

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MARIA JORDANA CAVALCANTI SANTOS

Avaliação do efeito do Solutol® H15 no perfil das crises recorrentes e espontâneas
em modelo experimental de epilepsia do lobo temporal

Maceió
2022

MARIA JORDANA CAVALCANTI SANTOS

Avaliação do efeito do Solutol® H15 no perfil das crises recorrentes e espontâneas em modelo experimental de epilepsia do lobo temporal

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas como requisito básico para a conclusão do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador prof. Dr. Daniel Leite Goés Gitai
Co- Orientador (a) Msc. Carmem Lúcia Arroxelas

Maceió

2022

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

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S237a Santos, Maria Jordana Cavalcanti.
Avaliação do efeito do Solutol® H15 no perfil das crises recorrentes e espontâneas em modelo experimental de epilepsia do lobo temporal / Maria Jordana Cavalcanti Santos. – Maceió, 2022.
32 f. : il.

Orientador: Daniel Leite Goés Gitaí.

Co-orientadora: Carmem Lúcia Arroxelas.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas: licenciatura) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 28-31.

Anexos: f. 32.

1. Epilepsia - Tratamento. 2. Solutol® H15. 3. Convulsões. I. Título.

CDU: 615.213

Folha de Aprovação

MARIA JORDANA CAVALCANTI SANTOS

Avaliação do efeito do Solutol® H15 no perfil das crises recorrentes e espontâneas em modelo experimental de epilepsia do lobo temporal

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas como requisito básico para a conclusão do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador prof. Dr. Daniel Leite Goés Gitaí
Co- Orientador (a) Msc. Carmem Lúcia Arroxelas

Documento assinado digitalmente
 DANIEL LEITE GOES GITAI
Data: 30/03/2023 10:01:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Daniel Leite Goés Gitaí (Orientador)
Universidade Federal de Alagoas

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 OLAGIDE WAGNER DE CASTRO
Data: 29/03/2023 18:06:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dra. Olagide Wagner de Castro
Universidade Federal de Alagoas

Documento assinado digitalmente
 DELMA HOLANDA DE ALMEIDA
Data: 13/03/2023 21:12:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Msc. Delma Holanda de Almeida
Centro Universitário CESMAC

Dedico esse trabalho aos pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal,
Ao meu melhor amigo Endysson e Meu avô Amaro Cavalcanti (In memoriam);
E a minha família, amigos e professores.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, toda honra e toda a glória são dele em minha vida, obrigada minha Mãe Aparecida por teu colo e proteção nunca ter me faltado durante essa trajetória.

A meu pai Carlos, minha mãe Mércia, minha irmã Maria Clara e minhas avós Josefa e Hiolanda por serem meu alicerce e fontes de amor e cuidado durante esse tempo, sem vocês eu não conseguiria chegar a lugar nenhum. Todo meu amor e gratidão a vocês.

Ao meu orientador prof. Dr. Daniel Gitaí, que me deu a oportunidade de fazer parte do grupo de pesquisa e me tornar pesquisadora. Obrigada por todos os ensinamentos e pela paciência. Com certeza levarei seus conselhos para a minha trajetória pessoal e profissional.

A minha co-orientadora e amiga Carmem Arroxelas, obrigada por ser minha inspiração como mulher, pesquisadora, professora e amiga, com você aprendi que além do olhar científico preciso ter olhar humano e que nunca devemos desistir do que sonhamos. Obrigada por tudo!

Aos meus amigos do laboratório de Biologia Celular e Molecular, Delma Almeida, Mykaella Araujo, Wanessa Pereira, Gabriele Fernanda, Pedro Augusto, Junior Davi, Karla Ferreira, Igor Daniel, Érico, Dhennyfer e Jessica, a todos vocês minha eterna gratidão pelos momentos que passamos juntos, tornando a rotina científica mais leve e divertida.

Aos meus amigos de graduação Luiz Henrique, Andressa Cristhyne, Josefa Caroline, e Daniel com certeza eu não teria chegado até aqui sem a ajuda de vocês, todas as noites de provas e estágios seriam mais difíceis. Gratidão!

Aos meus amigos de vida, Carla Gusmão, Brenda Fragoso, Nayara Araújo, Sofia Vieira, Alice Lira, Rafaela Oliveira, Rebeca Almeida, Loan Oliveira, Sheila Vasconcelos, Monyque Alves, Andresa Silva, Larissa Santana, Luana Menezes, Rafael Dourado, Alicia Gabriele e a todos que não consegui mencionar mais que de certa forma fizeram parte da minha trajetória, obrigada pelo apoio infinito e por entenderem a minha ausência! Amo vocês.

Aos meus professores da graduação, a professora Dr. Nívea Macedo que me orientou na monitoria, obrigada por me direcionar como aluna e mulher na educação. Aos funcionários do Icbs que sempre estavam dispostos a ajudar, meu eterno carinho e gratidão.

Aos meus filhos do coração, Oliver Matheus e Maria Beatriz, que nem imaginam o quanto foram essenciais nos meus dias difíceis. Amo infinitamente vocês.

E, por fim, a todos que me ajudaram nessa trajetória da graduação!

Endysson e Vô Amaro, essa vitória é nossa!

“Nada na vida deve ser temido, é apenas para ser entendido. Agora é hora de entender mais, para que possamos ter menos medo.”

(Marie Curie)

RESUMO

A epilepsia é um distúrbio neurológico caracterizado pela presença de crises epiléticas recorrentes e espontâneas (CREs), acometendo aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo. A Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) é a de maior prevalência na população adulta e possui um elevado índice de refratariedade (40%) no tratamento farmacológico. Portanto, faz-se necessário a urgência do desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para a ELT. O Solutol HS 15 (SOL) é uma substância sintética utilizada como veículo de fármacos não solúveis em meio aquoso e têm apresentado efeitos na eletrofisiologia celular (inibindo transportadores e canais iônicos de membrana) e na neuroproteção contra isquemia cerebral focal e global. Nosso grupo de pesquisa, por meio de estudos prévios, observou que o pré-tratamento com SOL promove redução no perfil das crises convulsivas durante o Status epilepticus. O presente estudo objetivou avaliar se o tratamento com SOL diminui as crises convulsivas espontâneas, presentes na fase crônica da epilepsia. Para isso, utilizamos ratos machos *Wistar* submetidos a indução do *status epilepticus* (SE) com administração de Li-PiLO (127mg/kg), onde os animais foram vídeo - monitorados 24 horas ao dia para detecção das crises espontâneas e recorrentes (CREs). Os animais epiléticos foram então submetidos ao tratamento com solutol (N=10, 2mL/Kg de SOL diluído em solução salina a 0,9% (45%/55%, v/v, respectivamente)) ou salina durante 15 dias. Durante todo o processo, os animais permaneceram sob videomonitoramento para avaliação e quantificação das crises epiléticas, conforme a escala de Racine. A análise estatística foi realizada por teste T não paramétrico, comparando o perfil das crises antes do tratamento com o perfil durante ou após o tratamento, utilizando o programa GraphPad, Prism 7.0. Observamos que 70 % dos animais submetidos ao tratamento com SOL tiveram o número de crises significativamente reduzidos. A análise da gravidade das crises revelou que essa redução ocorreu nas crises generalizadas de nível 3 e 4, conforme escala de Racine. Os animais tratados com salina não apresentaram uma redução significativa das crises durante o tratamento. Além do mais, observamos que após a descontinuidade do tratamento, as crises retornam a frequência observada antes do tratamento. Assim, o SOL apresenta efeito anticonvulsivante nas crises espontâneas e recorrentes e a interrupção do tratamento gera um retorno do aumento da atividade convulsiva.

Palavras-chaves: Epilepsia, Solutol® HS 15, Crises Espontâneas e Recorrentes, Tratamento.

ABSTRACT

Epilepsy is a neurological disorder characterized by the presence of recurrent and spontaneous epileptic seizures (SRCs), affecting approximately 50 million people worldwide. Temporal Lobe Epilepsy (TLE) is the most prevalent in the adult population and has a high refractoriness rate (40%) in pharmacological treatment. Therefore, it is urgent to develop new therapeutic alternatives for TLE. Solutol HS 15 (SOL) is a synthetic substance used as a vehicle for drugs that are not soluble in aqueous media and has shown effects on cell electrophysiology (inhibiting transporters and membrane ion channels) and on neuroprotection against focal and global cerebral ischemia. Our research group, through previous studies, observed that pre-treatment with SOL promotes a reduction in the profile of seizures during Status epilepticus. The present study aimed to evaluate whether treatment with SOL decreases spontaneous seizures, present in the chronic phase of epilepsy. For this, we used male Wistar rats submitted to induction of status epilepticus (SE) with administration of Li-PILO (127mg/kg) , where the animals were video - monitored 24 hours a day to detect spontaneous and recurrent seizures (SRCs). The epileptic animals were then submitted to treatment with solutol (N=10, 2mL/Kg of SOL diluted in 0.9% saline solution (45%/55%, v/v, respectively)) or saline solution for 15 days. During the entire process, the animals remained under video monitoring for evaluation and quantification of epileptic seizures, according to Racine's scale. Statistical analysis was performed by non-parametric T-test, comparing the profile of seizures before treatment with the profile during or after treatment, using the GraphPad program, Prism 7.0. We observed that 70% of the animals submitted to treatment with SOL had the number of seizures significantly reduced. The analysis of seizure severity revealed that this reduction occurred in generalized seizures of levels 3 and 4, according to Racine's scale. Animals treated with saline did not show a significant reduction in seizures during treatment. Furthermore, we observed that after discontinuing treatment, seizures returned to the frequency observed before treatment. Thus, SOL has an anticonvulsant effect on spontaneous and recurrent seizures, and interruption of treatment generates a return of increased seizure activity.

Keywords: Epilepsy, Solutol® HS 15, Spontaneous and recurrent seizures, Treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do Solutol® HS 15.

Figura 2 – Delineamento Experimental do tratamento com Solutol HS 15 na fase crônica da epileptogênese.

Figura 3 – Análise do total das crises do grupo salina entre as três fases de tratamento.

Figura 4 – Análise do total das crises nível 3,4 e 5 do grupo salina entre as três fases de tratamento.

Figura 5 – Análise do total das crises do grupo solutol entre as três fases de tratamento

Figura 6 – Análise do total das crises nível 3,4 e 5 do grupo solutol entre as três fases de tratamento.

Figura 7 – Análise do total das crises e total em animais do grupo Solutol que mostraram redução de crises durante o tratamento

Figura 8 – Análise do total de crises nível 3,4 e 5 em animais do grupo Solutol que mostraram redução de crises durante o tratamento

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Modelo experimental de epilepsia do lobo temporal por pilocarpina.

Tabela 2. Caracterização comportamental dos níveis de crises epiléticas em modelo animal segundo a escala de Racine (1972).

Tabela 3. Divisão dos Grupos Experimentais e identificação dos animais.

Tabela 4 - Comparações das fases do tratamento nos grupos Solutol e Salina.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA: Comissão de Ética de Uso de Animais

CREs: Crises Epilépticas Espontâneas e Recorrentes

ELT: Epilepsia do Lobo Temporal

ELTL: Epilepsia do Lobo Temporal Lateral

ELTM: Epilepsia do Lobo Temporal Mesial

FAE: Fármaco Antiepiléptico

GP-P: Glicoproteína - P

I.H.: Intra-hipocampal

ILAE: Liga Internacional Contra Epilepsia

I.P.: Intraperitoneal

IPIs: Incidentes Precipitantes Iniciais

Li: Lítio

PILO: Pilocarpina

Li-PILO: Lítio-Pilocarpina

SAL: Salina

SE: Status Epilepticus

SNC: Sistema Nervoso Central

SOL: Solutol® HS 15

OCT: Transportador de cátion orgânico

OATO: polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos

NTCP: proteínas co-transportadoras de Na⁺ dependente como taurocolato

PEPT: Transportador de polipeptídeo

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 12 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 14 |
| 2.1 História da epilepsia | 14 |
| 2.2 Epilepsia do lobo temporal..... | 15 |
| 2.3 Modelo experimental de epilepsia do lobo temporal. | 15 |
| 2.4 Tratamento Farmacológico | 16 |
| 2.5 Solutol HS 15..... | 17 |
| 3. OBJETIVOS | 19 |
| 3.1. Objetivo geral..... | 19 |
| 3.2. Objetivos específicos | 19 |
| 4. METODOLOGIA | 20 |
| 4.1 Ambientação animal | 20 |
| 4.2 Indução do <i>Status Epilepticus (SE)</i> | 20 |
| 4.3 Vídeo – monitoração e confirmação das CREs..... | 20 |
| 4.4 Divisão dos grupos experimentais..... | 21 |
| 4.5 Tratamento com Solutol HS 15..... | 21 |
| 4.6 Análise das crises na fase crônica da epileptogênese | 22 |
| 4.7 Análise Estatística..... | 22 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 23 |
| 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 27 |
| 7. REFERÊNCIAS | 28 |
| ANEXO | |

1. INTRODUÇÃO

A epilepsia é uma condição neurológica caracterizada pela predisposição permanente do cérebro em gerar crises epiléticas espontâneas e recorrentes que decorrem da atividade neuronal excessiva ou síncrona (SCHENKEL, 2011; YACUBIAN E KOCHEN, 2014). Estima-se que a epilepsia afeta mais de 60 milhões de pessoas em todo o mundo, aparecendo entre as condições cerebrais mais comuns (BURNEO *et al.*, 2005; FIEST *et al.*, 2017). Etiologicamente, as epilepsias são classificadas em genéticas, estruturais, infecciosas, imunológicas e de causas desconhecidas (BALESTRINI, 2021). Nas epilepsias estruturais, há lesões no Sistema Nervoso Central (SNC), a exemplo de traumatismo craniano, isquemias cerebrais, tumor cerebral e *status epilepticus* (SE). A Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) é o tipo predominante na população adulta, afetando aproximadamente 50 milhões de pessoas no mundo (BERG *et al.*, 2010).

Na ELT, o insulto epileptogênico (ex.: convulsão febril, acidente vascular encefálico, traumatismo craniano, isquemia cerebral e SE) causa modificações progressivas e permanentes na fisiologia de estruturas do sistema límbico, culminando a formação de circuitarias neurais suscetíveis a gerar as CREs (GRABENSTATTER, 2005). Esse processo, denominado de epileptogênese, está acompanhado de reorganização da expressão gênica, neuroinflamação aguda e crônica, neurogênese aberrante, astrogliose e neurodegeneração (LEITE *et al.*, 1998; GARCÍA-GARCÍA *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2007; VEZZANI *et al.*, 2011).

O estudo da epileptogênese tem sido realizado em modelos animais por meio, por exemplo, da indução do SE a partir da administração sistêmica ou local de substâncias convulsivantes, como a pilocarpina (PILO) ou o ácido caínico (CAVALHEIRO *et al.*, 1982). Além disso, a pré-administração de outras drogas, como o Cloreto de Lítio (Li) auxilia na potencialização da PILO, pois aumenta a concentração de receptores dopaminérgicos e colinérgicos muscarínicos na superfície das células, o que implica a diminuição da dosagem de PILO (modelo experimental de ELT induzido por Lítio-Pilocarpina (Li-PILO)), e por conseguinte, da letalidade decorrente do SE (DE BRUIN *et al.*, 2000). Sendo um modelo experimental muito usado para a prospecção de novos fármacos antiepiléticos.

O tratamento da epilepsia tem como objetivo controlar totalmente as crises. Na ELT, a primeira forma de tratamento é com a administração de Fármacos Antiepiléticos (FAEs),

em que 47% dos pacientes respondem ao tratamento baseado em um único FAE; e 13% baseados no uso de um segundo FAE (politerapia) (ELGER *et al.*,1999). Por outro lado, aproximadamente 40% dos pacientes não respondem ao tratamento farmacológico - mesmo em regime politerápico-, sendo definidos como pacientes refratários ou farmacorresistentes (BOHOSOVA *et al.*,2021). Assim, torna-se evidente, a urgência por novas terapias, com substâncias naturais ou sintéticas capazes de promover um tratamentofarmacológico mais eficaz, efetivo e seguro.

O Solutol® HS 15 (SOL) é sintetizado pela reação química entre o ácido 12-hidroxiesterárico e o polietilenoglicol que forma o ácido 12-hidroxiesteárico polioxetilado ou SOL. Esta substância possui alta solubilidade e estabilidade em solução aquosa, sendo utilizado clinicamente como agente emulsionante e solubilizador não iônico de drogas, a exemplo de vitaminas, miconazol, alfaxalona, nifedipina, piroxicam (KU; VELAGALETI, 2010). Entretanto, embora os excipientes farmacêuticos sejam caracterizados como inertes, estudos mostraram que o SOL possui efeitos biológicos, caracterizados por levar a inibição de transportadores de cátions orgânicos (OTC 1-3) e os transportadores de oligopeptídeos (PEPT 1 e 2) (OTTER *et al.*, 2017). Nesse sentido, foi reportado que nanocápsulas lipídicas contendo SOL interferem na sinalização celular de cálcio no cérebro, pois são responsáveis em inibir o transporte de cálcio por meio de canais ativados por hiperforina em células neurais (CHAUVET *et al.*, 2015). Além disso, Lin e colaboradores (2014) relataram que o pré-tratamento e tratamento (i.p) com SOL em ratos confere neuroproteção hipocampal em modelo de isquemia cerebral focal e global. Ademais, estudos prévios realizados por nosso grupo de pesquisa mostraram que o pré-tratamento com 1µL de SOL diluído em solução salina (SAL) (30%/70%, SOL/SAL, respectivamente) pela via intrahipocampal (i.h) promoveu uma diminuição de 61% no total das crises convulsivas durante o SE. Observamos também que esse efeito anticonvulsivante ocorre independente da via de administração, uma vez que, a administração de solutol (2mL/Kg, 1h antes da indução) pela via intraperitoneal (i.p) reduziu em 31,5% o total das crises durante o SE.

Neste Trabalho de Conclusão de Curso testamos a hipótese de que Solutol® HS 15 apresenta efeito anticonvulsivante no período crônico da epileptogênese, onde os animais apresentam as CREs, ampliando os achados acerca de novas terapias eficazes e seguras para a ELT.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. História da Epilepsia

Epilepsia é uma palavra de origem grega *epilambaneim*, que significa ser dominado, invadido ou possuído (FERNANDES; LI, 2006), onde a própria definição da palavra resulta em um certo tipo de aversão à doença, contribuindo para seu histórico de mitos, superstições e preconceitos.

Na Grécia Antiga, a epilepsia era considerada *morbus sacer* (doença sagrada), acreditava – se que era uma possessão divina, pois a convulsão era resultado do contato dos Deuses com o indivíduo. Em contrapartida, na Roma antiga a epilepsia era considerada uma doença contagiosa, onde as pessoas eram excluídas da sociedade. Na Idade Média, a epilepsia era vista como *morbus demoniacus* (doença do demônio), excluindo as pessoas que tinham a doença da igreja, pois sua condição era um ato profano à Deus (YACUBIAN, 2000). Ainda nesse período, alguns médicosdesconfiavam que a contaminação era por meio do ar e esse pensamento permaneceu ainda no início do século XX, quando foi produzida uma vacina para a erradicação de um microrganismo que seria o agente da epilepsia, o *Bacillus epilepticus* (YACUBIAN, 2000).

Alguns pensadores da época também definiram a epilepsia. Hipócrates acreditava que a epilepsia não estava atrelada a questões divinas e sim, que era uma doença de causas naturais (GOMES, 2006),e o cérebro era o responsável pela patologia. Anos depois, Galeno confirmou que se tratava de uma doença cerebral e a dividiu em dois tipos: de causas desconhecidas e as que eram resultado de outras doenças (DREIFUSS, 1996).

Durante os séculos XVIII e XIX surgiram as teorias mais modernas sobre as causas da epilepsia (GOMES 2006), quando diversos estudiosos sugeriram hipóteses e teorias para explicar os processos relacionados à epilepsia (MAGIORKINIS *et al*, 2011). Considerado como o pai da epilepsia, John Hughlings Jackson, escreveu que as crises epilépticas se originavam no córtex cerebral como resultado de uma “descarga” de energia nos neurônios corticais. De acordo com essa teoria, uma convulsão era um sintoma que acontece posteriormente uma descarga desordenada, em excesso e ocasional do tecido nervoso nos músculos. O trabalho de Jackson foi continuado por seus seguidores, que confirmaram por meio de experimentos os achados já descritos por ele. E atualmente, a epilepsia é definida como um distúrbio

cerebral causado pela predisposição permanente do cérebro em gerar CREs acompanhadas de consequências neurobiológicas, cognitivas e sociais (FISHER *et al.*, 2005).

2.2. Epilepsia do Lobo Temporal

A Epilepsia do Lobo Temporal (ELT), um tipo de epilepsia estrutural, é também a mais comum na população adulta, respondendo por aproximadamente 40% dos casos de não responsividade ao tratamento farmacológico (SCHENKEL, 2011). Na ELT, o indivíduo sofre um distúrbio epileptogênico, a exemplo de um traumatismo craniano, acidente vascular encefálico, tumor cerebral ou SE (FRENCH *et al.*, 1993). O SE é caracterizado por uma crise contínua ou crises distintas, sem interrupção e com duração de no mínimo 5 minutos (LOWENSTEIN *et al.*, 1999).

Em relação a semiologia das crises e ao foco epileptogênico, a ELT é subdividida em: epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM) com foco no sistema límbico e epilepsia do lobo temporal lateral (ELTL) derivadas de modificações no neocórtex temporal

A ELTM representa cerca de 60% das ELT (CENDES, 2005) e aproximadamente cerca de 70% das vezes está correlacionada com perda de neurônios piramidais, resultando na esclerose hipocampal (HS) (VALENÇA *et al.*, 2006). Estudos de Wieser e colaboradores (2004) relatam que, “incidentes precipitantes iniciais” (IPIs) que ocorrem normalmente antes dos 5 anos de idade, são um dos fatores causais da ELTM com HS. Por exemplo, o SE desencadeia a epileptogênese, um processo progressivo de alterações fisiológicas e estruturais no sistema nervoso central, que resulta na conversão de um cérebro normal em um cérebro epilético (FRENCH *et al.*, 1993; LEITE *et al.*, 1990).

O hipocampo é a principal região onde ocorrem essas alterações, que além da esclerose hipocampal, também incluem processos neurobiológicos como a plasticidade axonal, neurogênese, astrogliose, neuroinflamação e reorganização da expressão gênica. Os mecanismos secundários dessas alterações e sua função na epileptogênese têm sido destaque para diversos estudos experimentais e clínicos.

2.3. Modelo experimental de epilepsia do lobo temporal

Há diversos tipos de modelos experimentais de epilepsia ou de crises epiléticas. Em relação à ELT são utilizados protocolos de indução de SE em

roedores, baseado na administração, intrahipocampal ou intraperitoneal, de drogas convulsivas, como a pilocarpina e o ácido cainico (McNAMARA, 1994).

O método de indução por pilocarpina é o mais aplicado e o que mais se assemelha a ELT. A pilocarpina é uma substância extraída da planta *Pilocarpus jaborandi*, que atua como um agonista colinérgico muscarínico, e que em altas concentrações (300 mg/Kg), provoca modificações eletrográficas, comportamentais e morfológicas comparáveis à ELT em humanos (PIMENTA, 2009) Para otimizar a ação da PILO, aplica-se cloreto de Lítio em um intervalo entre 18 a 24 horas antes da administração da PILO, possibilitando a diminuição da dose da pilocarpina em até 10 vezes, o que reduz a mortalidade animal e os efeitos colaterais decorrentes de doses elevadas da PILO (VENTURIN, 2008; CHAUDHARY *et al.*, 1999).

O modelo experimental de epilepsia do lobo temporal induzido por pilocarpina pode ser dividido em três fases (REDDY; KURUBA, 2013) (Tabela 1).

Tabela 1. Modelo experimental de epilepsia do lobo temporal por pilocarpina.

| FASES | CARACTERÍSTICAS |
|----------------|--|
| AGUDA | Fase que se refere às 24 horas iniciais após o SE, iniciando a epileptogênese. |
| LATENTE | Fase que ocorre alterações fisiológicas, histológicas e de reorganização da expressão gênica. Tem duração de dias à meses. |
| CRÔNICA | Fase marcada pelas crises espontâneas e recorrentes, como observada nos pacientes com ELT. |

Características das três fases que correspondem ao modelo experimental de ELT induzida por pilocarpina.

Fonte: REDDY e KURUBA (2013).

2.4 . Tratamento Farmacológico

Inicialmente, o tratamento da epilepsia é realizado pela utilização de fármacos antiepilépticos (FAEs), que têm a capacidade de reduzir ou cessar as crises epiléticas (SMITH *et al.*, 2007). O foco principal do tratamento da epilepsia é controlar completamente as crises minimizando os efeitos colaterais, com o objetivo de oferecer ao paciente uma boa qualidade de vida. Todavia, 40% dos pacientes tem ETL refratária e não consegue responder ao tratamento farmacológico (CACIAGLE *et al.*, 2017).

Historicamente, o desenvolvimento dos FAEs pode ser dividido em três gerações. A 1^o é marcada pela comercialização dos fármacos entre 1857 e 1958, onde podemos destacar o fenobarbital e as moléculas que são provenientes da estrutura dos barbitúricos, como a fenitoína. Entre 1960 e 1975, iniciou-se a 2^a geração, marcada pelos benzodiazepínicos, incluindo a carbamazepina e o valproato,. Por fim, em 1980 marca o início da 3^a geração, em que se buscou o aprimoramento dos fármacos já conhecidos, como por exemplo o desenvolvimento das moléculas de oxcarbazepina (carbamazepina) (YACUBIAN *et al.*,2014).

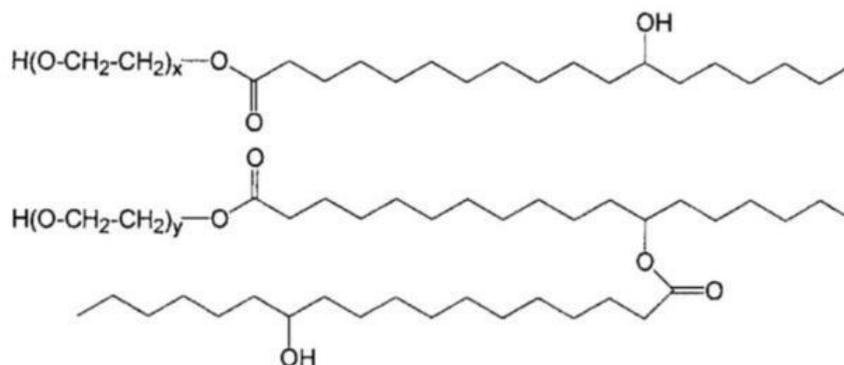
A primeira opção de tratamento é através da administração de um fármaco (monoterapia), uma vez que 47% dos pacientes conseguem controlar as crises, porém 13% precisam receber um tratamento de politerapia (mais de um FAE) para conseguir controlar as crises. Entretanto, 40% dos pacientes são farmacorresistentes, continuando a apresentar apresentando crises epiléticas, mesmo sob tratamento farmacológico (KWAN; BRODIE, 2000).

Assim, os índices de refratariedade farmacológica na ELT mostra que é importante o desenvolvimento de novas terapias, com produtos naturais ou sintéticos, capazes de promover um tratamento mais eficaz e seguro e que consiga proporcionar ao paciente uma boa qualidade de vida.

2.5 Solutol® HS 15

O Solutol® HS 15 (SOL) é sintetizado pela reação química entre o ácido 12-hidroxiesteárico e o polietilenoglicol que resulta no ácido 12-hidroxiesteárico polioxetilado (SOL) (**figura 1**) formado por 70% de monoésteres e diésteres e 30% de polietilenoglicol (KU; VELAGALETI, 2010).

Figura 1 – Estrutura química do Solutol® HS 15



Essa substância sintética é um forte agente emulsificante e solubilizante não iônico com baixa toxicidade, sua grande região hidrofóbica favorece a melhor solubilização dos fármacos (CHU *et al.*,2022). Logo é bem utilizado como veículos de drogas, tais como as vitaminas, alfaxalona, miconazol entre outras (KU; VELAGALETI,2010).

Porém, estudos da literatura tem relatado que Solutol® HS 15 tem apresentado efeitos biológicos, o que requer uma maior atenção, pois excipientes farmacêuticos ativos podem resultar em erros na leitura de dados farmacocinéticos e em alterações indesejadas nas interações medicamentosas no corpo do indivíduos (OTTER *et al.*, 2017).

Nanocápsulas lipídicas contendo Solutol® HS15 podem influenciar a sinalização celular de cálcio no cérebro, pois causam inibição do transporte de cálcio através de canais ativados por hiperforina em células neurais.(CHAUVET *et al.*,2015). Além disso, o Solutol® HS 15 inibe os transportadores de cátions orgânicos (OTC 1- 3) bem como os transportadores de oligopeptídeos (PEPT 1 e 2) (OTTER *et al.*, 2017).No estudo de Lin e colaboradores (2014) foi relatado que o pré – tratamento e tratamento pela via intraperitoneal (i.p) com SOL confere neuroproteção hipocampal em ratos, no modelo de isquemia cerebral focal e global.

Em estudos prévios, nosso grupo de pesquisa relatou que o pré- tratamento com SOL (30%/70%, SOL/SAL, via intra hipocampal) reduz em 61% as crises durante o SE quando comparado ao grupo salina. Observamos também que o pré-tratamento com SOL pela via intraperitoneal também reduziu as crises (31,5%) durante o SE quando comparado ao grupo Li-Pilo.

Considerando esses achados,no presente trabalho buscamos avaliar se o tratamento com o SOL (i.p) diminui as crises recorrentes e espontâneas na fase crônica da epilepsia.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral:

Avaliar o efeito do Solutol H15 no perfil das crises recorrentes e espontâneas durante a fase crônica da epileptogênese em modelo experimental de epilepsia do lobo temporal.

3.2. Específicos

3.2.1. Avaliar o efeito do Solutol H15 via intraperitoneal na frequência das crises espontâneas e recorrentes durante a fase crônica da epileptogênese induzida por Li-PILO;

3.2.2. Avaliar o efeito do Solutol H15 via intraperitoneal na gravidade das crises espontâneas e recorrentes durante a fase crônica da epileptogênese induzida por Li-PILO.

4. METODOLOGIA

4.1. Ambientação Animal

Nesse estudo foram utilizados 20 ratos machos *Wistar* com aproximadamente 60 dias de idade, pesando de 250 a 350g, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas (BIOCEN/UFAL), alocados no Biotério Setorial do Laboratório de Biologia Celular e Molecular com a temperatura de 22°C, no ciclo claro/escuro de 12 horas (06:00/18:00) e com disponibilização de água e alimento. O protocolo experimental foi aprovado e executado seguindo os princípios éticos do Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) (nº de Protocolo (14/2019 – ANEXO).

4.2. Indução do *Status Epilepticus* (SE)

Para a indução do SE, os animais foram submetidos à injeção intraperitoneal (i.p.) de cloreto de lítio (127mg/kg) 16 horas antes da administração da PILO. O butilbrometo de escopolamina (1mg/kg, i.p.) foi aplicado 30 minutos antes da administração de PILO para minimizar os efeitos da PILO nos receptores muscarínicos periféricos. Após 30 minutos da aplicação da escopolamina, foi aplicado à PILO (30mg/kg, i.p.) para a indução do SE. O *Status Epilepticus* foi abortado após 90 minutos de duração, com Diazepam (5 mg/kg; i.p.). Todo o SE foi monitorado, com auxílio de uma filmadora.

4.3. Vídeo-monitoração e confirmação das CREs

Após a reversão do SE, os animais passaram 60 dias (2 meses) pelo período de latência. Em seguida, durante 15 dias, foram vídeo – monitorados 24 horas por dia, para a detecção e confirmação das CREs. Vale ressaltar que foram utilizadas lâmpadas de luz vermelha para a visualização das crises na filmagem durante a fase noturna do ciclo. Foi utilizada a escala de Racine (1972) (Tabela 2), uma escala de classificação dos tipos de crises, para avaliar a frequência e duração de cada crise durante a fase crônica da epileptogênese.

Tabela 2. Caracterização comportamental dos níveis de crises epiléticas em modelo animal segundo a escala de Racine (1972)

| Nível de crise | Comportamento |
|----------------|--------------------------------|
| 0 | Imobilidade |
| 1 | Automatismos faciais |
| 2 | Mioclonias de cabeça e pescoço |
| 3 | Clonias de patas anteriores |
| 4 | Elevação de patas posteriores |
| 5 | Elevação e queda |

Fonte: Racine, 1972

4.4. Divisão dos grupos experimentais

Confirmado o aparecimento das CREs, os animais foram divididos por um processo de randomização, em dois grupos experimentais (Tabela 3).

Tabela 3. Divisão dos Grupos Experimentais e identificação dos animais.

| GRUPO SOLUTOL (N=10) | GRUPO SALINA (N=10) |
|-----------------------------|----------------------------|
| R2 | R1 |
| R3 | R4 |
| R7 | R5 |
| R12 | R6 |
| R13 | R8 |
| R14 | R10 |
| R16 | R11 |
| R22 | R15 |
| R23 | R17 |
| R25 | R24 |

Fonte: Autora

4.4. Tratamento com Solutol HS15

Após a divisão dos grupos experimentais, os animais ficaram 15 dias sob video-monitoramento (pré-tratamento). Em seguida, foi iniciado o tratamento, em que os animais foram administrados com SOL uma vez ao dia no mesmo horário por 15 dias com 2 mL/Kg de SOL diluído em solução salina a 0,9% (45%/55%, v/v, respectivamente). Em paralelo, animais receberam 2mL/Kg de SAL (i.p.) a 0,9% para compor o grupo SAL. Durante o processo de tratamento os animais foram filmados 24 horas por dia. Por fim, o tratamento foi interrompido e os animais permaneceram video-monitorados por mais 15 dias (pós-tratamento). Ao final desse processo, os animais foram eutanasiados por decapitação e os tecidos foram estocados no freezer a -80°C.

Figura 2. Delineamento Experimental do tratamento com Solutol HS 15 na fase crônica da epileptogênese



Fonte: Autora

4.5 Análise das crises na fase crônica da epileptogênese

Utilizamos a escala de Racine (RACINE,1972) (Tabela 2), uma escala de classificação dos tipos de crises, para avaliar a frequência e duração de cada crise durante a fase crônica da epileptogênese.

4.6 Análise estatística

Os dados foram expressos como valores de média \pm erro padrão analisados para normalidade, seguido pelo teste t paramétrico ou não paramétrico utilizando o programa estatístico GraphPad, Prism 7.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para verificar o efeito do Solutol nas crises epilépticas espontâneas, foram utilizados 10 animais para o grupo solutol e 10 animais para do grupo salina, sendo avaliados o total de crise e o total de crises no nível 3,4 e 5; comparando o perfil das crises antes do tratamento com o perfil durante ou após o tratamento (**Tabela 4**).

Tabela 4 - Comparações das fases do tratamento nos grupos Solutol e Salina.

| GRUPO SOLUTOL | GRUPO SALINA |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Pré-tratamento X Tratamento | Pré – tratamento X Tratamento |
| Pré-tratamento X Pós – Tratamento | Pré – tratamento X Pós-tratamento |

Observamos que no grupo salina não houve diferença significativa entre os totais de crises durante os períodos analisados (**Figura 3 e 4**).

Figura 3 - Análise do total das crises do grupo salina entre as três fases de tratamento.

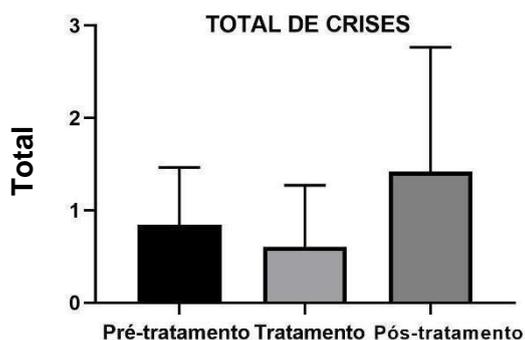


Figura 3. Total de crises por dia em animais do grupo salina entre as fases de pré-tratamento, tratamento e pós-tratamento. Valores de média \pm erro padrão analisados para normalidade seguido pelo teste t paramétrico ou não paramétrico utilizando o programa estatístico GraphPad, Prism 7.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. N=10.

Figura 4 - Análise do total das crises nível 3,4 e 5 do grupo salina entre as três fases de tratamento.

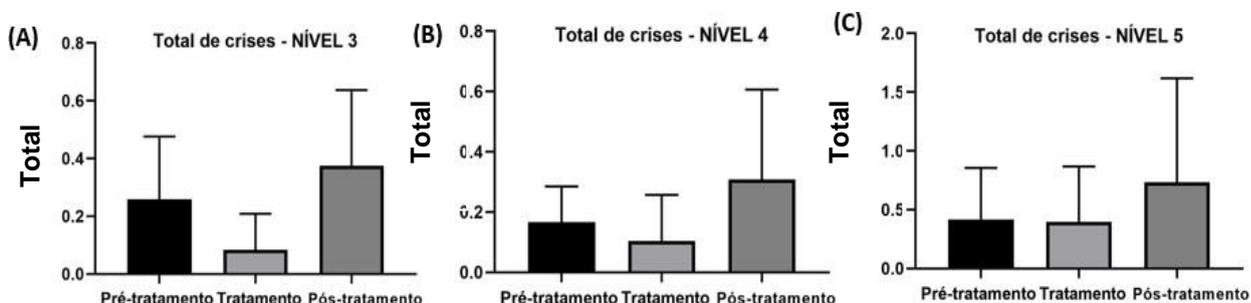


Figura 4. Total de crise - nível 3 (A), total de crise - nível 4 (B) e total de crise nível 5 (C) entre as fases de pré-tratamento, tratamento e pós-tratamento. Valores de média \pm erro padrão analisados para normalidade seguido pelo teste t paramétrico ou não paramétrico utilizando o programa estatístico GraphPad, Prism 7.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. N=10

No grupo solutol, observamos que houve uma diminuição significativa das crises de nível 3 durante o tratamento com Solutol comparado com o período de pré-tratamento (**Figura 6A**)

Figura 5 - Análise do total das crises do grupo solutol entre as três fases de tratamento.

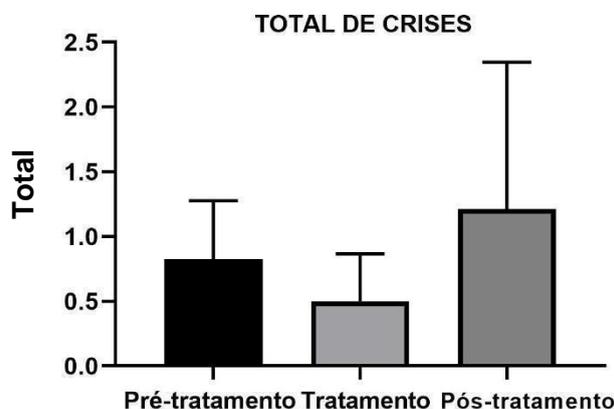


Figura 5. Total de crises por dia em animais do grupo solutol entre as fases de pré-tratamento, tratamento e pós-tratamento. Valores de média \pm erro padrão analisados para normalidade seguido pelo teste t paramétrico ou não paramétrico utilizando o programa estatístico GraphPad, Prism 7.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. N=10

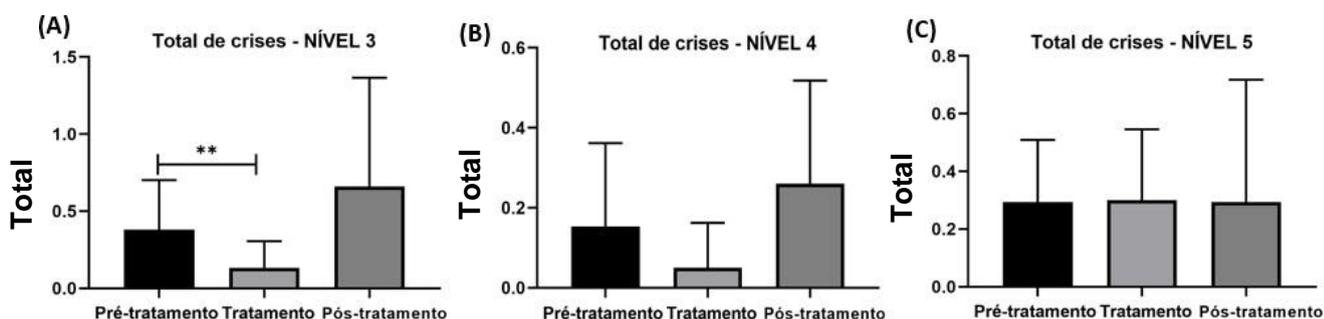


Figura 6. Total de crise - nível 3 (A), total de crise - nível 4 (B) e total de crise nível 5 (C) entre as fases de pré-tratamento, tratamento e pós-tratamento. Valores de média \pm erro padrão analisados para normalidade seguido pelo teste t paramétrico ou não paramétrico utilizando o programa estatístico GraphPad, Prism 7.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. N=10.

Tendo em vista a responsividade variável ao tratamento com o solutol, realizamos uma análise individual da frequência das crises. Observamos que 70% dos animais tratados com solutol tiveram suas crises significativamente diminuídas (Figura 7). A análise separada por tipo de crise mostrou que houve uma redução significativa das crises de nível 3 e 4 mas não de nível 5 (Figura 8A-C)

Figura 7 – Análise do total das crises em animais do grupo Solutol que mostraram redução de crises durante o tratamento

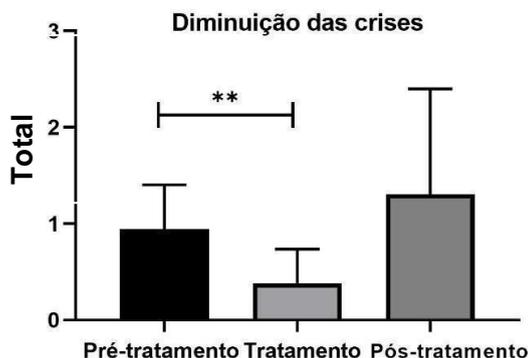


Figura 7: Total de crises diminuída no grupo solutol, entre as fases de pré-tratamento X tratamento e pré-tratamento X pós-tratamento. Valores de média \pm erro padrão analisados para normalidade seguido pelo teste t paramétrico ou não paramétrico utilizando o programa estatístico GraphPad, Prism 7.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. N=10.

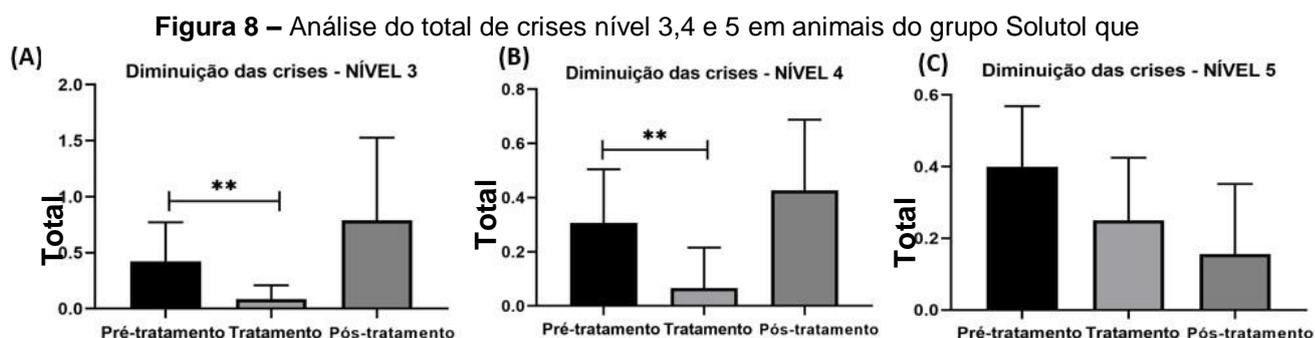


Figura 8: Total de crise diminuída - nível 3 (A), total de crise diminuída - nível 4 (B) e total de crise diminuída nível 5 (C) entre as fases de pré-tratamento X tratamento e pré-tratamento X pós-tratamento. Valores de média \pm erro padrão analisados para normalidade seguido pelo teste t paramétrico ou não paramétrico utilizando o programa estatístico GraphPad, Prism 7.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. N=10

Por outro lado, 30% dos animais não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Os dados apresentados apontam para uma ação anticonvulsivante do solutol nas crises epilépticas espontâneas e recorrentes. Em estudo prévio, nosso grupo observou uma diminuição significativa no total das crises de nível 3, 4 e 5 durante o SE em animais pré – tratados com o solutol. O presente trabalho, portanto, corrobora o potencial anticonvulsivante do Solutol ampliando sua ação para crises não induzidas. Além do mais, observamos também uma responsividade variável ao Solutol, onde 30% dos animais não tiveram as crises reduzidas. De fato, na ELT, cerca de 40% dos pacientes não respondem ao tratamento farmacológico, sendo caracterizados como pacientes refratários ou farmacoresistentes (BOHOSOVA et al.,2021). O mecanismo da farmacoresistência é fundamentado pela teoria do efluxo de drogas, onde existe uma forte ligação entre a resistência aos fármacos antiepilépticos e a superexpressão

da glicoproteína P (gp-P) (LOSCHER e POTSCHKA,2005). A gp-P é um transportador expresso na barreira hematoencefálica (BHE) que regula o efluxo de FAEs, delimitando a penetração cerebral(WEINHEIMER et al.,2017).

O solutol HS 15 é um excipiente farmacêutico que é utilizado como solubilizante não iônico de fármacos e vitaminas, além de ser muito utilizado como carreador de substâncias. Porém, como apresenta efeitos biológicos, deixa de ser somente um excipiente inerte e passa a ter uma importância biológica. Os excipientes farmacêuticos têm a capacidade de modificar a fluidez de membranas e isto, pode interferir na integridade de proteínas, como os transportadores e canais iônicos que fazem parte da membrana celular, ocasionando alterações na maquinaria bioquímica (CHAUVET et al., 2015).

Estruturalmente, o solutol HS 15 apresenta semelhança com ácidos graxos. Schlanger e colaboradores (2002) relataram que ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 possuem efeito anticonvulsivante em pacientes com epilepsia. Além do mais, o tratamento com o ácido graxo poliinsaturado, ácido linolênico previne convulsões e morte celular neuronal em modelo experimental de epilepsia induzida por ácido caínico (LAURITZEN et al., 2000).

Além disso, o solutol HS 15 inibiu polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos (OATP) e proteínas co-transportadoras de Na⁺ dependente como taurocolato (NTCP) (ENGEAL et al.,2012), então é possível que o solutol HS 15 atue nos canais iônicos e nos transportadores de membrana neural, tendo a capacidade de modificar a entrada e saída de íons, como também ele pode alterar a captação e recaptação de neurotransmissores, modulando a homeostase excitatória – inibitória

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo avaliou o efeito do solutol HS 15 no perfil das crises recorrentes e espontâneas na fase crônica da epilepsia. Observamos que o solutol HS 15 possui efeito anticonvulsivante nas crises epiléticas, mas que a interrupção do tratamento gera um retorno do aumento da atividade convulsiva.

7. REFERÊNCIAS

- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JUNIOR, L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos**. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000. 568p.
- ANTUNES, M. F. D. **Investigação do efeito de analgésicos no pós-operatório de ratos wistar submetidos ao modelo de cirurgia estereotáxica**. 43 f. Dissertações. Mestrado em Fisiologia Comparada. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Norte. 2013.
- BERG, A.T. The natural history of mesial temporal lobe epilepsy. **Curr Opin Neurol**. 2008. 21(2):173-8.
- BERG, A.T., et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology. **Epilepsia**, 2010. v. 51(4) p. 676-685.
- BERGONZI, M. et al. Thymoquinone-Loaded Soluplus®-Solutol® HS15 Mixed Micelles: Preparation, In Vitro Characterization, and Effect on the SH-SY5Y Cell Migration. **Molecules**. 2020. 20(25): 47-07.
- BOHOSOVA, J. et al., MicroRNAs in the development of resistance to antiseizure drugs and their potential as biomarkers in pharmacoresistant epilepsy. 2021. **Epilepsia**. 62: 2573-2588
- CACIAGLI, L.; et al. A meta-analysis on progressive atrophy in intractable temporal lobe epilepsy Time is brain? **Neurology**. 2017. 89 (5): 506–516.
- CAVALHEIRO, E.A., et al. Long-term effects of intrahippocampal kainic acid injection in rats: a method for inducing spontaneous recurrent seizures. **Electroenceph Clin Neurophysiol**. 1982. 53: 581-589.
- CENDES, F. Progressive hippocampal and extrahippocampal atrophy in drug resistant epilepsy. **Current Opinion in Neurology**. 2005. 18 (2):173-177.
- CHAUVET, S. et al. Lipid nanocapsules containing the non-ionic surfactant Solutol HS15 inhibit the transport of calcium through hyperforin-activated channels in neuronal cells. **Neuropharmacology**. 2015. 99: 726-734.
- CHU, Y et al. Physicochemical Characterization and Pharmacological Evaluation of Novel Propofol Micelles with Low-Lipid and Low-Free Propofol. **Pharmaceutics**. February; 2022. 14(2): 414.
- DE BRUIN, V. M. S., et al. Behavioral and neurochemical alterations after lithium-pilocarpine administration in young and adult rats: A comparative study. **Pharmacol Biochem Behav** 2000. 65 (3) 547–551.
- EADIE M. Epilepsy-from the Sakikku to hughlings Jackson. **J Clin Neurosci**. 1995. 2: 156- 162.

FERNANDES, Maria José da Silva. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. **Estudos Avançados jornal**. São Paulo, v. 27, n. 77, p. 85-98, 2013

FERNANDES, P. T. **Estigma na Epilepsia**. 196 f. Teses (Doutorado em Ciências Médicas) Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.

FERNANDES, P. T.; LI M. L. Percepção de Estigma na Epilepsia. **J Epilepsy Clin Neurophysiol**. 2006. 12(4):207-218.

FISHER, R. S.; et al. Epileptic seizures and epilepsy definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau of Epilepsy (IBE). **Epilepsies**. 2005. 17(3): 129-32.

FRENCH, J.A.; WILLIAMSON, P.D.; THADANI, V.M.; et al. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: results of history and physical examination. **Ann Neurol**. 1993. v. 34, p. 774.

GARCÍA-GARCÍA, F., et al. Growth hormone improves hippocampal adult cell survival and counteracts the inhibitory effect of prolonged sleep deprivation on cell proliferation. *Brain res bull*. 2011. v 28843 p. 252-7.

GOMES, M. M. História da Epilepsia: Um Ponto de Vista Epistemológico. **J Epilepsy Clin Neurophysiol**. 2006. 12(3):161-167.

HU, L.; et al. Effect of the additives on clouding behavior and thermodynamics of coenzyme Q10-Kolliphor HS15 micelle aqueous solutions. **Chemical Physics Letters**. 2017. 687: 264– 269.

LIN, H. W. et al. Fatty Acid Methyl Esters and Solutol HS 15 Confer neuroprotection After Focal and Global Cerebral Ischemia. **Transl Stroke Res**. February; 2014. 5(1):109–117.

JACOBY. A., BAKER, G.A. Quality-of-life trajectories in epilepsy: a review of the literature. **Epilepsy Behav**. 2008. 12:557–71.

KU, S.; VELAGALETI, R. Solutol HS15 as a Novel Excipient: Identification of the Need for and Implementation of a US Regulatory Strategy. **Pharmaceutical Technology**. 2010. 34(11):108–10.

KWAN, P.; BRODIE, M.J. Early identification of refractory epilepsy. **N Engl J Med**. 2000. 342(5):314-9.

LAURITZEN I, et al. Polyunsaturated fatty acids are potent neuroprotectors. *EMBO J*. 2000;19(8):1784-1793. doi:10.1093/emboj/19.8.1784

LEITE, J. P.; GARCIA-CAIRASCO, N.; CAVALHEIRO, E. A. New insights from the use of pilocarpine and kainite models. **Epilepsy Research**. 2002. v. 50 p. 93-103.

LEITE, J.P., et al. Fundamentos neurobiológicos das epilepsias: aspectos clínicos e cirúrgicos. São Paulo: Lemos Editorial. 1998. 129-136.

LÖSCHER, & POTSCHKA, Drug resistance in brain diseases and the role of drug efflux transporters. **Nature reviews**. Neuroscience. 2015. 6. 591-602

LOWENSTEIN, D. H.; BLECK, T.; MACDONALD, R. L. It's Time to Revise the Definition of Status Epilepticus. **Epilepsia**. 1999. 40(1):120-122.

McNAMARA, J. O. Cellular and molecular basis of epilepsy. **The journal of neuroscience**. 1994. 14(6): 3413-3425

MOREIRA, S. R. G. Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnóstico e tratamento. **Mental**. 2004. 107-122.

OTTER, M. et al. Effects of frequently used pharmaceutical excipients on the organic cation transporters 1–3 and peptide transporters 1/2 stably expressed in MDCKII cells. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 2017. 112: 187–195.

PIMENTA, G. M. B. **Sono e epilepsia: estudo da arquitetura do ciclo vigília-sono em animais do modelo experimental de epilepsia do lobo temporal por pilocarpina. Análise qualitativa e quantitativa**. Tese (Doutorado em Ciências). Faculdade de medicina. Universidade de São Paulo, São Paulo 2009.

RACINE, R.J. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. **Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol**. 1972. v. 32, p. 281–294.

REDDY, D.S.; KURUBA, R. Experimental Models of Status Epilepticus and Neuronal Injury for Evaluation of Therapeutic Interventions. **Int J Mol Sci**. 2013. v. 14(9) p. 18284–18318.

REYNOLDS, E.H. The ILAE/IBE/WHO epilepsy global campaign history. International League Against Epilepsy. **International Bureau for Epilepsy**. Epilepsy, New York. 2002. v. 43, n. 6, p. 9-11.

SCHENKEL L.C; et al. Serotonin transporter gene (5HTT) polymorphisms and temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Research**. 2011

SCHLANGER, SIMON, MEIR, SHINITZKY, and DANIEL YAM. "Diet enriched with omega-3 fatty acids alleviates convulsion symptoms in epilepsy patients." **Epilepsia** 43.1(2002): 103-104.

SMITH, M.; WILCOX, K.S.; WHITE, H. S. Discovery of antiepileptic drugs. Neurotherapeutics: **The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics**. 2007. 4:12-17.

VALENÇA, L. P. A. A.; VALENÇA, M. M.; VELASCO, T. R.; LEITE, J. P. Epilepsia do lobo temporal mesial associada à esclerose hipocampal. **Epilepsy Clin Neurophysiol** 2006; 12(1):31-36

VENTURIN, G.T. Efeito do transplante de células mononucleares de medula óssea na frequência de crises e no desempenho cognitivo de ratos com epilepsia por lítio pilocarpina. (Mestrado Neurociências). UFRS- Porto Alegre- RioGrande do Sul-Brasil. 2008.

WEINHEIMER M, et al. The application of P-gp inhibiting phospholipids as novel oral bioavailability enhancers - An in vitro and in vivo comparison. **Eur J Pharm Sci.** 2017Oct 15;108:13-22

WEISZ G. The emergence of medical specialization in the nineteenth century. **BullHist Med.** 2003. 77: 536-575.

YACUBIAN E. Epilepsia da antiguidade ao segundo milênio: saindo das sombras. São Paulo: Lemos Editorial. 2000.

YACUBIAN, E.M.T.; CAICEDO, G.C.; POHL, L.R. Tratamento medicamentoso das epilepsias. São Paulo: Leitura Médica Ltda, 2014.

ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “*Investigação do efeito do Solutol HS 15 em modelo experimental de epilepsia de lobo temporal induzida por lítio-pilocarpina*”, registrada com o nº 14/2019, sob a responsabilidade do pesquisador **Prof. Dr. Daniel Leite Goes Gitaí**, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), **para fins de pesquisa científica**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), em reunião de 23 de julho de 2019.

| | |
|----------------------------|--|
| Vigência da autorização | 01.08.2019 a 31.12.2023 |
| Espécie/linhagem/raça | Rato heterogênico Wistar |
| Nº de animais | 152 |
| Peso/idade | 250 g – 350 g / 60 dias |
| Sexo | Macho |
| Origem/Local de manutenção | Biotério Central da Ufal / Biotério Setorial do Instituto de Ciências Biológicas (ICBS) da Ufal. |
| Colaboradores | Carmem L. A. Silva, Gabriele F. C. Santos, Pedro A. T. Paulino, Erivaldo D. S. Júnior, Wanessa S. Pereira, Maria J. C. Santos, Jéssica G. S. Alves e Dhennyfer L. S. Silva |

Maceió, 25 de julho de 2019.

Elvan Nascimento dos Santos Filho
Coordenador da CEUA
SIAPE 1756479