 7, p. 2139 – 2153, 7 2020.
- PAUL, D. et al. Altered transforming growth factor beta/SMAD3 signalling in patients with hippocampal sclerosis. v. 146, p. 144 – 150, 10 2018.
- PERNHORST, K. et al. TLR4, ATF-3 and IL8 inflammation mediator expression correlates with seizure frequency in human epileptic brain tissue. v. 22, n. 8, p. 675 – 678, 10 2013.
- PERNHORST, K. et al. **Promoter Variants Determine F-Aminobutyric Acid HomeostasisRelated Gene Transcription in Human Epileptic Hippocampi**. [S.I.], 2011. Disponível em: <http://links.lww.com/NEN/A282>.
- PEROSA, S. R. et al. Kinin B1 and B2 receptors are overexpressed in the hippocampus of humans with temporal lobe epilepsy. v. 17, n. 1, p. 26 – 33, 2007.
- PEROSA, S. R. et al. **Glycosaminoglycan levels and proteoglycan expression are altered in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy**. [S.I.], 2002. 509 – 516 p.
- PIRKER, S. et al. Dynamic up-regulation of prodynorphin transcription in temporal lobe epilepsy. v. 19, n. 11, p. 1051 – 1054, 11 2009.
- PIRKER, S. et al. **Increased Expression of GABA A Receptor-Subunits in the Hippocampus of Patients with Temporal Lobe Epilepsy**. [S.I.], 2003. Disponível em: <https://academic.oup.com/jnen/article/62/8/820/2916414>.
- PIRTTILÄ, T. J. et al. Cystatin C expression is associated with granule cell dispersion in epilepsy. v. 58, n. 2, p. 211 – 223, 8 2005.
- POHLENTZ, M. S. et al. Characterisation of NLRP3 pathway-related neuroinflammation in temporal lobe epilepsy. v. 17, n. 8 August, 8 2022.
- PORTER, B. E. et al. Heterogeneous GABAA receptor subunit expression in pediatric epilepsy patients. v. 18, n. 3, p. 484 – 491, 2005.
- PRINCIVALLE, A. P. et al. GABAB1a, GABAB1b and GABAB2 mRNA variants expression in hippocampus resected from patients with temporal lobe epilepsy. v. 122, n. 4, p. 975 – 984, 2003.
- QIAN, X. et al. Proteomic Analysis Reveals the Vital Role of Synaptic Plasticity in the Pathogenesis of Temporal Lobe Epilepsy. v. 2022, 2022.
- RAVIZZA, T. et al. Innate and adaptive immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: Evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy. v. 29, n. 1, p. 142 – 160, 1 2008.
- RIGAU, V. et al. Angiogenesis is associated with blood-brain barrier permeability in temporal lobe epilepsy. v. 130, n. 7, p. 1942 – 1956, 7 2007.

ROCHA, L. et al. Dopamine abnormalities in the neocortex of patients with temporal lobe epilepsy. v. 45, n. 1, p. 499 – 507, 1 2012.

ROGAWSKI, M. A.; JOHNSON, M. R. **CURRENT REVIEW IN BASIC SCIENCE INTRINSIC SEVERITY AS A DETERMINANT OF ANTIEPILEPTIC DRUG REFRACTORINESS.** [S.l.]. 127 – 130 p.

ROSETI, C. et al. Erythropoietin Increases GABAA Currents in Human Cortex from TLE Patients. v. 439, p. 153 – 162, 7 2020.

ROSETI, C. et al. Fractalkine/CX3CL1 modulates GABAA currents in human temporal lobe epilepsy. v. 54, n. 10, p. 1834 – 1844, 10 2013.

ROSSINI, L. et al. Altered layer-specific gene expression in cortical samples from patients with temporal lobe epilepsy. v. 52, n. 10, p. 1928 – 1937, 10 2011.

SALMAN, M. M. et al. Transcriptome analysis suggests a role for the differential expression of cerebral aquaporins and the MAPK signalling pathway in human temporal lobe epilepsy. v. 46, n. 5, p. 2121 – 2132, 9 2017.

SAUVAGEAU, A. et al. Increased Expression of “Peripheral-Type” Benzodiazepine Receptors in Human Temporal Lobe Epilepsy: Implications for PET Imaging of Hippocampal Sclerosis. **Metabolic Brain Disease**, v. 17, p. 3 – 11, 2002.

SCHIJS, O. et al. Hippocampal GABA transporter distribution in patients with temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. v. 68, p. 39 – 44, 10 2015.

SCHUSTER, J. et al. Transcriptomes of Dravet syndrome iPSC derived GABAergic cells reveal dysregulated pathways for chromatin remodeling and neurodevelopment. **Neurobiology of Disease**, 2019.

SEIFERT, G. et al. Enhanced Relative Expression of Glutamate Receptor 1 Flip AMPA Receptor Subunits in Hippocampal Astrocytes of Epilepsy Patients with Ammon’s Horn Sclerosis. v. 24, n. 8, p. 1996 – 2003, 2 2004.

SHA, L. et al. Pharmacological induction of AMFR increases functional EAAT2 oligomer levels and reduces epileptic seizures in mice. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/jci>:

SHA, L. Z. et al. Mapping the spatio-temporal pattern of the mammalian target of rapamycin (mTOR) activation in temporal lobe epilepsy. v. 7, n. 6, 6 2012.

SHANG, W. et al. Expressions of glutathione S-transferase alpha, mu, and pi in brains of medically intractable epileptic patients. v. 9, 7 2008.

SHEILABI, M. A. et al. Quantitative expression and localization of GABAB receptor protein subunits in hippocampi from patients with refractory temporal lobe epilepsy. v. 136, p. 117 – 128, 7 2018.

SIMÕES, P. S. R. et al. Kallikrein 1 is overexpressed by astrocytes in the hippocampus of patients with refractory temporal lobe epilepsy, associated with hippocampal sclerosis. v. 58, n. 4, p. 477 – 482, 3 2011.

SIMÕES, P. S. R. et al. Expression and activity of thimet oligopeptidase (TOP) are modified in the hippocampus of subjects with temporal lobe epilepsy (TLE). v. 55, n. 5, p. 754 – 762, 2014.

SPERK, G. et al. Glutamate decarboxylase 67 is expressed in hippocampal mossy fibers of temporal lobe epilepsy patients. v. 22, n. 3, p. 590 – 603, 3 2012.

- STEFANITS, H. et al. Alterations in GABAA receptor subunit expression in the amygdala and entorhinal cortex in human temporal lobe epilepsy. v. 78, n. 11, p. 1022 – 1048, 11 2019.
- STOFFEL-WAGNER, B. et al. Allopregnanolone serum levels and expression of 5 α -reductase and 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms in hippocampal and temporal cortex of patients with epilepsy. v. 54, n. 1, p. 11 – 19, 4 2003.
- SUN, F. J. et al. Increased expression of TRPV1 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 49, n. 1, p. 182 – 193, 1 2013.
- SUN, F. J. et al. Elevated Expression of VEGF-C and Its Receptors, VEGFR-2 and VEGFR-3, in Patients with Mesial Temporal Lobe Epilepsy. v. 59, n. 2, p. 241 – 250, 6 2016.
- T., E. et al. Loss of glutamine synthetase in the human epileptogenic hippocampus: possible mechanism for raised extracellular glutamate in mesial temporal lobe epilepsy. Lancet, v. 363, n. 363, p. 28 – 37, 01 01/2004.
- TAKAHASHI, M. et al. **Patients with temporal lobe epilepsy show an increase in brain-derived neurotrophic factor protein and its correlation with neuropeptide Y.** [S.I.].
- TALOS, D. M. et al. Mechanistic target of rapamycin complex 1 and 2 in human temporal lobe epilepsy. v. 83, n. 2, p. 311 – 327, 2 2018.
- TEOCCHI, M. A.; D'SOUZA-LI, L. Apoptosis through Death Receptors in Temporal Lobe Epilepsy-Associated Hippocampal Sclerosis. v. 2016, 2016.
- TEOCCHI, M. A. et al. **Hippocampal gene expression dysregulation of Klotho, nuclear factor kappa B and tumor necrosis factor in temporal lobe epilepsy patients.** [S.I.], 2013a. Disponível em: www.graphpad.com.
- TEOCCHI, M. A. et al. **Hippocampal gene expression dysregulation of Klotho, nuclear factor kappa B and tumor necrosis factor in temporal lobe epilepsy patients.** [S.I.], 2013b. 3 – 7 p. Disponível em: www.graphpad.com.
- TISHLER, D. M. et al. **MDRI Gene Expression in Brain of Patients with Medically Intractable Epilepsy.** [S.I.], 1995. 1 – 6 p.
- TOSCANO, E. C. de B. et al. NLRP3 and NLRP1 inflammasomes are up-regulated in patients with mesial temporal lobe epilepsy and may contribute to overexpression of caspase-1 and IL- β in sclerotic hippocampi. v. 1752, 2 2021. T
- RINH, D. A. et al. Inhibitor of Growth 4 (ING4) is a positive regulator of rRNA synthesis. v. 9, n. 1, 12 2019.
- UPADHYA, R. et al. Extracellular vesicles from human iPSC-derived neural stem cells: miRNA and protein signatures, and anti-inflammatory and neurogenic properties. v. 9, n. 1, 1 2020.
- UYVAL, H. et al. **Is the Cell Death in Mesial Temporal Sclerosis Apoptotic?** [S.I.], 2003. 778 – 784 p.
- VALMIKI, R. R. et al. Phosphoproteomic analysis reveals Akt isoform-specific regulation of cytoskeleton proteins in human temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: Akt isoforms in Temporal lobe epilepsy. v. 134, 3 2020.
- VENUGOPAL, A. K. et al. Transcriptomic profiling of medial temporal lobe epilepsy. v. 5, n. 2, p. 31 – 39, 2012.

VLIET, E. A. V. et al. Decreased expression of synaptic vesicle protein 2A, the binding site for levetiracetam, during epileptogenesis and chronic epilepsy. v. 50, n. 3, p. 422 – 433, 3 2009.

VOLLMAR, W. et al. RNA editing (R/G site) and flip-flop splicing of the AMPA receptor subunit GluR2 in nervous tissue of epilepsy patients. v. 15, n. 2, p. 371 – 379, 3 2004.

WANG, C. et al. Higher expression of monocyte chemoattractant protein 1 and its receptor in brain tissue of intractable epilepsy patients. v. 28, p. 134 – 140, 6 2016.

WANG, G. et al. Involvement of hypoxia-inducible factor-1 alpha in the upregulation of P-glycoprotein in refractory epilepsy. v. 30, n. 17, p. 1191 – 1196, 12 2019.

WANG, L. et al. Up-regulation of serum- and glucocorticoid-induced protein kinase 1 in the brain tissue of human and experimental epilepsy. v. 57, n. 8, p. 899 – 905, 12 2010.

WEIDNER, L. D. et al. The expression of inflammatory markers and their potential influence on efflux transporters in drug-resistant mesial temporal lobe epilepsy tissue. v. 59, n. 8, p. 1507 – 1517, 8 2018.

WICKERT, L. et al. **Differential mRNA Expression of the Two Mineralocorticoid Receptor Splice Variants Within the Human Brain: Structure Analysis of their Different DNA Binding Domains.** [S.I.], 2000. 867 – 873 p.

WIESER, H. Mesial Temporal Lobe Epilepsy with Hippocampal Sclerosis. **Epilepsy**, n. 45, p. 695 – 714. ISSN 10.1111/j.0013-9580.2004.09004.x.

WILLIAMS, S. et al. Neurovascular Drug Biotransformation Machinery in Focal Human Epilepsies: Brain CYP3A4 Correlates with Seizure Frequency and Antiepileptic Drug Therapy. v. 56, n. 12, p. 8392 – 8407, 12 2019.

WU, Y. et al. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 in brain tissue of patients with intractable epilepsy. [S.I.]. WU, Y. et al. Expression of laminin β 1 and integrin α 2 in the anterior temporal neocortex tissue of patients with intractable epilepsy. v. 121, n. 6, p. 323 – 328, 6 2011.

WU, Y. et al. Expression of laminin β 1 in hippocampi of patients with intractable epilepsy. v. 443, n. 3, p. 160 – 164, 10 2008.

X.D, C. et al. Anomalous expression of chloride transporters in the sclerosed hippocampus of mesial temporal lobe epilepsy patients. **NEURAL REGENERATION RESEARCH**, v. 8, n. 6, p. 561 – 568, 2013.

XIANG, T. et al. Klotho alleviates NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation in a temporal lobe epilepsy rat model by activating the Nrf2 signaling pathway. v. 128, 3 2022.

XIAO, Z. et al. Interleukin-1 β Plays a Pivotal Role via the PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in the Chronicity of Mesial Temporal Lobe Epilepsy. v. 23, n. 5-6, p. 332 – 344, 5 2017.

XIAO, Z. et al. Interleukin-1 β plays a role in the pathogenesis of mesial temporal lobe epilepsy through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in hippocampal neurons. v. 282, p. 110 – 117, 5 2015.

XU, S. et al. Neuronal apoptosis in the resected sclerotic hippocampus in patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 14, n. 9, p. 835 – 840, 9 2007.

XU, X. et al. Increased expression of receptor for activated C kinase 1 in temporal lobe epilepsy. v. 133, n. 1, p. 134 – 143, 2015.

YANG, J. W. et al. Aberrant expression of cytoskeleton proteins in hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 30, n. 4, p. 477 – 493, 6 2006.

YANG, J. W. et al. Aberrant cytosolic acyl-CoA thioester hydrolase in hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy. v. 27, n. 3-4, p. 269 – 275, 12 2004.

YANG, T. et al. Heat shock protein 70 expression in epilepsy suggests stress rather than protection. v. 115, n. 2, p. 219 – 230, 2 2008.

YING, Z. et al. Induced expression of NMDAR2 proteins and differential expression of NMDAR1 in dysplastic neurons of human epileptic neocortex. **JOURNAL OF NEUROPATHOLOGY AND EXPERIMENTAL NEUROLOGY**, v. 57, n. 1, p. 47 – 62, 01 01/1998.

YING, Z. et al. Growth-associated protein 43 and progressive epilepsy in cortical dysplasia. v. 1, n. 7, p. 453 – 461, 7 2014.

ZENG, L. H.; RENSING, N. R.; WONG, M. The mammalian target of rapamycin signaling pathway mediates epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy. v. 29, n. 21, p. 6964 – 6972, 5 2009.

ZHANG, H. et al. The effect of miR-146a gene silencing on drug-resistance and expression of protein of P-gp and MRP1 in epilepsy. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**, v. 22, n. 8, p. 2372 – 2379, 2018.

ZHANG, W. et al. Differential DNA Methylation Profiles in Patients with Temporal Lobe Epilepsy and Hippocampal Sclerosis ILAE Type I. v. 71, n. 9, p. 1951 – 1966, 9 2021.

ZHANG, Y. et al. Proteomic profiling of sclerotic hippocampus revealed dysregulated packaging of vesicular neurotransmitters in temporal lobe epilepsy. v. 166, 10 2020.

ZHANG, Y. et al. Repetitive elements and enforced transcriptional repression co-operate to enhance DNA methylation spreading into a promoter CpG-island. **Nucleic Acids Research**, Oxford University Press, v. 40, n. 15, p. 7257 – 7268, 8 2012. ISSN 0305-1048. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3424568/>.

ZHAO, J. et al. Deamidation Shunts RelA from Mediating Inflammation to Aerobic Glycolysis. v. 31, n. 5, p. 937 – 955.e7, 5 2020.

ZYBURA-BRODA, K. et al. Epigenetics of epileptogenesis-evoked upregulation of matrix metalloproteinase-9 in hippocampus. v. 11, n. 8, 8 2016

Apêndices

Lack of association between *COMT* Val158met polymorphism and Juvenile Myoclonic Epilepsy

I.L Silva¹, B.P Santos¹, E.D Santos Júnior¹, Y.D Santos¹, G.F.C Santos¹, D.H Almeida¹, M.A Araújo¹

¹Department of Cellular and Molecular Biology,
Federal University of Alagoas/Institute of Biological Sciences and Health/Maceió,
Alagoas, Brazil.

Abstract

Juvenile myoclonic epilepsy (JME) is the most common genetic generalized epilepsy, representing 5% to 10% of all epilepsies. The genetic component is an important factor in the etiology of JME, which may show Mendelian or genetically complex inheritance. Therefore, the identification of susceptibility genes for JME has aroused the interest of researchers. In this context, the gene encoding for the enzyme Catecholamine O-methyl Transferase (*COMT*), whose function is the deactivation of catecholamines in the synaptic cleft, is a strong candidate. The dysregulation of these neurotransmitters may contribute to the generation and modulation of seizures. Thus, the objective of this case/control study is to investigate whether the *COMT* val158met polymorphism (rs4680) is associated with JME. Genotyping of 96 patients and 200 controls was performed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) and the statistical analyzes were done through the SNPStats platform. No significant differences were observed in the genotype and allele frequencies of this polymorphism between cases and controls. The results present no evidence for an association of *COMT* val158met with JME. Further studies including other functional polymorphisms are required to investigate the involvement of *COMT* gene in the genetic susceptibility to JME.

Keywords: *COMT*, polymorphism, juvenile myoclonic epilepsy.

1. Introduction

Juvenile myoclonic epilepsy (JME) is the most common form of genetic generalized epilepsy. The

frequency of JME is 5-10% of all people with epilepsy] (Jallon et al., 2005). JME typically manifests during adolescence and is characterized by arrhythmic myoclonic seizures, also experiencing generalized tonic-clonic seizures (GTCS) and, less often, absence seizures (ILAE., 1989).

JME have a complex genetic inheritance, making it difficult to identify susceptibility genes. In complex disorders such as these, interactions between different susceptibility genes may predispose to disease. A specific set of alleles in each determines the genetic threshold of susceptibility to a particular condition. In general, individuals with a high susceptibility threshold to epilepsy do not present epileptic seizures even when exposed to epileptogenic disorders or precipitating factors of seizures. On the other hand, individuals with low susceptibility threshold present chronic or reactive seizures when exposed, respectively, to epileptogenic disorders or precipitating factors of seizures. In order to obtain a synthetic view of the process of epileptogenesis, based on the above discussion, we can infer that epileptogenic disorders and precipitating factors, in a facilitating genetic environment, induce alterations in specific molecular pathways, which interfere, directly or indirectly, in the cerebral circuits, and may lead to the onset of epileptic seizures (Gitai et al., 2008).

Thus, the identification of susceptibility genes helps to understand the genetic mechanisms involved in epilepsy. *COMT* is an essential gene controlling neural activity. This enzyme catalyzes the transfer of a methyl grouping of S-adenosylmethionine to catecholamines, which include dopamine, epinephrine, and norepinephrine. This mechanism interrupts the synaptic transmission exerted by these neurotransmitters. As epilepsy is related to

Clinical and genetic aspects of CADASIL syndrome: A systematic review

Mayse Fagundes^{1*}; Dalton Matos²; Wandklebson da Paz³; Andressa Silva⁴; Diogo Brandão⁵; Valéria Sotero⁶; José Alfredo Junior⁶ and Delma de Almeida⁷

^{1*} Graduation in Biology, Universidade Estadual de Alagoas, Santana do Ipanema, Alagoas, Brazil

² Graduate Program in Biotechnology, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brazil.

³ Graduate Program in Tropical Medicine, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

⁴ Graduation in Biology, Universidade Estadual de Alagoas, Santana do Ipanema, Alagoas, Brazil

⁵ Graduate Program in Health Sciences, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas, Brazil

⁶ Department of Biologia, Centro Universitário Cesmac, Alagoas, Brazil

⁷ Department of Biologia, Universidade Estadual de Alagoas, Santana do Ipanema, Alagoas, Brazil.

***Corresponding author: Mayse da Silva Fagundes. Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Alagoas, Santana do Ipanema, Alagoas, Brazil. CEP: 57500-000. E-mail: maysefagundes@hotmail.com**

Abstract

CADASIL is a hereditary cerebrovascular disease, caused by mutations in the NOTCH3 gene that leads to an increased number of cysteines, causing incorrect folding and aggregation in the walls of small cerebral vessels, which result in several clinical characteristics related to the disease. The objective of this study was to identify, through a systematic review, the mutations and polymorphisms involved with the disease and its main clinical characteristics. For this it was necessary to register the review in PROSPERO and then search the data platforms Pubmed, Embase, Scopus, Scielo and

Cochrane library with the descriptors "Cognitive Dysfunction" AND "CADASIL"; "Migraine" AND "CADASIL"; "Disorder Moods" AND "CADASIL"; "NOTCH3" AND "CADASIL"; "Stroke" AND "CADASIL". All steps of the review were independently carried out by two researchers. After data extraction the main clinical features related to CADASIL disease were Migraine, TIA/stroke, cognitive impairment, psychiatric disorders, ischemic stroke, migraine with aura, cerebral hemorrhaging, seizures, motor syndrome, and headache. The databases analyzed described 37 mutations, all in the NOTCH3 gene. Thus, through