

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**PARTICIPAÇÃO DA PROGESTERONA E DO ESTRADIOL
NA REDUÇÃO DAS CRISES CONVULSIVAS INDUZIDA
PELA GESTAÇÃO EM UM MODELO GENÉTICO DE
EPILEPSIA**

MICHELE PACHECO GOUVÊA

BELO HORIZONTE

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Michele Pacheco Gouvêa

**PARTICIPAÇÃO DA PROGESTERONA E DO ESTRADIOL
NA REDUÇÃO DAS CRISES CONVULSIVAS INDUZIDA
PELA GESTAÇÃO EM UM MODELO GENÉTICO DE
EPILEPSIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Fisiologia para Programa de Pós-Graduação Integrada.

Orientação: Adelina Martha dos Reis
Co-orientação: Maria Carolina Doretto

**Belo Horizonte
Instituto de Ciências Biológicas da UFMG**

2006

1 DEDICATÓRIA

1.1 **Aos meus pais, que me ensinaram a nunca desistir dos meus objetivos**

*mesmo que eles, em algum momento, pareçam inalcançáveis;
e a Deus, por sempre caminhar ao meu lado e
me carregar nos momentos mais difíceis.*

2 MEUS AGRADECIMENTOS

Aos amigos do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do ICB – UFMG, pelo companheirismo e amizade.

À Adelina, pelo acolhimento, orientação, confiança e enriquecedora troca de experiências.

À Carol, pela co-orientação e enriquecedora troca de experiências.

À Virgínia, Najara e ao Gregório, pela amizade e ajuda na execução dos experimentos.

À Jerusa e à Maura, pelo auxílio durante a coleta de materiais.

À minha mãe, Núbia, e ao meu pai, Marco Antônio, que participaram ativamente na execução dos experimentos, segurando os animais para a aplicação das injeções nos fins-de-semana e feriados.

À Bianca e à Fernanda, colegas de graduação, pela companhia e amizade durante a realização de experimentos no nosso horário de almoço.

Ao Carlos Belino, pela companhia e paciência durante a realização dos intermináveis experimentos durante os fins-de-semana.

Aos docentes do Departamento de Fisiologia e Biofísica, por seus valiosos ensinamentos.

À banca examinadora, pela atenção e sugestões na organização da dissertação.

Ao CNPq, que subsidiou esta pesquisa.

À Pró-reitoria de Pós-graduação e à Fapemig, pelos auxílios concedidos para participação em eventos científicos.

"Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Não importa quais sejam os obstáculos e as dificuldades. Se estamos possuídos de uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho."

Dalai Lama

3 RESUMO

A gestação reduz a intensidade das crises epiléticas em uma parcela da população de uma linhagem de ratos susceptíveis à epilepsia audiogênica, os *Wistar Audiogenic Rats* (WAR), como foi determinado por trabalho anterior de nosso laboratório. Os mecanismos envolvidos nesta resposta, entretanto, ainda não foram esclarecidos. De acordo com a literatura, a progesterona (P) e alguns de seus metabólitos apresentam ação anticonvulsivante e apesar das controvérsias em relação aos efeitos dos estrógenos (E), estes são considerados principalmente como pró-convulsivantes. O objetivo do presente trabalho foi investigar a possível participação da progesterona e do estradiol na redução das crises convulsivas induzida pela gestação em WAR. O índice de severidade (IS) das crises convulsivas foi determinado durante a gestação e dois sub-grupos de WAR foram comparados: os que apresentaram redução do IS (RSI) e os que não tiveram alteração do IS (NRSI). No Experimento 1, ratas Wistar e WAR foram sacrificadas aos 7, 14 e 20 dias de gestação e as concentrações plasmáticas de estradiol e progesterona foram dosadas por radioimunoensaio. No 20º dia de gestação, houve redução das crises em 50% das WAR, sendo que 33% delas apresentaram ausência total de crises (Índice de Severidade ou IS=0,0). As ratas com IS reduzido (RSI) apresentaram concentrações tanto de progesterona quanto de estradiol maiores do que aquelas com severidade não reduzida (NRSI). Além disso, o grupo RSI apresentou relação P/E similar ao grupo controle enquanto o grupo NRSI apresentou redução da relação P/E em relação ao controle. Para confirmar a participação dos esteróides gonadais na redução das crises convulsivas, foi delineado outro experimento no qual ratas Wistar e WAR foram ovariectomizadas (ovx) e receberam diariamente progesterona (500 µg; *im*) e/ou estrógeno (1µg/100g, *sc*) nos seguintes esquemas de tratamento:

a) veículo (3 semanas); b) estrógeno (3 semanas) e progesterona (3 semanas); c) estrógeno (1 semana) seguido por progesterona (2 semanas) ou d) somente progesterona (3 semanas). O tratamento com progesterona sem associação com estrógenos ocasionou redução da gravidade das crises em 33% das ratas WAR, enquanto a associação dos dois hormônios em ambos os regimes apresentou efeito mais pronunciado, reduzindo as crises em 67% dos animais. Em conclusão, este trabalho demonstra o importante papel dos esteróides gonadais, progesterona e estradiol, na redução das crises convulsivas em WAR. Mostra, também que o estradiol intensifica a ação anticonvulsivante da progesterona.

Palavras-chaves: epilepsia, crise audiogênica, gestação, progesterona, estrógeno

4 ABSTRACT

Pregnancy reduces the intensity of epileptic seizure in part of the population of a genetic model of reflex epilepsy in which seizures are induced by high intensity sound stimulation, the *Wistar Audiogenic Rats* (WAR), as it has been shown by previous studies of our lab. However, the mechanism involved in this reduction has not been yet clarified. Several studies show that progesterone (P) and its metabolites have anti-seizures effects and, in general, administration of estradiol (E) appears to exacerbate epilepsy. The aim of the present work was investigate the involvement of progesterone and estradiol in the seizure reduction induced by pregnancy in WAR. The severity index (SI) of seizure was determined during pregnancy and two subgroups were compared: WAR displaying *reduced severity index* of seizure (*RSI*) with the subgroup that did not show any alteration of the severity index (*non-reduced severity index*, *NRSI*). In Experiment 1, Wistar and WAR rats were sacrificed at 7th, 14th, and 20th days of pregnancy and levels of estradiol and progesterone were measured in plasma by radioimmunoassay. On the 20th day of pregnancy, the seizures remitted in 50% of WAR, with 33% showing SI=0. The P and E levels were higher in the RSI group than in NRSI. Moreover, P/E ratio of RSI group was similar to the control, non epileptic rats, but this ratio was diminished in relation to the control in the NRSI group. To confirm the gonadal steroids participation in the seizure reduction, Wistar and WAR rats were ovariectomized (ovx) and separated in groups that received daily injections of different schedules of treatment with progesterone (500 µg; *im*) and/or estrogen (1µg/100g, *sc*): a) vehicle (3 weeks); b) estrogen (3 weeks) plus progesterone (3 weeks); c) estrogen (1 week) followed by progesterone (2 weeks) or d) progesterone alone (3 weeks). When progesterone was administered alone, seizure reduction occurred in 33% of WAR, while progesterone with estrogen

in both regimens reduced the audiogenic seizures in 67% of WAR. In conclusion, this work demonstrated an important role for the gonadal steroids, progesterone and estradiol, in seizure reduction in this genetically audiogenic susceptible strain of rats. Moreover, shows that estradiol is important to enhance the anti-seizure effects of progesterone.

Key words: epilepsy, audiogenic seizures, pregnancy, progesterone, estrogen

5 LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Concentração plasmática de estradiol em ratas R e WAR durante a gestação	19
Figura 2. Concentração plasmática de progesterona em ratas R e WAR durante a gestação	20
Figura 3. Severidade das crises epiléticas nas ratas WAR (W) antes (S) e nos diferentes tempos de gestação (T)	21
Figura 4. Concentração plasmática de estradiol em ratas WAR que não apresentaram e que apresentaram redução da severidade das crises epiléticas aos 20 dias de gestação	22
Figura 5. Concentração plasmática de progesterona em ratas WAR que não apresentaram e que apresentaram redução da severidade das crises epiléticas aos 20 dias de gestação	23
Figura 6. Relação entre progesterona e estradiol plasmáticos em ratas WAR que não apresentaram e que apresentaram redução da severidade das crises epiléticas aos 20 dias de gestação	24
Figura 7. Relação entre progesterona e estradiol plasmáticos	25

Figura 8. Número de animais apresentando crises convulsivas tônico-clônicas durante o experimento 30

Figura 9. Índice de severidade das crises nas ratas WAR na terceira semana de terapia hormonal 31

6 LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de animais por grupo no experimento de gestação 10

Tabela 2 - Índice de severidade das crises epiléticas 12

Tabela 3 - Tratamento hormonal e número de animais do experimento de castração
..... 15

Tabela 4 - Severidade das crises epiléticas em fêmeas resistentes e WAR durante
o *screening*, após 21 dias de ovariectomia e, durante e após o tratamento hormonal
..... 28

7 LISTA DE ABREVIATURAS

E – estrógeno

EPM – erro padrão da média

Est – hexaidrobenzoato de estradiol

GABA_A – receptor A para o ácido gama-aminobutírico

IM – intramuscular

IP – intraperitoneal

IS – índice de severidade

NRSI – não-redução do índice de severidade

Ovx – ovariectomia

P – progesterona

P/E – relação entre progesterona e estrógeno

Prog – acetato de medroxiprogesterona

PR – receptor de progesterona

PTZ – pentilenotetrazol

R – Wistar não-susceptível às crises audiogênicas

RSI – redução do índice de severidade

SC – subcutânea

WAR – *Wistar Audiogenic Rats*

SUMÁRIO

RESUMO	VI
ABSTRACT	VIII
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIII
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	7
2.1. Objetivo geral	8
2.2. Objetivos específicos	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS	9
3.1. Delineamento experimental	10
3.1.1. <i>Experimento 1 - Gestação</i>	10
3.1.2. <i>Experimento 2 - Castração</i>	11
3.2. Animais	11
3.3. Testes audiogênicos	11
3.4. Esfregaço vaginal	12
3.5. Coleta de materiais	13
3.5.1. <i>Radioimunoensaio para estradiol</i>	13
3.5.2. <i>Radioimunoensaio para progesterona</i>	14
3.6. Anestesia e ovariectomia	14
3.7. Terapia hormonal	14
3.8. Análise estatística	15

4. RESULTADOS	16
4.1. Experimento 1 – Gestação	17
4.2. Experimento 2 – Castração	26
5. DISCUSSÃO	32
6. CONCLUSÕES	37
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO

As epilepsias são distúrbios comuns do cérebro caracterizadas por descargas elétricas súbitas e excessivas dos neurônios cerebrais. Nas epilepsias, as crises epiléticas se expressam de forma recorrente e espontânea, com características convulsivas ou não-convulsivas. As bases dos atuais conceitos das epilepsias foram propostas por John Hughlings Jackson em 1873. Segundo Jackson, “as crises constituem o resultado de breves descargas eletroclínicas cerebrais e as características clínicas das crises dependerão da localização e da função do local envolvido pela descarga” (Yacubian, 2000). Essas descargas elétricas são traduzidas em fenômenos eminentemente motores, sensitivos, autonômicos ou psíquicos, podendo ocorrer diminuição de consciência associada.

As crises epiléticas podem ser classificadas em parciais e generalizadas. As crises parciais podem ser simples ou complexas e estão restritas a uma região do cérebro. Nas crises parciais simples não ocorre perda de consciência do indivíduo afetado e estas podem evoluir para crises parciais complexas ou para crises generalizadas. As crises parciais complexas iniciam-se em uma área determinada do cérebro, mas espalham-se para outras áreas, causando perturbação da consciência. As crises generalizadas envolvem todo o cérebro e ocorre perda de consciência associada a esse tipo de crise (Guerreiro e cols., 2000).

Vários fatores ambientais e/ou metabólicos podem influenciar a ocorrência de crises epiléticas. Dentre esses fatores, destacamos os esteróides gonadais, que influenciam funções cerebrais e podem afetar o início de crises epiléticas por

alterações do metabolismo celular e da transmissão neural, pois vários desses hormônios têm o hipotálamo e o córtex límbico como locais de ação (Morrel e cols., 2002; Edwards e cols., 2000; Pimentel, 2000; Valente e cols., 2002).

A severidade e a freqüência das crises epiléticas em mulheres podem ser alteradas de acordo com os vários estágios de vida que estão associados a mudanças hormonais, como na puberdade, durante o ciclo menstrual e na menopausa (Morrell, 2002). Indivíduos epiléticos podem apresentar diferenças na susceptibilidade às crises dependendo da fase do ciclo menstrual ou do ciclo estral em que se encontram (Herzog e cols., 1997; Reddy, 2004; Rhodes e cols., 2004). Além disso, disfunções reprodutivas e alterações endócrinas são comuns em mulheres e homens com epilepsia (Edwards e cols., 2000; Morris III & Vanderkolk, 2005). De um modo geral, acredita-se que a administração de estrógenos aumenta a gravidade das crises, devido à diminuição do limiar convulsivante, enquanto a progesterona e alguns de seus metabólitos têm efeitos inibitórios sobre as crises epiléticas em vários modelos animais (Morrel, 2002; Pimentel, 2000; Reddy, 2004; Reddy e cols., 2004; Rhodes e cols., 2004).

Em muitas mulheres com epilepsia, as crises aumentam em freqüência e intensidade em algumas fases do ciclo menstrual. Essa condição é conhecida como epilepsia catamenial. Variações cíclicas naturais das concentrações de progesterona durante o ciclo menstrual podem influenciar a ocorrência de crises catameniais. A freqüência e/ou intensidade das crises diminui quando a progesterona plasmática está elevada, aumentando no período perimenstrual, quando a progesterona plasmática diminui. Pode aumentar, também, quando ocorre elevação do estradiol

na fase pré-ovulatória e em fases luteínicas inadequadas, onde a progesterona encontra-se em concentrações reduzidas (Herzog e cols., 1997). É interessante observar que na fase luteínica normal, quando ocorre elevação da concentração de progesterona, a concentração de estradiol também se encontra elevada, indicando que a relação entre progesterona e estradiol talvez seja mais importante para a determinação das crises do que as suas concentrações individuais (Reddy, 2004). Vários estudos que associam diretamente as crises com mudanças nas concentrações hormonais sugerem que a relação entre progesterona e estrógenos influencia a atividade epileptiforme (Backstrom, 1976; Herzog, 1991). Os altos níveis de estrógenos poderiam predispor à hiperexcitabilidade e a progesterona apresentaria efeitos opostos.

No modelo de crise epiléptica induzida por ácido caínico, ocorrem reduções das crises epiléticas durante a gestação e isso seria devido a um aumento estável das concentrações de progestinas (Rhodes e cols., 2004). Nesse modelo observam-se também elevadas concentrações de estradiol e 3-alfa dióis resultantes do metabolismo de andrógenos, que apresentam reconhecida ação anticonvulsivante. Mais uma vez observa-se uma elevada concentração de estradiol associada à elevada concentração de progesterona, reforçando a idéia de que a relação entre progesterona e estradiol apresenta papel importante na modulação das crises epiléticas (Rhodes e cols., 2004). Esses dados são reforçados pela observação de que as crises podem diminuir durante a gestação em algumas mulheres (Morrell, 1992) e durante a gestação e lactação em modelos animais de epilepsia (Amado & Cavalheiro, 1998; Doretto e cols., 2003b), quando a relação entre progesterona e estrógenos está elevada.

Por outro lado, os efeitos dos estrógenos sobre as crises epiléticas são contraditórios. É comumente aceito que os estrógenos apresentam efeitos pró-convulsivantes; entretanto, dados clínicos mostram que os estrógenos podem apresentar efeitos pró-convulsivantes, nenhum efeito ou efeitos anticonvulsivantes em indivíduos epiléticos (Harden, 2003; Jacono & Robertson, 1987; Peebles e cols., 2000). Da mesma forma, em modelos animais, a administração de estrógenos pode aumentar, não apresentar efeitos ou diminuir as crises (Budziszewska e cols., 2001; Hoffman e cols., 2003; Perez e cols., 1988; Reibel e cols., 2000). Existem também fortes evidências de que os estrógenos podem aumentar os efeitos anticonvulsivantes da progesterona em modelos de crises induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) (Frye & Rhodes, 2005).

Existem vários modelos para o estudo das epilepsias e entre eles está o da epilepsia audiogênica, no qual a crise é induzida por estímulos sonoros de alta intensidade em animais susceptíveis. Uma colônia de ratos com essa característica foi geneticamente selecionada através de cruzamentos endogâmicos entre ratos Wistar da população geral, que apresentavam susceptibilidade natural à epilepsia audiogênica, pela Profa. Maria Carolina Doretto, no Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (Doretto e cols., 2003a). Os animais foram denominados *Wistar Audiogenic Rats* (WAR). Desta colônia inicial partiu o ramo que vem sendo mantido no Departamento de Fisiologia e Biofísica da Universidade Federal de Minas Gerais. A grande vantagem deste modelo é a de apresentar naturalmente os determinantes neuroquímicos da susceptibilidade à epilepsia.

A severidade das crises epilépticas nesses animais é determinada pelo índice de severidade (IS), que expressa uma escala linear de severidade gradual variando de 0 a 1 e é determinado de acordo com o comportamento do animal durante uma estimulação acústica (Garcia-Cairasco e cols., 1996).

Resultados anteriores dos nossos laboratórios (Doretto e cols., 2003b) mostraram que ratas WAR podem apresentar redução das crises epilépticas durante a lactação. Entretanto, algumas ratas cujos filhotes foram retirados no período pós-parto também apresentaram redução das crises, indicando que alterações induzidas pela gestação também influenciam na ação anticonvulsivante. O mecanismo envolvido nesta redução, entretanto, não foi esclarecido. O presente estudo buscou identificar alterações das concentrações de esteróides gonadais, estradiol e progesterona, que pudessem explicar a redução da severidade das crises epilépticas, induzida pela gestação, em uma parcela da população de animais geneticamente predispostos à epilepsia audiogênica. Além disto, buscou confirmar a hipótese de que alterações das concentrações de estradiol e progesterona são responsáveis pela redução da severidade das crises utilizando-se da terapia com progesterona e estradiol em diferentes esquemas de tratamento.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi investigar a relação entre alterações dos hormônios sexuais e as modificações na susceptibilidade às crises epiléticas em fêmeas WAR.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar alterações de severidade das crises epiléticas durante a gestação em ratas WAR e estabelecer possíveis relações entre as concentrações plasmáticas de estradiol e de progesterona e a severidade das crises.
- Investigar a participação do estradiol e da progesterona na redução da severidade das crises epiléticas em fêmeas WAR castradas utilizando diferentes esquemas de tratamento.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Delineamento experimental

3.1.1. Experimento 1 – Gestação

- 1) Ratas Wistar e WAR foram acasaladas com ratos Wistar resistentes à epilepsia audiogênica.
- 2) O dia de acasalamento foi determinado por esfregaço vaginal diário.
- 3) Os animais foram divididos em grupos como na tabela abaixo:

Tabela 1 - Número de animais por grupo no experimento de gestação.

	Wistar (n)	WAR (n)
7 dias de gestação	9	10
14 dias de gestação	8	11
20 dias de gestação	6	12

- 4) Todos os animais foram submetidos à estimulação sonora, no dia anterior ao sacrifício, para determinação da severidade das crises nos diferentes períodos de gestação. Dessa forma, foi possível comparar a severidade das crises antes e durante a gestação.
- 5) Os animais foram sacrificados por decapitação aos 7, 14 e 20 dias de gestação conforme a **Tabela 1**. O sangue foi retirado para dosagem plasmática de progesterona e estradiol.

3.1.2. Experimento 2 - Castração

- 1) Ratas Wistar e WAR, selecionadas após 3 testes de estimulação sonora, foram ovariectomizadas.
- 2) No 21° dia após a ovariectomia, os animais foram submetidos à estimulação sonora e no 22° dia iniciou-se a terapia hormonal.
- 3) Novas estimulações sonoras foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias de terapia hormonal e 7 dias após a suspensão do tratamento.
- 4) Ao final da quarta semana os animais foram sacrificados.

3.2. Animais

Em ambos os experimentos, foram utilizadas ratas Wistar não susceptíveis à epilepsia audiogênica provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO-UFMG) e ratas WAR susceptíveis à crise audiogênica provenientes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, com pesos variando entre 230 e 270 g. Todos os animais foram submetidos a ciclo claro-escuro de 14/10 horas e receberam ração comercial e água *ad libitum*.

3.3. Testes audiogênicos

Aos 70, 74 e 78 dias de idade, todos os animais foram submetidos à estimulação sonora de alta intensidade para avaliação da susceptibilidade epiléptica (“*screening*”). Neste teste, o animal é colocado na caixa de estimulação e submetido

a estímulo sonoro até que apresente uma crise generalizada tônico-clônica ou por um tempo máximo de um minuto. O índice de severidade das crises (IS) foi determinado de acordo com o comportamento do animal durante a estimulação. O IS expressa uma escala linear de severidade gradual variando de 0 a 1 (**Tabela 2**). Foram considerados animais resistentes os Wistar que apresentaram IS igual a 0,0 e susceptíveis os WAR com IS maior ou igual a 0,85 nos três testes do *screening*.

Tabela 2 - Índice de severidade das crises epiléticas.

0,00	Nenhum comportamento relacionado a crises.
0,11	Um episódio de corridas.
0,23	Um episódio de corridas seguido de pulos e quedas atônicas.
0,38	Dois episódios de corridas seguidos de pulos e quedas atônicas.
0,61	Tudo que foi citado acima, mais convulsão tônica, com arqueamento tônico dorsal da cabeça (opistótomo).
0,73	Tudo acima mais convulsões clônicas parciais (somente membros anteriores ou posteriores) e generalizadas (membros anteriores e posteriores).
0,85	Tudo acima mais espasmos clônicos.
0,90	Tudo acima mais flexão ventral da cabeça.
0,95	Tudo acima mais hiperextensão de membros anteriores.
1,00	Tudo acima mais hiperextensão de membros posteriores.

Durante os experimentos foram realizados novos testes audiogênicos para determinação da severidade das crises dos animais nas diferentes condições analisadas, conforme citado no delineamento experimental. O bloqueio do componente tônico da crise, ou $IS \leq 0,38$, foi considerado ação anticonvulsivante.

3.4. Esfregaço vaginal

No Experimento 1, todas as ratas foram acasaladas com machos Wistar não susceptíveis à epilepsia audiogênica. O dia de acasalamento foi determinado por esfregaço vaginal diário, realizado entre 7 e 9 hs, considerando-se como primeiro dia de gestação aquele em que foi encontrado tampão vaginal e/ou espermatozóides nas lâminas de esfregaço.

3.5. Coleta de materiais

As ratas R e WAR foram sacrificadas aos 7, 14 e 20 dias de gestação, por decapitação, no Experimento 1. O sangue foi coletado através de funis heparinizados em tubos pré-gelados contendo inibidores de proteases (Pepstatina 5×10^{-5} M, PMSF 10^{-5} M, EDTA 10^{-5} M). Após centrifugação do sangue (1.500.g, 20 min., 4°C), o plasma foi separado e conservado em freezer a -80°C até a realização das dosagens hormonais por radioimunoensaio.

3.5.1. Radioimunoensaio para estradiol

Para a determinação do estradiol plasmático utilizou-se o kit Maia (Adaltis). Amostras de plasma diluídas 10 vezes (50 µl), em duplicata, foram incubadas com 20 µl de anticorpo anti-estradiol e 20 µl de ^{125}I -estradiol por uma hora a 37°C. A separação do imunocomplexo foi feita por precipitação com segundo anticorpo marcado com íon metálico. Após 10 minutos de incubação com o segundo anticorpo, em temperatura ambiente, os tubos foram colocados em placa magnética por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e a radioatividade do imunocomplexo determinada por contador gama.

3.5.2. Radioimunoensaio para progesterona

Para a determinação das concentrações de progesterona plasmática utilizou-se o kit Maia (Adaltis). Amostras de plasma (5 µl), em duplicata, foram incubadas com 40 µl de anticorpo anti-progesterona e 40 µl de ¹²⁵I-progesterona por uma hora a 37°C. A separação do imunocomplexo foi feita por precipitação com segundo anticorpo marcado com íon metálico. Após 10 minutos de incubação com o segundo anticorpo, em temperatura ambiente, os tubos foram colocados em placa magnética por 20 minutos. O sobrenadante foi retirado e a radioatividade do imunocomplexo foi determinada por contador gama.

3.6. Anestesia e ovariectomia

No Experimento 2, os animais foram previamente anestesiados com tribromoetanol 2,5% (1mL/100g de peso corporal, *ip*) e submetidos à ovariectomia bilateral, 21 dias antes do início da terapia hormonal. Após incisão bilateral nos flancos, os ovários foram removidos e a pele suturada.

3.7. Terapia hormonal

As ratas Wistar e WAR, 21 dias após a ovariectomia, foram submetidas à terapia hormonal, de acordo com o esquema apresentado na **Tabela 3**:

Tabela 3 - Tratamento hormonal e número de animais do experimento de castração.

		1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	n
Wistar	Grupo 1	Veículo	Veículo	Veículo	s/ tratamento	5
	Grupo 2	E+P	E+P	E+P	s/ tratamento	5
	Grupo 3	E	P	P	s/ tratamento	5
	Grupo 4	P	P	P	s/ tratamento	6
WAR	Grupo 1	Veículo	Veículo	Veículo	s/ tratamento	5
	Grupo 2	E+P	E+P	E+P	s/ tratamento	6
	Grupo 3	E	P	P	s/ tratamento	6
	Grupo 4	P	P	P	s/ tratamento	6

Veículo: óleo de milho na dose de 0,1mL/100g de peso corporal; E: estrógeno (Hexaidrobenzoato de Estradiol - Benzoginoestril), 1µg/100g de peso corporal; P: progesterona, (Acetato de Medroxiprogesterona - Depo®-Provera®) 500µg.

3.8. Análise estatística

Os resultados dos experimentos são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o teste *One-way ANOVA* (análise de variâncias) seguido por *Newman-Keuls*. O teste t de *Student* e o teste Q de *Cochran* foram realizados quando apropriado. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1 – Gestação

A **Figura 1** mostra que as WAR não apresentaram diferenças nas concentrações plasmáticas de estradiol aos 7 e aos 14 dias de gestação em relação às ratas Wistar, mas concentração significativamente maior foi observada aos 20 dias de gestação (Wistar: $10,71 \pm 0,55$ vs WAR: $13,04 \pm 0,52$ pg/mL; $p < 0,05$).

Observa-se na, **Figura 2**, que as concentrações de progesterona das WAR foram mais elevadas que a das ratas Wistar na primeira semana de gestação (Wistar: $38,97 \pm 4,41$ vs WAR: $76,34 \pm 5,51$ ng/mL; $p < 0,05$), mas permaneceram similares aos 14 e 20 dias.

Nenhuma alteração na severidade das crises epiléticas foi observada aos 7 e aos 14 dias de gestação nas WAR. Entretanto, na terceira semana de gestação (20 dias), houve redução das crises em 50% das WAR, sendo que 33% dos animais desse grupo apresentaram IS=0,0, conforme ilustrado na **Figura 3**. Devido a esses resultados, análises foram feitas separando-se as duas populações de WAR: os animais que apresentaram redução da severidade das crises aos 20 dias de gestação e aqueles que não apresentaram redução.

Como pode ser observado na **Figura 4**, a análise individual dos animais aos 20 dias de gestação revelou que as WAR com redução das crises (RSI) apresentaram concentrações de estradiol maiores do que aqueles com severidade não reduzida

(NRSI) ($14,38 \pm 0,26$ e $11,70 \pm 0,64$ pg/mL, respectivamente; $p=0,0032$). Também as concentrações de progesterona (**Figura 5**) foram significativamente maiores nas ratas que apresentaram redução das crises do que nas que não apresentaram ($52,45 \pm 12,92$ e $17,61 \pm 3,29$ ng/mL, respectivamente; $p=0,0259$). Além disso, a concentração de estradiol plasmática do grupo NRSI foi semelhante à do grupo Wistar aos 20 dias de gestação, enquanto a concentração de progesterona em NRSI foi menor que o controle. O grupo RSI apresentou concentração de estradiol superior à do grupo Wistar aos 20 dias de gestação. A concentração de progesterona em RSI permaneceu semelhante à do controle (dados não mostrados).

A **Figura 6** mostra que não somente as concentrações de estradiol e progesterona são maiores nas ratas que apresentaram redução da severidade das crises convulsivas aos 20 dias de gestação, mas também a relação P/E encontra-se aumentada (RSI: $3,66 \pm 0,91$ vs. NRSI: $1,50 \pm 0,29$; $p=0,0474$). Além disso, as WAR com redução das crises aos 20 dias de gestação apresentaram relação P/E similar às ratas Wistar enquanto os animais que não tiveram redução das crises apresentaram relação P/E menor que a das ratas Wistar ($p < 0,05$; **Figura 7**).

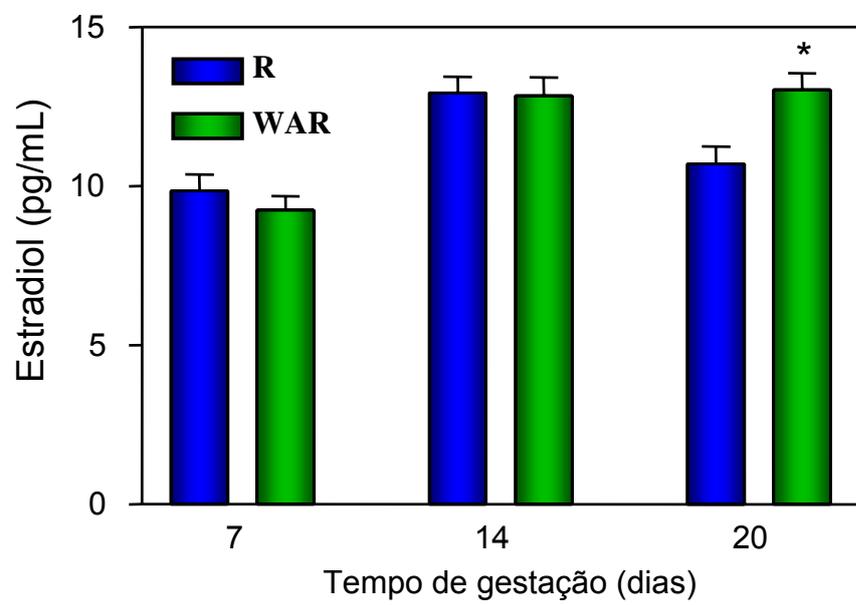


Figura 1. Concentração plasmática de estradiol em ratas R e WAR durante a gestação. *, $p < 0,05$ em relação a R 20 dias.

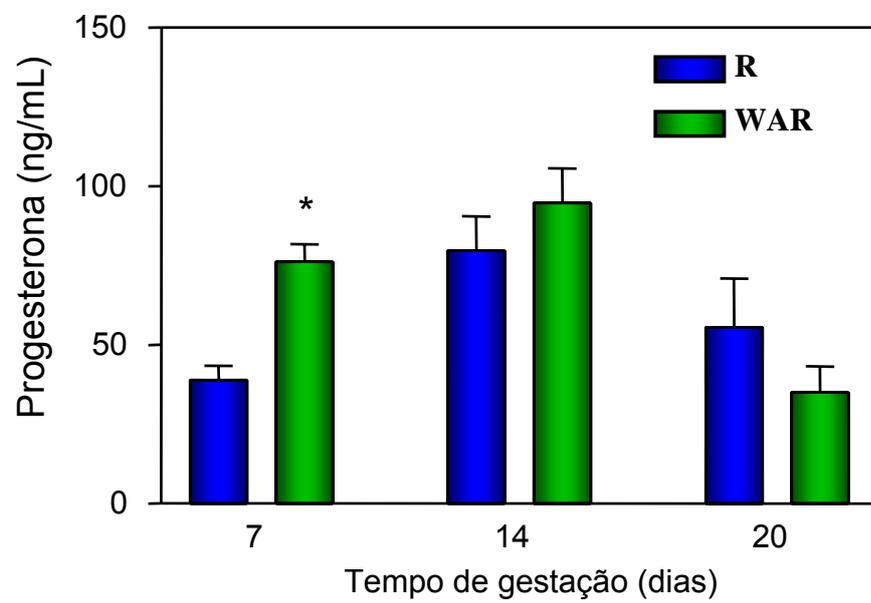


Figura 2. Concentração plasmática de progesterona em ratas R e WAR durante a gestação. *, $p < 0,05$ em relação a R 7 dias.

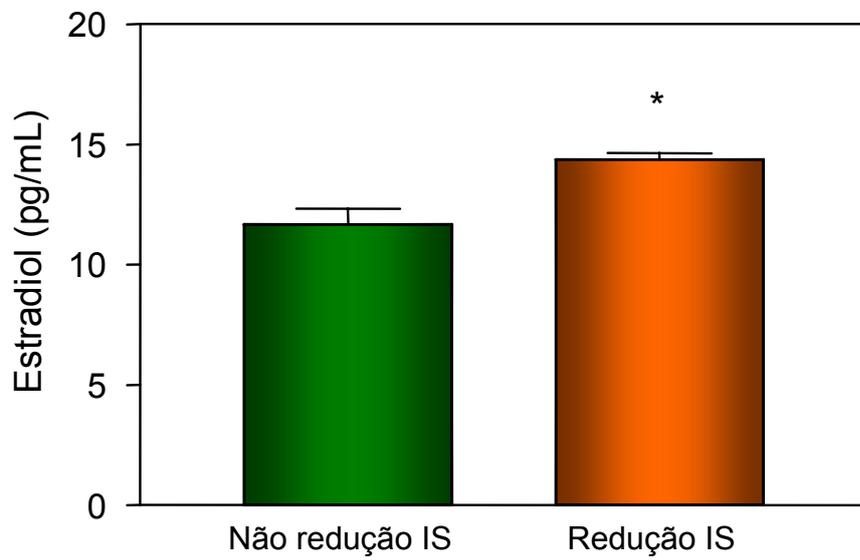


Figura 4. Concentração plasmática de estradiol em ratas WAR que não apresentaram e que apresentaram redução da severidade das crises epiléticas aos 20 dias de gestação. *, $p=0,0032$.

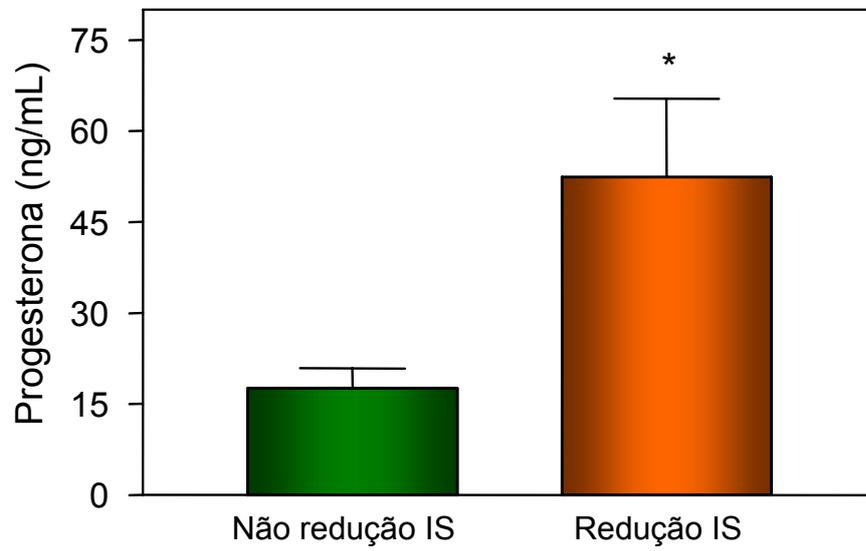


Figura 5. Concentração plasmática de progesterona em ratas WAR que não apresentaram e que apresentaram redução da severidade das crises epilépticas aos 20 dias de gestação. *, $p=0,0259$.

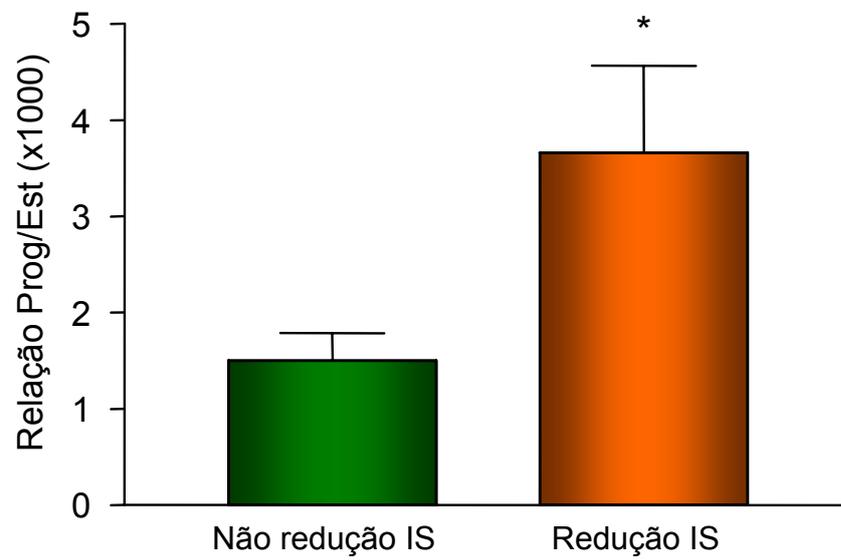


Figura 6. Relação entre progesterona e estradiol plasmáticos em ratas WAR que não apresentaram e que apresentaram redução da severidade das crises epiléticas aos 20 dias de gestação. *, $p=0,0474$.

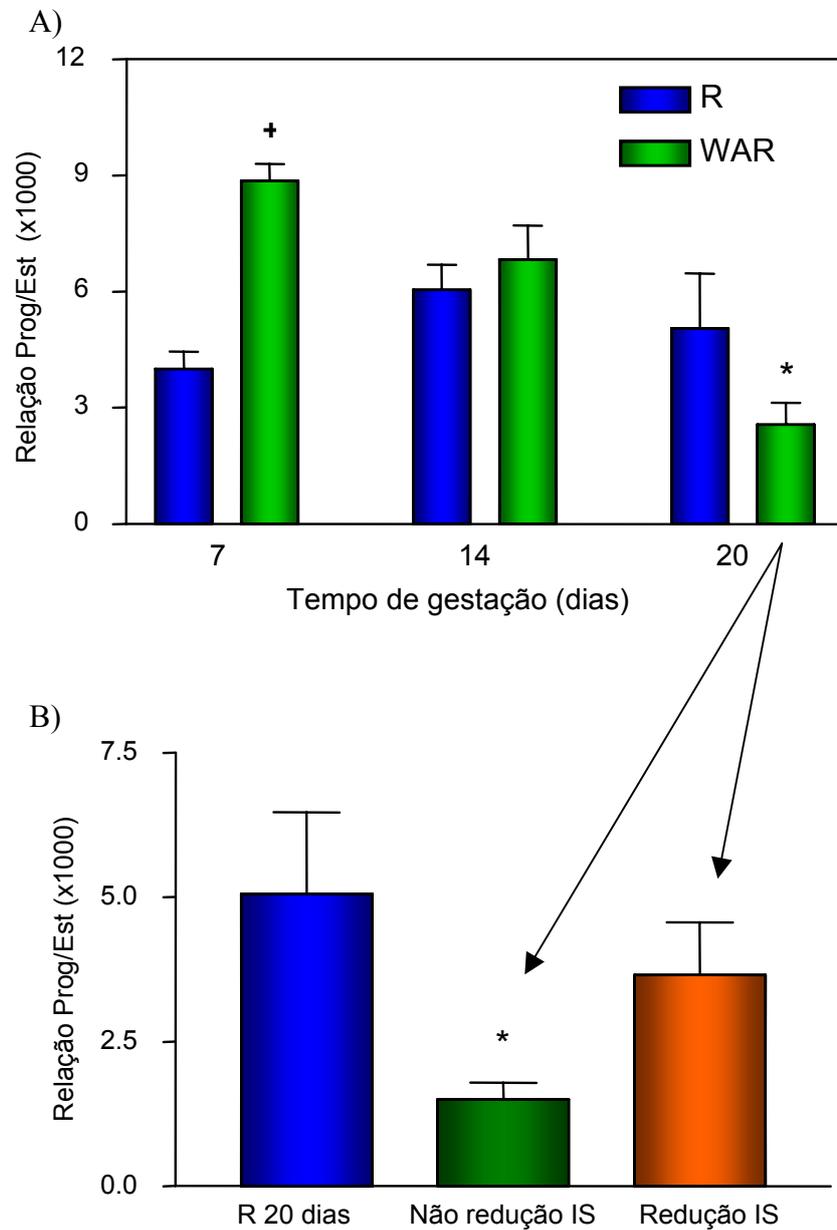


Figura 7. Relação entre progesterona e estradiol plasmáticos **A)** em todos as ratas Wistar e WAR; **B)** em ratas WAR que não apresentaram redução da severidade das crises epilépticas aos 20 dias de gestação e em ratas WAR que apresentaram redução da severidade das crises epilépticas aos 20 dias de gestação. +, $p < 0,001$ em relação a R 7 dias; *, $p < 0,05$ em relação a R 20 dias.

4.2. Experimento 2 – Castração

A **Tabela 4** mostra a severidade das crises epiléticas em fêmeas resistentes e WAR durante o *screening*, após 21 dias de ovariectomia e durante e após o tratamento hormonal. A **Figura 8** mostra o número de animais apresentando crises convulsivas tônico-clônicas durante o experimento. Pode-se observar que a severidade das crises audiogênicas não sofreu alterações após a ovariectomia dos animais. Observa-se que a maior redução no número de animais com crises tônico-clônicas ocorreu na terceira semana, em todos os grupos submetidos à terapia hormonal, semelhante aos resultados do Experimento 1, no qual foi observada redução das crises somente aos 20 dias de gestação.

Os grupos de WAR que receberam veículo não apresentaram redução das crises durante todo o experimento, enquanto os animais que receberam progesterona com estrógeno por três semanas apresentaram redução da severidade das crises na terceira semana de terapia, $p < 0,05$ (**Figura 8**).

A **Figura 9** mostra que 67% dos animais susceptíveis à epilepsia audiogênica que receberam progesterona com estrógeno, em ambos os regimes testados, apresentaram redução das crises enquanto somente 33% dos animais que receberam apenas progesterona apresentaram redução do IS.

O grupo em que foi administrado estradiol por uma semana seguida por duas semanas de progesterona apresentou redução da média do IS de $0,93 \pm 0,02$ para $0,33 \pm 0,21$ na terceira semana. A média do IS dos animais que receberam apenas

progesterona foi de $0,98 \pm 0,02$, antes da terapia, para $0,72 \pm 0,18$, após três semanas de terapia (**Tabela 4**). Nenhuma das ratas Wistar apresentou crise convulsiva em qualquer etapa do experimento.

Tabela 4

Severidade das crises epilépticas em fêmeas resistentes e WAR durante o *screening*, após 21 dias de ovariectomia e, durante e após o tratamento hormonal.

Grupo 1 - Controle (óleo)

					antes trat	1s trat	2s trat	3s trat	1s s/ trat
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
R1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
Média				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
EPM				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
W1	0,85	0,95	0,85	0,88	0,95	1,00	1,00	1,00	1,00
W2	0,95	0,95	0,85	0,92	0,95	1,00	1,00	1,00	1,00
W3	0,85	0,95	0,90	0,90	1,00	0,95	1,00	1,00	1,00
W4	0,90	0,85	0,90	0,88	1,00	0,73	0,90	0,85	0,85
W5	0,85	0,85	0,85	0,85	0,90	0,95	0,95	0,95	0,95
Média				0,89	0,96	0,93	0,97	0,96	0,96
EPM				0,01	0,02	0,05	0,02	0,03	0,03

Grupo 2 - Estradiol + Progesterona

					antes trat	1 est+prog	2 est+prog	3 est+prog	1s s/ trat
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
R6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R7	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
EPM				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
W6	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	1,00	1,00	0,23	1,00
W7	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95	1,00	1,00	0,23	1,00
W8	0,85	0,85	0,85	0,85	0,95	0,95	1,00	0,00	0,95
W9	0,85	0,90	0,90	0,88	0,85	0,95	0,95	0,95	1,00
W10	0,95	0,95	0,95	0,95	0,90	0,95	0,00	1,00	1,00
W11	0,85	0,90	0,85	0,87	1,00	0,00	0,95	0,00	0,95
Média				0,91	0,93	0,81	0,82	0,40	0,98
EPM				0,02	0,02	0,16	0,16	0,19	0,01

Continuação da tabela 4.

Grupo 3 - Progesterona com 1 semana estradiol

	antes trat		1s est	1s prog	2s prog	1s s/ trat			
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
R11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
EPM				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
W12	0,95	0,85	0,95	0,92	0,95	0,00	0,00	0,00	0,11
W13	0,90	0,85	0,85	0,87	0,95	0,95	1,00	0,00	1,00
W14	0,85	0,95	0,95	0,92	0,90	1,00	0,85	0,00	0,85
W15	0,90	0,85	0,90	0,88	0,95	0,85	1,00	0,00	1,00
W16	0,95	0,95	0,95	0,95	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
W17	0,90	0,90	0,90	0,90	0,85	0,23	0,95	1,00	0,85
Média				0,91	0,93	0,67	0,80	0,33	0,80
EPM				0,01	0,02	0,18	0,16	0,21	0,14

Grupo 4 - Progesterona

	antes trat		1s prog	2s prog	3s prog	1s s/ trat			
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
R16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
R21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Média				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
EPM				0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rata	IS1	IS2	IS3	Média	teste1	teste2	teste3	teste4	teste5
W18	0,90	0,95	0,85	0,90	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00
W19	0,85	0,90	0,85	0,87	1,00	0,95	1,00	1,00	1,00
W20	0,85	0,85	0,90	0,87	0,95	0,95	1,00	0,95	1,00
W21	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,95	0,95	1,00	1,00
W22	0,90	0,85	0,90	0,88	1,00	0,95	0,95	0,38	0,85
W23	0,90	0,85	0,90	0,88	1,00	0,95	0,95	1,00	0,95
Média				0,88	0,98	0,79	0,81	0,72	0,80

R, rata Wistar não-susceptível à epilepsia audiogênica; W, *Wistar Audiogenic Rats* (WAR); IS, índice de severidade da crise durante o *screening*; Teste 1, teste audiogênico realizado 21 dias após a ovariectomia; Testes 2, 3 e 4, testes audiogênicos realizados nos dias 7, 14 e 21 de tratamento, respectivamente; Teste 5, realizado 7 dias após suspensão do tratamento; s, semana; trat, tratamento; est, hexaidrobenzoato de estradiol (1µg/100g de peso corporal/dia); prog, acetato de medroxiprogesterona (500µg/dia). O bloqueio do componente tônico da crise, ou IS≤0,38, foi considerado ação anticonvulsivante. As células em azul representam redução das crises; as células em laranja representam ausência de crises.

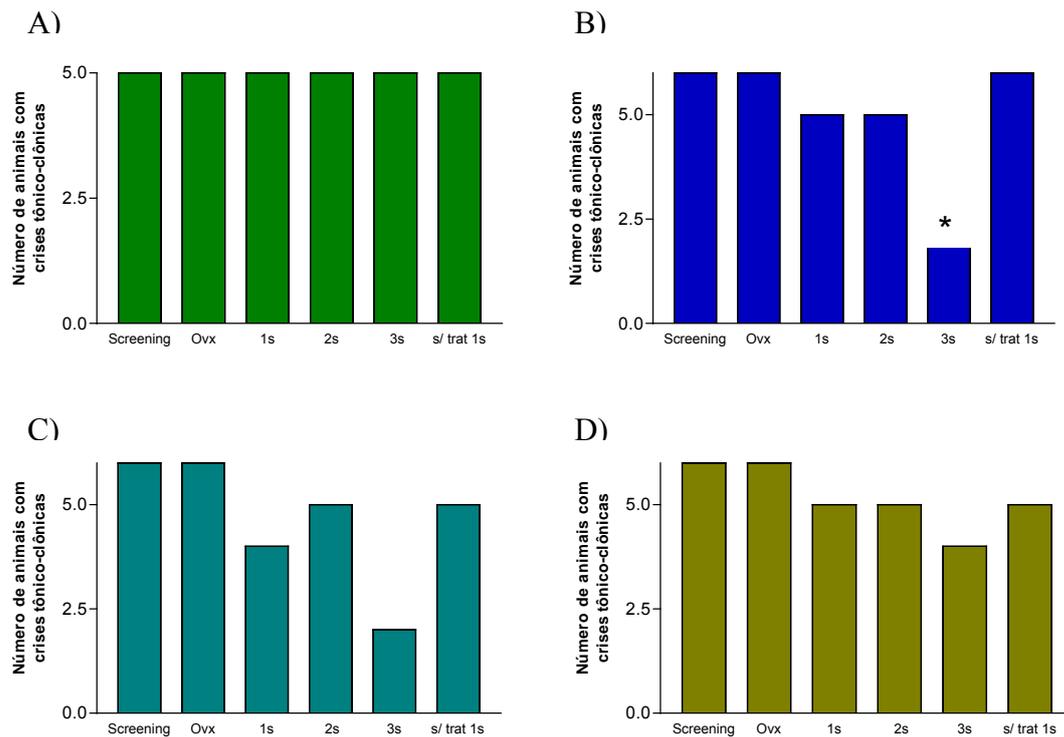


Figura 8. Número de animais apresentando crises convulsivas tônico-clônicas durante o experimento. **A)** óleo de milho (0,1ml/100g de peso corporal/dia) por três semanas (1s, 2s e 3s). **B)** hexaidrobenzoato de estradiol (1 μ g/100g de peso corporal/dia) e acetato de medroxiprogesterona (500 μ g/dia) combinados por três semanas (1s, 2s e 3s). **C)** hexaidrobenzoato de estradiol (1 μ g/100g de peso corporal/dia) por uma semana (1s) e acetato de medroxiprogesterona (500 μ g/dia) nas duas semanas seguintes (2s e 3s). **D)** acetato de medroxiprogesterona (500 μ g) por três semanas (1s, 2s e 3s). *Screening*, todos os animais apresentaram crises tônico-clônicas nos três dias de *screening*; *Ovx*, após 21 dias da ovariectomia; *s*, semana; *s/trat 1s*, após uma semana sem tratamento; *, $p < 0,05$, conforme detectado pelo teste Q de *Cochran*.

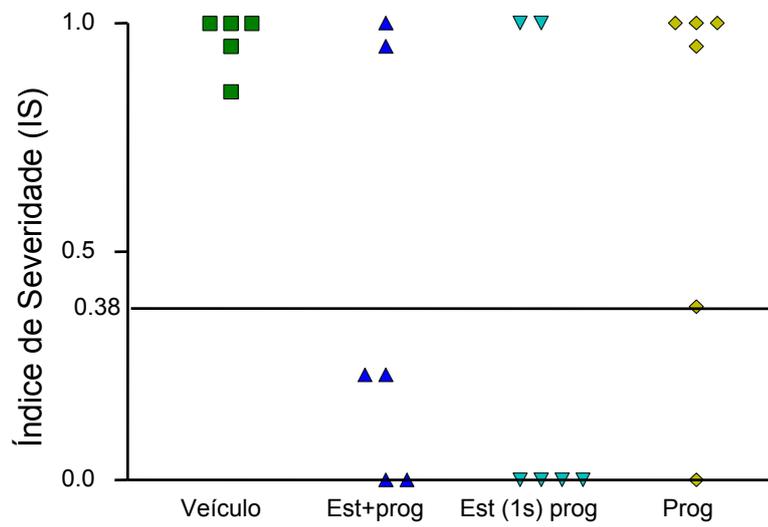


Figura 9. Índice de severidade das crises nas ratas WAR na terceira semana de terapia hormonal. $IS \leq 0,38$ indica bloqueio do componente tônico da crise. S, semana; Est, hexaidrobenzoato de estradiol ($1\mu\text{g}/100\text{g}$ de peso corporal/dia); Prog, acetato de medroxiprogesterona ($500\mu\text{g}/\text{dia}$).

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A gestação reduziu a intensidade das crises epiléticas audiogênicas em uma parcela da população de WAR, como havia sido observado anteriormente (Doretto e cols., 2003b). Esta redução foi observada aos 20 dias de gestação em 50% das WAR, sendo que 33% dos animais apresentaram ausência total de crises nesse período. Nenhuma alteração na severidade das crises epiléticas foi observada aos 7 ou 14 dias de gestação nas WAR. As ratas que tiveram redução das crises epiléticas apresentaram concentrações de progesterona e de estrógeno maiores do que as que não apresentaram redução das crises.

A participação dos esteróides gonadais na redução das crises convulsivas foi confirmada pelo tratamento de ratas WAR, ovariectomizadas, com progesterona associada ou não ao estradiol. O estradiol potenciou o efeito da progesterona, em ambos os regimes testados, resultando em redução das crises em 67% das WAR. No tratamento com progesterona sem estradiol, esta redução ocorreu em somente 33% das WAR. De forma semelhante ao ocorrido durante a gestação, o efeito só foi observado na terceira semana de tratamento. Além disso, como pode ser observado, nossos resultados sugerem um efeito anticonvulsivante mais pronunciado quando o estradiol é aplicado anteriormente à aplicação da progesterona, ou seja, em regime seqüencial.

Na gestação, a relação entre progesterona e estrógeno parece ser mais importante para a redução das crises audiogênicas do que os níveis individuais desses hormônios. A presença de uma relação P/E alta e estável esteve associada aos

efeitos anticonvulsivantes da gestação em WAR. A redução da severidade das crises ocorreu na terceira semana em ambos os experimentos. Esses resultados mostram que níveis elevados de progesterona auxiliam na redução das crises em animais WAR e que os estrógenos apresentam um importante papel nos efeitos anticonvulsivantes.

Existem dois mecanismos pelos quais a progesterona pode afetar a susceptibilidade às crises. A progesterona ou a 5-alfa diidroprogesterona, produto de seu metabolismo, podem se ligar ao receptor de progesterona, que é um fator de transcrição, levando à ativação ou ao silenciamento de genes nas células-alvo ou, os produtos do metabolismo da progesterona, 5-alfa diidroprogesterona e alopregnenolona, podem atuar sobre o receptor GABA_A levando à redução da susceptibilidade às crises (Reddy, 2004).

O estradiol poderia aumentar as ações anticonvulsivantes da progesterona por estimular a síntese de receptores para progesterona (Nussey & Whitehead, 2001), apesar de não termos avaliado este parâmetro no nosso modelo experimental. No entanto, em outros modelos de epilepsia, os efeitos inibitórios da progesterona sobre as crises não estão relacionados às interações clássicas com os receptores de progesterona (PR), pois a atividade inibitória da progesterona não é bloqueada por antagonistas do seu receptor (Mohammad e cols., 1998) e não é diminuída em camundongos *knockout* para PR (Reddy e cols., 2004). A progesterona poderia reduzir a severidade das crises, em parte, devido às ações de seu metabólito alopregnenolona, que se liga a seu sítio no receptor GABA_A, causando abertura dos canais de cloreto e diminuindo a excitabilidade neuronal (Herzog & Frye, 2003;

Reddy, 2004; Reddy e cols., 2004). Os efeitos anticonvulsivantes ou pró-convulsivantes provenientes da progesterona, dependem das concentrações de alopregnenolona produzidas e da duração da exposição a esse metabólito (Frye & Bayon, 1998; Hoffman e cols., 2003; Moran & Smith, 1998). As reduções nas crises catameniais se correlacionam melhor ao aumento da alopregnenolona do que ao aumento da progesterona durante o ciclo menstrual (Rhodes e cols., 2004). Além disso, a inibição da alopregnenolona aumenta a ocorrência de crises epiléticas em modelos animais (Herzog & Frye, 2003).

Entretanto, nos trabalhos que mostram ações dos metabólitos da progesterona sobre o receptor GABA_A, os efeitos ocorrem rapidamente, o que é inconsistente com as ações genômicas do hormônio; enquanto nos animais WAR, os efeitos anticonvulsivantes só ocorreram após três semanas em ambos os experimentos. Portanto, as ações genômicas da progesterona, através da ligação ao PR, não podem ser descartadas nesse modelo.

Um estudo recente revela um efeito anticonvulsivante do estrógeno quando administrado antes da progesterona (regime de *priming*). O *priming* de estrógeno amplifica os efeitos anticonvulsivantes da progesterona, em parte, por aumentar a formação de outras progestinas no modelo de crises induzidas por PTZ. A alopregnenolona apresenta-se aumentada no hipocampo de animais que receberam aplicação de estrógeno anterior à de progesterona quando comparados a animais que receberam somente progesterona no modelo de PTZ (Frye & Rhodes, 2005). Estudos têm tentado esclarecer como os estrógenos podem acentuar a síntese de novo de progesterona no cérebro (Micevych e cols., 2003). Os estrógenos poderiam

aumentar os efeitos anticonvulsivantes da progesterona em WAR por modificar a síntese de progestinas (Cheng & Karavolas, 1975; Micevych e cols., 2003; Vongher & Frye, 1999).

Em resumo, os resultados apresentados neste trabalho demonstram o envolvimento dos esteróides gonadais, progesterona e estradiol, na redução das crises convulsivas em WAR. Mostram, também, que o estradiol pode aumentar os efeitos anticonvulsivantes da progesterona em animais susceptíveis à epilepsia audiogênica. Para que os efeitos anticonvulsivantes ocorram é necessária uma exposição contínua e estável à progesterona e ao estradiol, pois esses efeitos só foram alcançados após três semanas nos dois experimentos realizados.

6. CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, este trabalho demonstrou o importante papel dos esteróides gonadais, progesterona e estradiol, na redução das crises convulsivas em WAR. Mostrou também que o estradiol intensifica a ação anticonvulsivante da progesterona.

Como os hormônios esteróides representam uma estratégia terapêutica emergente como uma alternativa ou suplemento às drogas antiepiléticas tradicionais, torna-se importante um melhor entendimento dos efeitos desses hormônios sobre as crises.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMADO D, CAVALHEIRO EA. Hormonal and gestational parameters in female rats submitted to the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res*, v.32, p.266-274, 1998.

BACKSTROM T. Epileptic seizures in women related to plasma estrogen and progesterone during the menstrual cycle. *Acta Neurol Scand*, v.54, p.321-47, 1976.

BUDZISZEWSKA B, LESKIEWICZ M, KUBERA M, JAWORSKA-FEIL L, KAJTA M, LASON W. Estrone, but not 17 β -estradiol, attenuates kainate-induced seizures and toxicity in male mice. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, v.109, p.168-73, 2001.

CHENG YJ, KARAVOLAS HJ. Subcellular distribution and properties of progesterone (Δ^4 -steroid) 5 α -reductase in rat medial basal hypothalamus. *J Biol Chem*, v.250, p.7997-8003, 1975.

DORETTO MC, FONSECA CG, TERRA VC, OLIVEIRA JAC, GARCIA-CAIRASCO N. Quantitative study of the response to genetic selection of the wistar audiogenic rat strain (WAR). *Behav Gen*, v.33, p.33-42, 2003a.

DORETTO MC, OLIVEIRA-E-SILVA M, FERREIRA-ALVES DL, PIRES SG, GARCIA-CAIRASCO N, REIS AM. Effect of lactation on the expression of audiogenic seizures: association with plasma prolactin profiles. *Epilepsy Res*, v.54, p.109-21, 2003b.

EDWARDS HE, MACLUSKY NJ, BURNHAM WM. The effect of seizures and kindling on reproductive hormones in the rat. *Neurosci Biobehav Rev*, n.24, p.753-762, 2000.

FRYE CA, BAYON LE. Seizure activity is increased in endocrine states characterized by decline in endogenous levels of the neurosteroid 3 α ,5 α -THP. *Neuroendocrinology*, v.68, p.272-80, 1998.

FRYE CA, RHODES ME. Estrogen-priming can enhance progesterone's anti-seizure effects in part by increasing hippocampal levels of allopregnanolone. *Pharmacol Biochem Behav*, v.81, p.907-916, 2005.

GARCIA-CAIRASCO N, WAKAMATSU H, OLIVEIRA JAC, GOMES ELT, DEL BEL EA, MELLO LEAM. Neuroethological and morphological (Neo-Timm staining) correlates of limbic recruitment during the development of audiogenic kindling in seizure susceptible Wistar rats. *Epilepsy Res*, v.26, p.177-192, 1996.

GUERREIRO CAM, GUERREIRO MM, CENDES F, LOPES-CENDES I. *Epilepsia*. Lemos Editorial, São Paulo, 2000.

HARDEN CL. Menopause and bone density issues for women with epilepsy. *Neurology*, v.61, p.S16-22, 2003.

HERZOG AG, FRYE CA. Seizure exacerbation associated with inhibition of progesterone metabolism. *Ann Neurol*, v.53, p.390-391, 2003.

HERZOG AG, KLEIN P, RANSIL BJ. Three patterns of catamenial epilepsy. *Epilepsia*, v.38, p.1082-1088, 1997.

HERZOG AG. Reproductive endocrine considerations and hormonal therapy for women with epilepsy. *Epilepsia*, v.32, p.S27-33, 1991.

HOFFMAN GE, MOORE N, FISKUM G, MURPHY AZ. Ovarian steroid modulation of seizure severity and hippocampal cell death after kainic acid treatment. *Exp Neurol*, v.182, p.124-34, 2003.

JACONO JJ, ROBERTSON JM. The effects of estrogen, progesterone, and ionized calcium on seizures during the menstrual cycle of epileptic women. *Epilepsia*, v.28, p.571-7, 1987.

MICEVYCH P, SINCHAK K, MILLS RH, TAO L, LAPOLT P, LU JK. The luteinizing hormone surge is preceded by an estrogen-induced increase of hypothalamic progesterone in ovariectomized and adrenalectomized rats. *Neuroendocrinology*, v.78, p.29- 35, 2003.

MOHAMMAD S, ABOLHASSAN A, POURGHOLAMI MH. Evaluation of the anticonvulsant profile of progesterone in male amygdala-kindled rats. *Epilepsy Res*, v.30, p.195-202, 1998.

MORAN MH, SMITH SS. Progesterone withdrawal I: pro-convulsant effects. *Brain Res*, v.807, p.84-90, 1998.

MORRELL MJ. Epilepsy in women. *Am Fam Physician*, v.66, p.1489-94, 2002.

MORRELL MJ. Hormones and epilepsy through the lifetime. *Epilepsia*, v.33, n.4, p.49-59, 1992.

MORRIS III GL, VANDERKOLK C. Human sexuality, sex hormones, and epilepsy. *Epilepsy Behav*, n.7, p.S22-S28, 2005.

NUSSEY SS, WHITEHEAD SA. *Endocrinology: an integrated approach*. Taylor & Francis Group, 2001.

PEEBLES CT, MCAULEY JW, MOORE JL, MALONE HJ, REEVES AL. Hormone replacement therapy in a postmenopausal woman with epilepsy. *Ann Pharmacother*, v.34, p.1028-31, 2000.

PEREZ J, ZUCCHI I, MAGGI A. Estrogen modulation of the gamma-aminobutyric acid receptor complex in the central nervous system of rat. *J Pharmacol Exp Ther*, v.244, p.1005-10, 1988.

PIMENTEL J. Current issues on epileptic women. *Curr Pharm Des*, v.6 p.865-72, 2000.

REDDY DS, CASTANEDA DC, O'MALLEY BW, ROGAWSKI MA. Anticonvulsant activity of progesterone and neurosteroids in progesterone receptor knockout mice. *J Pharmacol Exp Ther*, v.310, n.1, p.230-239, 2004.

REDDY DS. Role of neurosteroids in catamenial epilepsy. *Epilepsy Res*, v.62, p.99-118, 2004.

REIBEL S, ANDRE V, CHASSAGNON S, ANDRE G, MARESCAUX C, NEHLIG A, DEPAULIS A. Neuroprotective effects of chronic estradiol benzoate treatment on hippocampal cell loss induced by status epilepticus in the female rat. *Neurosci Lett*, v.281, p.79-82, 2000.

RHODES ME, FRYE CA. Actions at GABA_A receptors in the hippocampus may mediate some antiseizure effects of progestins. *Epilepsy Behav*, v.6, p.320-327, 2005.

RHODES ME, HARNEY JP, FRYE CA. Gonadal, adrenal, and neuroactive steroids' role in ictal activity. *Brain Res*, v.1000, p.8-18, 2004.

VALENTE SG, NAFFAH-MAZZACORATTI MG, PEREIRA M, SILVA I, SANTOS NF, BARACAT EC, CAVALHEIRO EA, AMADO D. Castration in female rats modifies the development of the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsy Res*, v.49, p.181-188, 2002.

VONGHER JM, FRYE CA. Progesterone in conjunction with estradiol has neuroprotective effects in an animal model of neurodegeneration. *Pharmacol Biochem Behav*, v.64, p.777- 85, 1999.

YACUBIAN EMT. *Epilepsia – Da Antigüidade ao Segundo Milênio: Saindo das Sombras*. Lemos Editorial, São Paulo, 2000.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)