



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS – PPGVET

YOLANDA PAIM ARRUDA TREVISAN

**ANÁLISE ELETROCARDIOGRÁFICA, DA PRESSÃO ARTERIAL E DE  
CITOCINAS SÉRICAS EM CÃES EPILÉPTICOS**

Cuiabá - MT

2024

YOLANDA PAIM ARRUDA TREVISAN

**ANÁLISE ELETROCARDIOGRÁFICA, DA PRESSÃO ARTERIAL E DE  
CITOCINAS SÉRICAS EM CÃES EPILÉPTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Mato Grosso, para obtenção do título de Doutor em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Prof. Dra. Valéria Régia Franco Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Bruno Benetti Junta Torres

Cuiabá – MT

2024

### Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

TS14a Trevisan, Yolanda Paim Arruda.

Análise eletrocardiográfica, da pressão arterial e de citocinas séricas em cães epiléticos [recurso eletrônico] / Yolanda Paim Arruda Trevisan. -- Dados eletrônicos (1 arquivo : 87 f., pdf). -- 2024.

Orientadora: Valéria Régia Franco Sousa.

Coorientador: Bruno Benetti Junta Torres.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Cuiabá, 2024.

Modo de acesso: World Wide Web: <https://ri.ufmt.br>.

Inclui bibliografia.

1. crises epiléticas. 2. morte súbita. 3. neuroinflamação. 4. sudep. I. Sousa, Valéria Régia Franco, *orientador*. II. Torres, Bruno Benetti Junta, *coorientador*. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO**  
**PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**  
**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO: ANÁLISE ELETROCARDIOGRÁFICA, DA PRESSÃO ARTERIAL E DE CITOCINAS SÉRICAS EM CÃES EPILÉPTICOS**

**AUTORA: Doutoranda Yolanda Paim Arruda Trevisan**

Tese defendida e aprovada em 28 de fevereiro de 2024.

**COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA**

Doutora Valéria Régia Franco Sousa (Presidente Banca/Orientadora)  
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso  
Doutora Ana Carolina Mortari (Examinadora Externa)  
Instituição: Universidade de Brasília  
Doutora Mônica Vicky Bahr Arias (Examinadora Externa)  
Instituição: Universidade Estadual de Londrina  
Doutora Arleana do Bom Parto Ferreira de Almeida (Examinadora Interna)  
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso  
Doutora Danny Laura Gomes Fagundes-Triches (Examinadora Interna)  
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso  
Doutora Adriane Jorge Mendonça (Examinadora Suplente)  
Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso  
Cuiabá, 28 de fevereiro de 2024.



Documento assinado eletronicamente por **Mônica Vicky Bahr Arias, Usuário Externo**, em 29/02/2024, às 16:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **VALERIA REGIA FRANCO SOUSA, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 04/03/2024, às 10:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **ARLEANA DO BOM PARTO FERREIRA DE ALMEIDA, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 06/03/2024, às 15:45, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **DANNY LAURA GOMES FAGUNDES, Docente da Universidade Federal de Mato Grosso**, em 14/03/2024, às 13:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Carolina Mortari, Usuário Externo**, em 19/03/2024, às 13:00, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufmt.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufmt.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **6654882** e o código CRC **31B89DFD**.

## DEDICATÓRIA

Ao meu pai, Nivaldo (*in memorian*) que sempre se esforçou para que eu tivesse os melhores estudos e oportunidades que lhe faltaram.

A minha avó, Maria Stela (*in memorian*) que me ensinou a amar incondicionalmente a família e a ter fé mesmo em meio a turbulências.

Ao meu filho, Benício, por ter me mostrado o verdadeiro amor e por me mostrar que é possível conciliar a maternidade com nossos sonhos profissionais.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me capacitar diariamente, por guiar meus passos e me abençoar em todas as decisões e caminho que me fizeram chegar até aqui. Tenho certeza que Ele tem planos maravilhosos para mim.

Ao meu marido, Mateus, por acreditar em mim, as vezes mais que eu mesma, por me apoiar e fazer com que o caminho fosse sempre mais leve.

A minha mãe por ter acreditado e incentivado minha trajetória nos estudos.

A toda família Spinelli Pimenta pelo apoio com meu filho nos momentos que eu precisei me ausentar e me dedicar aos estudos.

A todos os meus amigos que, de alguma forma, me incentivaram, me apoiaram e torceram por mim.

A Pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso, *campus* Cuiabá, pela oportunidade de concluir minha formação nessa instituição.

A professora e orientadora Dr<sup>a</sup> Valéria Régia Franco Sousa por ser minha orientadora desde a época da residência. Obrigada pela compreensão, pela paciência, amizade, apoio e por compartilhar suas ideias e conhecimentos em todo esse período.

A Universidade Federal de Goiás, em nome do professor Dr. Bruno Benetti Junta Torres e suas orientadas Suelen e Luana, por me abrirem as portas do Hospital Veterinário para que eu pudesse concluir parte deste estudo.

Aos funcionários, residentes, mestrandos e doutorandos do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso, os quais me ajudaram por tantos anos em todos os meus projetos de estudos.

A todos os professores e funcionários da Faculdade de Medicina Veterinária de Cuiabá que desde a graduação fizeram parte da minha formação contribuindo cada um em sua proporção e maneira dessa conquista.

## RESUMO

A epilepsia idiopática é a doença neurológica crônica mais comum em cães. Em humanos com epilepsia há maior chance de morte súbita (Sudden Unexpected Death in Epilepsy - SUDEP), contudo ainda não está esclarecido o mecanismo, mas a hipertensão arterial pode diminuir o limiar convulsivo e precipitar crises epiléticas. Ao mesmo tempo, o início das crises está relacionado com o aumento do tônus simpático que pode elevar a pressão arterial, afetar o ritmo e a frequência dos batimentos cardíacos. Estudos com animais mostram que as vias neuroinflamatórias contribuem para o desenvolvimento e progressão da epilepsia e que podem ser alvo para terapia. No geral, a neuroinflamação é uma resposta normal que ajuda a manter a homeostase, contudo, a resposta neuroinflamatória prolongada ou muito intensa pode se tornar desfavorável, levando a uma disfunção celular. Baseado nisso, se resalta a importância de avaliar a ocorrência da epilepsia idiopática com a hipertensão arterial ou alterações de ritmo cardíaco na medicina veterinária, bem como o perfil inflamatório na epilepsia canina. Os objetivos deste estudo foram: 1) avaliar os valores de pressão arterial e achados eletrocardiográficos, além dos parâmetros hematológicos, bioquímicos séricos e urinários, e hemogasométricos em cães com epilepsia idiopática tratados com fenobarbital; 2) investigar o perfil inflamatório das citocinas em cães com epilepsia idiopática e estrutural sob tratamento em comparação com cães não epiléticos. Os valores do completo QRS e do intervalo ST foram estatisticamente diferentes entre os grupos de cães epiléticos e cães saudáveis, contudo a pressão arterial não apresentou diferença estatística. Com relação às citocinas, a concentração sérica de IFN- $\gamma$  foi significativamente diferente entre o grupo controle e cães com epilepsia estrutural. Com estes resultados, a epilepsia idiopática sugere ser uma doença que pode promover alterações na condução cardíaca e cães epiléticos apresentaram valores séricos de citocinas pro-inflamatórias reduzidos. Com base nos resultados, sugere que a epilepsia interfere na condução elétrica pelas atividades autonômicas desencadeadas durante a crise epilética e que os cães devem realizar acompanhamento cardiológico devido às complicações secundárias. A busca por biomarcadores periféricos em cães com epilepsia pode ajudar a identificar o papel da neuroinflamação no sistema nervoso desses animais.

**Palavras-Chave:** crises epiléticas; morte súbita; neuroinflamação; SUDEP.

## ABSTRACT

Idiopathic epilepsy is the most common chronic neurological disease in dogs, with a prevalence of 0.75%, and is associated with reduced life expectancy, neurobehavioral changes and a greater risk of developing comorbidities in the interictal period. In humans with epilepsy there is a greater chance of sudden death (Sudden Unexpected Death in Epilepsy - SUDEP), however the mechanism is not yet clear, but high blood pressure can lower the convulsive threshold and precipitate epileptic seizures. At the same time, the onset of crises is related to an increase in sympathetic tone, which can increase blood pressure, affect the rhythm and frequency of heartbeats, as well as electrocardiographic changes. Animal studies show that neuroinflammatory pathways contribute to the development and progression of epilepsy and can be targeted for therapy. In general, neuroinflammation is a normal response that helps maintain homeostasis, however, a prolonged or very intense neuroinflammatory response can become unfavorable, leading to cellular dysfunction. Based on this, the importance of the occurrence of idiopathic epilepsy with hypertension or changes in heart rhythm in veterinary medicine is highlighted, as well as the inflammatory profile in canine epilepsy. The objectives of this study were: 1) to evaluate blood pressure values and electrocardiographic findings, in addition to hematological, serum and urinary biochemical and blood gas parameters in dogs with idiopathic epilepsy treated with phenobarbital 2) to investigate the inflammatory profile of cytokines in dogs with epilepsy idiopathic and structural under treatment compared to non-epileptic dogs. The values of the complete QRS and ST interval were statistically different between the groups of epileptic dogs and healthy dogs, however blood pressure did not show a statistical difference. Regarding cytokines, the serum concentration of IFN- $\gamma$  was significantly different between the control group and dogs with structural epilepsy. With these results, although it is not a longitudinal study, idiopathic epilepsy suggests that it is a disease that can promote changes in cardiac conduction and epileptic dogs showed reduced serum values of pro-inflammatory cytokines. Based on the results, suggested that epilepsy interferes with electrical conduction due to the autonomic activities triggered during the epileptic seizure and that dogs should undergo cardiological monitoring due to secondary complications. Likewise, the search for peripheral biomarkers, such as cytokines, can help to develop new treatments that act on the inflammatory pathways of epilepsy.

**Keywords:** seizures; sudden death; neuroinflammation; SUDEP.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a.C.	antes de Cristo
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AMPA	Receptor de Quisqualato
APCs	Células apresentadoras de antígenos
BHE	Barreira hematoencefálica
BID	<i>Bis in die</i> – Duas vezes ao dia
CK	Creatina Quinase
d.C.	depois de Cristo
DAE	Droga antiepiléptica
DPD	Desvio Paroxístico da Despolarização
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EE	Epilepsia Estrutural
EI	Epilepsia Idiopática
EEG	Eletroencefalograma
ELT	Epilepsia Lobo Temporal
ES	<i>Status Epilepticus</i>
GABA	Ácido Gama-aminobutírico
GABAa	Ácido Gama-aminobutírico tipo A
GluN2B	Subunidade do receptor NMDA
IFN- $\gamma$	Interferon Gama
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IL-10	Interleucina 10
IL-13	Interleucina 13
IL-1 <sup>a</sup>	Interleucina 1 alfa
IL-1ra	Antagonista do receptor de Interleucina 1
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-7	Interleucina 7
IL-8	Interleucina 8
IM	Intramuscular
IV	Intravenoso

KBr	Brometo de Potássio
LCR	Líquido cefalorraquidiano
NFK- $\beta$	Fator Nuclear Kappa Beta
NMDA	N-metil-D-Aspartato
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
QID	<i>Quater in die</i> – Quatro vezes ao dia
RM	Ressonância Magnética
SNC	Sistema Nervoso Central
SRMA	Meningite arterite responsiva a esteroides
SUDEP	Morte súbita inesperada em epilepsia
T4	Tetraiodotironina
TC	Tomografia Computadorizada
TID	<i>Ter in die</i> – Três vezes ao dia
TLRs	Receptores Toll-Like
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TSH	Hormônio Tireoestimulante

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
2.1	Histórico .....	17
2.2	Tipos de Epilepsia .....	20
2.3	Fisiopatologia da Epilepsia .....	21
2.4	Epidemiologia da Epilepsia .....	24
2.5	Diagnóstico da Epilepsia .....	24
2.6	Tratamento da Epilepsia .....	26
2.7	SUDEP – Sudden Unexpected Death in Epilepsy .....	30
2.8	Inflamação e Imunidade no Sistema Nervoso Central .....	31
2.8.1	Citocinas .....	37
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>41</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>42</b>
4.1	Procedimento Ético .....	42
4.2	Animais .....	42
4.3	Avaliação Clínica e Neurológica .....	42
4.4	Coleta de Amostras .....	43
4.5	Processamento das Amostras .....	43
4.6	Eletrocardiograma .....	44
4.7	Outros exames complementares .....	44
4.8	Análise Estatística .....	44
4.9	Animais .....	45
4.10	Avaliação Clínica e Neurológica .....	45
4.11	Coleta de Amostras .....	46
4.12	Mensuração das Citocinas .....	46
4.13	Análise Estatística .....	46
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>47</b>
	<b>APÊNDICE A</b> .....	<b>53</b>
	<b>APÊNDICE B</b> .....	<b>54</b>
	<b>APÊNDICE C</b> .....	<b>55</b>
	<b>APÊNDICE D</b> .....	<b>56</b>
	<b>APÊNDICE E</b> .....	<b>68</b>

<b>APÊNDICE F .....</b>	<b>69</b>
<b>APÊNDICE G .....</b>	<b>70</b>
<b>APÊNDICE H .....</b>	<b>86</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>87</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A epilepsia idiopática (EI) é a doença neurológica crônica mais comum em cães, com prevalência de 0,75%, e está associada à redução da expectativa de vida, mudanças neurocomportamentais e ao maior risco de desenvolver comorbidades no período interictal. Esta doença cerebral complexa decorre de atividade anormal nos neurônios e conduções neurais que induz a crises epiléticas caracterizadas por disfunções motoras, comportamentais e/ou autonômicas. As crises são causadas pela atividade elétrica anormal no cérebro e são caracterizadas por episódios súbitos de transição de sinais nervosos, como movimentos musculares involuntários, distúrbios sensoriais e/ou alteração do estado de consciência (BERENDT et al., 2015).

Outro aspecto da epilepsia no homem é a maior chance de morte súbita (Sudden Unexpected Death in Epilepsy - SUDEP). Apesar de ainda não ter sido esclarecido o mecanismo por completo, a hipertensão arterial tem capacidade de diminuir o limiar convulsivo e precipitar crises epiléticas. Ao mesmo tempo, o início das crises está relacionado com o aumento do tônus simpático que pode elevar a pressão arterial (SZCZURKOWSKA et al., 2021). Existem evidências também de que a epilepsia afeta o ritmo e a frequência dos batimentos cardíacos pela disfunção neuronal autonômica em humanos, além de alterações eletrocardiográficas com aumento do intervalo QT e diminuição do intervalo RR pela maior frequência cardíaca pós crise (POWELL et al., 2014).

Os mecanismos patofisiológicos que fundamentam o início e a recorrência das crises epiléticas, o desenvolvimento de correlações histopatológicas e as comorbidades ainda não foram bem caracterizados. Estudos com animais mostram mecanismos que contribuem para o desenvolvimento e progressão da epilepsia, como as vias neuroinflamatórias, e que podem ser alvo para ajuste das terapias visando auxiliar o tratamento da epilepsia de diferentes etiologias (VEZZANI; BALOSSO; RAVIZZA, 2019a).

O Sistema Nervoso Central (SNC) interfere na resposta imunológica e vice-versa, modulando-se reciprocamente (BUTTS; STERNBERG, 2008). Dentre essas respostas, está a inflamação que pode ser desencadeada por lesões de origem infecciosa, inflamatória, traumática, isquêmica, crônico-degenerativa ou tóxica e

caracteriza-se pelo recrutamento de células do sistema imunológico, alterações da permeabilidade vascular, sensibilização de terminações nervosas e produção de moléculas denominadas mediadores inflamatórios (VEZZANI et al., 2011).

Os mecanismos neuroinflamatórios envolvidos na epilepsia incluem a ativação de células microgliais e astrocitárias, além da produção de citocinas pró-inflamatórias, como a Interleucina-1 $\beta$  (IL-1  $\beta$ ), Interleucina-6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). A ativação dessas células e a produção de citocinas podem contribuir para a neurodegeneração e para a perpetuação das crises epiléticas (VEZZANI et al., 2011).

No geral, a neuroinflamação é uma resposta normal que ajuda a manter a homeostase permitindo que o SNC consiga equilibrar a demanda metabólica aumentada durante o aumento da atividade neuronal. Contudo, a resposta neuroinflamatória prolongada ou muito intensa pode se tornar desfavorável, levando, portanto, a uma disfunção celular semelhante a que é encontrada na dor, estresse, neurodegeneração aguda e crônica e epilepsias (VEZZANI; BALOSSO; RAVIZZA, 2019a).

Estudos comparando a detecção de citocinas no soro, líquido cefalorraquidiano (LCR) e tecido cerebral observaram níveis significativamente elevados em pacientes humanos com epilepsia de diferentes etiologias. Citocinas como IL-1ra, IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8 estavam aumentadas nas três amostras, enquanto o IFN- $\gamma$  e o TNF- $\alpha$  estavam elevados apenas no soro e no LCR. IL-1 $\alpha$ , IL-7 e IL-13 aumentaram exclusivamente no tecido cerebral (DE VRIES et al., 2016).

Um estudo com resultados combinados de meta-análises de pacientes humanos com epilepsia revelou um aumento de IL-6 e IL-17 no soro e de IL-1 $\beta$  e IL-10 no LCR. Meta-análises foram realizadas para diferentes etiologias de epilepsia e revelaram níveis elevados de IL-6 em pacientes com epilepsia do lobo temporal. O papel da inflamação é apoiado por estes achados com citocinas pró-inflamatórias elevadas e as diferenças nos resultados das amostras podem refletir um envolvimento diferenciado de componentes do processo inflamatório. Alguns mediadores inflamatórios podem ser vistos como marcadores gerais de ativação do sistema imunológico (local e sistêmico) (DE VRIES et al., 2016).

Na medicina veterinária, estudos recentes mostraram o papel do Th-17 na meningite-arterite responsiva a esteroides em caninos (SRMA), tecidos de cães com doenças idiopáticas crônicas e cães com EI (FREUNDT-REVILLA et al., 2017; KNEBEL et al., 2022a, 2022b). Os resultados destes estudos apoiam que cães com EI podem ter um componente autoimune, além de haver correlação entre as citocinas com a gravidade das convulsões (KNEBEL et al., 2022b).

Baseado nisso, destacam-se a importância da identificação e caracterização do perfil inflamatório na epilepsia canina e de abordagens terapêuticas que visem reduzir a inflamação cerebral em cães epiléticos, principalmente aqueles refratários à terapia antiepilética. Aliado a isso, ainda não se tem informação da ocorrência de hipertensão arterial ou alterações de ritmo cardíaco em cães com epilepsia. Neste sentido, os objetivos deste estudo foram: 1) avaliar os valores de pressão arterial e achados eletrocardiográficos, além dos parâmetros hematológicos, bioquímicos séricos e urinários, e hemogasométricos em cães com epilepsia idiopática tratados com fenobarbital; 2) estudar o perfil das citocinas em cães com epilepsia sob tratamento.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2. 1 Histórico

Historicamente, as crises epiléticas são uma das aflições humanas mais antigas descritas. Foi encontrado em uma tábua de 4000 anos, na Mesopotâmia, escrita sobre a descrição com uma pessoa com “o pescoço voltado para a esquerda, mãos e pés tensos, e os olhos bem abertos, e de sua boca sai uma espuma sem que ele tenha qualquer consciência”. Posteriormente, um milênio depois, os babilônios antigos descreveram um manual de diagnóstico com textos descrevendo as crises. Nesses textos, também detalhavam conhecimento sobre prognósticos, de acordo com o tipo da crise, incluindo *status epilepticus*, bem como estado pós ictal em outros tipos de convulsões (KACULINI; TATE-LOONEY; SEIFI, 2021). Acreditava-se que as crises epiléticas ocorriam por meio da posse de um indivíduo por espíritos ou pela punição dos deuses. Ao contrário de outras civilizações, a Índia não considerava a doença por meio da postura mágico-religiosa, mas sim como distúrbios fisiológicos e físico-químicos do corpo. Dessa forma, ao invés de orar aos deuses ou visitar templos, eles adotaram postura mais prática e protociência abordando o tratamento das doenças por meio de alterações de fatores etiológicos, mudanças na dieta e estilo de vida que permitiu uma melhor gestão das crises (KACULINI; TATE-LOONEY; SEIFI, 2021; SANDERS, 2015).

A documentação da epilepsia também foi encontrada em textos chineses, por volta de 770-221 a.C., com a publicação do Clássico da Medicina Interna do Imperador Amarelo Huang Di Nei Ching, que delineou as convulsões generalizadas (KACULINI; TATE-LOONEY; SEIFI, 2021). No final do século 6 a.C., houve uma mudança nos estudos para a explicação do mundo, baseando-se puramente na razão. Hipócrates foi o primeiro a ligar a epilepsia ao cérebro e considerar uma possível base hereditária da doença. Ele também observou que o prognóstico associado às crises epiléticas era pior quando os sintomas se iniciavam mais cedo e que muitas vezes estavam associadas a ferimentos na cabeça. Além disso, foi ele quem identificou que as convulsões eram sempre contralaterais ao lado do ferimento na cabeça em paciente com trauma craniano (KACULINI; TATE-LOONEY; SEIFI, 2021; SANDERS, 2015).

Os primeiros tratamentos documentados são registrados entre 40-90 d.C. por Dioscórides que iniciou a prescrição de medicamentos fitoterápicos, como artemísia (*Artemisia vulgaris*) ou ambrósia para ajudar nas crises epilépticas. A primeira classificação das crises foi entre 131-201 d.C. por Galeno que derivou a divisão da epilepsia idiopática (distúrbio primário do cérebro), epilepsia secundária, decorrente de anormalidades no fluxo cardíaco para o cérebro, e o terceiro tipo decorrente de distúrbios de outras partes do organismo que era secundariamente transmitido ao cérebro (SANDERS, 2015).

Contudo, no Império Romano houve uma pausa nos estudos científicos e, novamente, misticismo, religião, fanatismo e dogmatismo eram os temas comuns em todos os aspectos da vida e da ciência. Dessa forma, o homem passou a tratar a epilepsia com resultados empíricos de ervas para exorcismo e trepanação para livrar o corpo da possessão demoníaca. Não se sabe como os animais eram tratados nessa época, mas acredita-se que os mesmos “feiticeiros, mágicos, sacerdotes ou alquimistas” fossem chamados para curar o animal, se este fosse valioso o suficiente. O valor dos animais nessa época estava mais atrelado à sua capacidade de fornecer alimentos, fibras e trabalho (SANDERS, 2015).

No Renascimento, estudos sobre anatomia, fisiologia e fisiopatologia promoveram a conexão entre a sintomatologia com a fisiopatologia e anatomia. Da mesma forma, começou a iniciar a distinção entre tratamento médico de humanos e de animais. Já durante a transição do Renascimento para o Iluminismo, Charles Drélincourt foi o primeiro pesquisador a induzir convulsões em um cão colocando uma agulha no quarto ventrículo. Os experimentos permitiram uma conexão entre as sintomatologias e os mecanismos fisiopatológicos que culminaram em se tornar marca registrada do Iluminismo (SANDERS, 2015). Em 1849, o Dr. Robert Bentley Todd levantou ideias de que o cérebro funcionava por meio de forças elétricas e levantou a hipótese de “descargas elétricas” como sendo a causa das crises, confirmado em coelhas alguns anos depois com a máquina de rotação eletromagnética de Michael Faraday (KACULINI; TATE-LOONEY; SEIFI, 2021).

Charles-Édouard Brown-Séquard observou comportamento convulsivo quando a medula espinhal foi seccionada em animais, além de ter sido o primeiro a descrever sua anatomia e função. Muito de seu trabalho foi focado em epilepsias reflexas que poderiam ser induzidas em animais após hemitransecção da medula espinhal.

Contudo, atualmente, ainda não há uma explicação para esta observação, que foi chamada de “epilepsia espinhal”, principalmente por não ter relatos sobre perda de consciência durante os episódios (SANDERS, 2015).

Em 1857, Edward Sieveking introduziu o brometo de potássio (KBr) para tratamento das crises epiléticas. No entanto, foi em 1861 que Samuel Wilks forneceu evidências sólidas quanto a eficácia do KBr culminando em sua popularidade e no início da farmacologia moderna para o tratamento das crises. Pietro Albertoni foi quem interpretou experimentos com vários medicamentos para avaliar a capacidade destes para prevenção de crises induzidas experimentalmente. Ele conseguiu demonstrar que o KBr em dose única ou doses altas contínuas foi suficiente para reduzir a excitabilidade do córtex cerebral o que permitiu evitar as crises induzidas por estimulação elétrica cortical em cães. Além disso, o éter etílico ou o hidrato de cloral, em doses que deixavam os cães acordados, também foram eficazes para impedir as crises (SANDERS, 2015).

No final do século XIX, a era moderna na história da epilepsia começa por meio de estudos mais refinados com KBr. John Hughlings Jackson foi um dos neurologistas mais influentes e descobriu que tumores cerebrais, pus e traumatismo craniano estavam frequentemente presentes nas necropsias de pacientes epiléticos. Dessa forma, permitiu solidificar a ideia de que as convulsões não eram uma doença e sim um sinal de disfunção cerebral. Além disso, foi ele que identificou que as crises epiléticas se originavam da substância cinzenta do córtex cerebral. Seu colega, Sir David Ferrier, utilizou eletricidade para estimular áreas do cérebro de cães, gatos e coelhos para fornecer uma compreensão precoce da organização somatotrópica do cérebro. Esse experimento permitiu validar a semiologia do que era observado por Jackson em humanos com crises e foi o ponto de partida para uma fisiologia comparativa das convulsões (SANDERS, 2015).

Em 1886, o neurocirurgião Charles Horsley, por meio das observações de Jackson e Ferrier, aplicou a teoria dos colegas para tentar curar a epilepsia a partir da remoção de um tecido cerebral epileptogênico. O desenvolvimento do eletroencefalograma em 1912 e o descobrimento das propriedades antiepiléticas do fenobarbital permitiu uma maneira não invasiva de estudar as atividades elétricas cerebrais e tratamento com novas drogas 50 anos após o KBr. Em 1914 foi demonstrado o efeito anticonvulsivante do fenobarbital, e em 1938 estudos foram

publicados sobre os efeitos anticonvulsivantes da fenitoína (GUERREIRO, 2006). Adicionalmente, a dieta cetogênica desenvolvida em 1921 também foi utilizada, mas em menor grau (KACULINI; TATE-LOONEY; SEIFI, 2021; SANDERS, 2015).

Em 1960, a carbamazepina e os benzodiazepínicos foram introduzidos, sendo os últimos muito significativos na medicina veterinária, principalmente, para controle de *status epilepticus*. Após a Segunda Guerra Mundial, houve foco direto no avanço do diagnóstico e tratamento de doenças do sistema nervoso de cães e gatos, através dos estudos de veterinários, como John Lorenz e Alexander de Lahunta. Na década de 1980, houve estudos com tomografia computadorizada (TC) para avaliação do encéfalo de cães e gatos. Mas foi na década de 1990 que a ressonância magnética (RM) permitiu novos estudos e se tornou o padrão-ouro para imagens cerebrais (SANDERS, 2015).

## 2.2 Tipos De Epilepsia

A epilepsia é uma doença cerebral cujo sinais clínicos são compostos por crises motoras, autonômicas e/ou comportamentais. Geralmente são crises rápidas que podem surgir por diferentes causas, incluindo fatores genéticos em algumas raças de cães (BERENDT et al., 2015).

As crises podem ser definidas de acordo com a sua etiologia, sendo a epilepsia idiopática, subdividida em epilepsia genética quando há confirmação de envolvimento genético; epilepsia supostamente genética, quando ocorrer em pacientes de raças prevalentes e epilepsia de causa desconhecida, em que a natureza das crises não foi encontrada e não há indicação de epilepsia estrutural (BERENDT et al., 2015). Algumas raças de cães já foram identificadas como predispostas à epilepsia idiopática, como Pastor Australiano, Pastor Belga, Border Collie, Labrador Retriever, Spitz Finlândes, Lébrél irlandês, Tervuren, Pequeno basset griffon de Vendaia e o Spinone Italiano (HÜLSMEYER et al., 2015).

A epilepsia estrutural ocorre por alterações intracranianas, como alterações vasculares, inflamatórias/infecciosas, traumáticas, anomalias, neoplasias ou degenerativas que são confirmadas em exames de imagem, análise do LCR, análises

moleculares e/ou *post-mortem* (BERENDT et al., 2015). Apenas 25% dos casos possuem chance de ter bom controle das crises, destacando o prognóstico ruim para este tipo de epilepsia. No caso de patologias inflamatórias, o tempo de sobrevivência é maior do que em cães com epilepsia de origem neoplásica (NORONA; VOLK, 2020)

As crises podem ser classificadas também quanto à apresentação focal ou generalizada. As crises focais originam nas estruturas subcorticais que podem se propagar e envolver o hemisfério contralateral. Pode apresentar sinais motores, como espasmos faciais, movimentos espasmódicos repetidos da cabeça, piscar rítmico ou espasmos rítmicos de uma extremidade. Outra forma de apresentação são sinais autonômicos, como dilatação pupilar, hipersalivação ou vômitos. Alterações comportamentais episódicas, como ansiedade, inquietação, reações de medo inexplicável ou busca anormal de atenção podem ser episódios de crises focais comportamentais (BERENDT et al., 2015).

As crises generalizadas envolvem os dois hemisférios cerebrais e provocam sinais que podem surgir sozinhos ou após crises focais. Geralmente predominam crises tônicas, clônicas ou tônico-clônicas, mas podem ocorrer crises mioclônicas e atônicas. Perda de consciência, salivação, micção ou defecação também podem ocorrer nos cães com crises generalizadas (BERENDT et al., 2015).

Alguns cães podem apresentar as manifestações clínicas da epilepsia com crises agrupadas (*cluster*) ou *status epilepticus* (SE) por uma falha dos neurotransmissores inibitórios ou pela estimulação excessiva. Crises agrupadas ocorrem quando há mais de duas crises em 24 horas e que possuem total recuperação da consciência no intervalo. O SE é definido por crises que duram mais de cinco minutos ou mais de duas crises epilépticas entre as quais há recuperação incompleta da consciência. O SE é uma condição clínica emergencial e os animais podem se apresentar refratários à terapia antiepiléptica (BLADES GOLUBOVIC; ROSSMEISL, 2017; CHARALAMBOUS et al., 2022, 2023).

### 2.3 Fisiopatologia da Epilepsia

O desenvolvimento e a progressão da epilepsia pode ser dividido em três fases: (1) fase latente que é o período da lesão aguda ou período em que outro fator pode desencadear as crises recorrentes; (2) fase com crises epilépticas espontâneas, também chamado ictogênese; e (3) a fase de desenvolvimento de crises refratárias (PATTERSON, 2013). A fase latente engloba diversas doenças cerebrais com risco conhecido de desenvolvimento de epilepsia, como traumas, isquemias, infecções, *status epilepticus* e neurodegeneração. Existem fatores moduladores como idade, genética, plasticidade funcional e estrutural do cérebro que influenciam esse período independentemente do tipo da doença (genética ou adquirida) (GOLDBERG; COULTER, 2013).

Estudos com modelos de roedores permitiram transpor o entendimento sobre a fase latente para outros mamíferos, incluindo os animais de companhia. Nesses estudos foi possível identificar que há aumento global de neurotransmissores glutaminérgicos e interrupção da liberação de GABA. No eletroencefalograma (EEG), as alterações encontradas se resumiram em picos interictais e oscilações de alta frequência, contudo durante o período latente, o foco epiléptico pode apresentar “microconvulsões” que não são detectáveis pelo EEG. Além disso, ao redor dessas áreas, ocorrem disparos dos circuitos excitatórios que promovem uma ativação excitatória mais forte, além da sua diminuição na junção sináptica e os interneurônios inibitórios são substituídos por interneurônios excitatórios. Dessa forma, o efeito combinado desses processos aumenta a capacidade de hiperexcitação da área ao redor das “microconvulsões” promovendo uma atividade convulsiva evidente (GOLDBERG; COULTER, 2013; PATTERSON, 2013).

Em cérebros epilépticos, o insulto original e a hiperexcitabilidade resultante levam à perda celular, maior excitabilidade neuronal e a formação de circuitos anormais. Dessa forma, ocorre neurodegeneração, neurogênese, brotamento axonal, ativação de células inflamatórias, angiogênese e alteração de canais iônicos controlados por ligantes e receptores (ALLAN; ROTHWELL, 2001; ALVIM et al., 2021; CHOI; KOH, 2008; SOFRONIEW, 2015). Existem evidências que a IL-1 $\beta$ , o fator de necrose tumoral e a IL-6 contribuem adicionalmente para a excitabilidade aguda dos neurônios (GOLDBERG; COULTER, 2013; PATTERSON, 2013).

No período das crises recorrentes, ocorre Desvio Paroxístico da Despolarização (DPD) que resulta no influxo de cálcio, por meio dos canais de cálcio

voltagem dependente e influxo de sódio através dos receptores NMDA e não NMDA que dão origem a esses DPD. Em indivíduos não epiléticos, a ativação excitatória recorrente é modulada pelo mecanismo de *feedback* inibitório do sistema gabaérgico intacto. O aumento da sensibilidade do receptor de glutamato e a perda de neurônios GABA demonstram contribuir para a epilepsia (GOLDBERG; COULTER, 2013; PATTERSON, 2013).

Durante esse período de crises recorrentes, existem evidências substanciais que sugerem que alterações na expressão e função dos receptores GABA estão envolvidas na patogênese da epilepsia focal e generalizada pela perda da resposta inibitória à hiperexcitabilidade (GOLDBERG; COULTER, 2013; PATTERSON, 2013).

No período de refratariedade, ocorre liberação persistente e excessiva de glutamato pelas crises o que resulta em diversos eventos intracelulares mediados pelo cálcio e “excitotoxicidade” neuronal no hipocampo, amígdala, neocórtex e tálamo. Em *status epilepticus* refratários, existem menos domínios GAMA no receptor GABA<sub>A</sub> disponíveis para os benzodiazepínicos, como o diazepam, promovendo SE refratário aos benzodiazepínicos (GOLDBERG; COULTER, 2013; PATTERSON, 2013).

## 2.4 Epidemiologia da Epilepsia

A prevalência da epilepsia idiopática em cães varia entre 0,5 a 1% mesmo que alguns países apresentem maior prevalência de uma raça específica que possa aumentar a prevalência da epilepsia de origem genética (HAMAMOTO et al., 2016; KEARSLEY-FLEET et al., 2013). O tempo médio de sobrevida de pacientes com epilepsia idiopática varia em torno de 10 anos e é maior do que pacientes com epilepsia estrutural. Recentemente, o número de eutanásias por conta da epilepsia diminuiu, promovendo um aumento na sobrevida. Dentre os principais motivos da eutanásia, pode-se citar crises refratárias e casos em que houve degradação da qualidade de vida dos cães (HAMAMOTO et al., 2016).

Além disso, a monoterapia ou politerapia não apresenta nenhum efeito a favor da eutanásia, contudo cães que apresentam número maior que 0,3 crises por mês apresentaram menor sobrevida (HAMAMOTO et al., 2016).

Cães machos apresentam maior risco de apresentarem crises epiléticas, principalmente das raças Pastor Alemão, Border Collie, Staffordshire Bull Terrier e Border Terriers. Aliado a isso, aumenta-se a chance em cães com raça definida se comparados aos sem raça definida (FREDSØ et al., 2017; KEARSLEY-FLEET et al., 2013; VAN MEERVENNE et al., 2014).

Com relação ao estado de esterilização em cães epiléticos, nenhuma conclusão é confiável sobre o impacto na prevalência de crises, crises em *cluster* ou *status epilepticus* na epilepsia idiopática (VAN MEERVENNE et al., 2014)

No Brasil, poucos estudos avaliaram o perfil epidemiológico de cães com epilepsia idiopática. Em um estudo no Rio de Janeiro, a EI foi diagnosticada na maioria em cães sem raça definida, machos e com idade entre um e cinco anos de idade (VIANNA; VAHIA, 2007). Em 2012, outro estudo epidemiológico em Santa Maria, no Rio Grande do Sul identificou que a EI em cães sem raça definida, machos e com idade entre 1 e 5 anos também foi mais prevalente (AIELLO et al., 2012). Em 2012, um estudo em Londrina avaliou também as falhas encontradas no tratamento e concluiu que os cães epiléticos precisam de um acompanhamento especial pelo médico veterinário para assegurar um bom controle das crises (LIMA; BAHRI ARIAS, 2012).

## 2.5 Diagnóstico da Epilepsia

Para o diagnóstico de crises epiléticas, é necessário diferenciar de outros distúrbios de movimentos paroxísticos e identificar a causa da crise epilética. Para isso, recomenda-se que os responsáveis façam vídeos dos eventos e que seja realizado um exame clínico e neurológico a fim de identificar anormalidades que possam sugerir alterações cardiovasculares, como síncope, sinais neuromusculares, doenças vestibulares ou outras doenças cerebrais (DE RISIO et al., 2015).

Os distúrbios de movimentos não causam sinais autonômicos, alterações de consciência e anormalidades eletroencefalográficas. Contudo, manifestações motoras focais também podem apresentar os mesmos sinais. Para isto, fatores como raça, idade, predisposição genética, histórico familiar, presença de movimentos orofaciais,

sinais autonômicos e a presença de alterações pós-ictais podem ajudar a identificar o episódio epilético. Contudo, a confirmação absoluta do evento só pode ser realizada através das alterações características no eletroencefalograma, mas ainda é uma prática não comum na medicina veterinária (DE RISIO et al., 2015).

Após estabilização dos animais, o segundo passo é identificar a causa da crise epilética. Existem crises reativas, que são resultados de desordens metabólicas, como hipoglicemia, alterações eletrolíticas e/ou *shunt*-portossistêmico, ou por intoxicações. Esses cães possuem alto risco de desenvolverem SE, principalmente na primeira manifestação. Na avaliação neurológica, esses pacientes apresentam déficits difusos, bilaterais e simétricos (BERENDT et al., 2015; DE RISIO et al., 2015).

Outra causa de crises epiléticas ocorre por alteração cerebral estrutural, onde o exame neurológico frequentemente estará anormal com alterações assimétricas em 47% dos casos. Contudo, o exame neurológico interictal não descarta completamente a epilepsia estrutural de origem focal, por exemplo. Em 76% dos cães com neoplasia do lobo frontal, a crise epilética foi o primeiro sinal de alteração intracraniana (SCHWARTZ et al., 2011).

A epilepsia idiopática (EI) é diagnosticada por exclusão das outras causas de crises epiléticas, aliado a idade do início da apresentação clínica, exame físico e neurológico interictais sem alterações. Existem três níveis de confiança para o diagnóstico de EI que foram adotados seguindo a classificação Tier. O nível I, ou Tier I, que inclui histórico de duas ou mais crises epiléticas em um período de 24 horas, idade de início das crises entre seis meses e seis anos, exame neurológico e físico interictais normais e nenhuma ou mínimas alterações em análises clínicas complementares, como hemograma completo, perfil bioquímico sérico (sódio, potássio, cloro, cálcio, fósforo, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, bilirrubinas totais, ureia, creatinina, proteína total, albumina, glicose, colesterol, triglicerídeos e ácidos biliares) e urinálise (densidade, proteína, glicose, pH e sedimentos). Outros testes podem ser necessários de acordo com a suspeita clínica, como análise de ácidos biliares pós-prandial, ultrassonografia abdominal, T4 total, T4 livre, TSH, frutamina, curva glicêmica, razão glicose:insulina, dosagem de CK e lactato; sorologia e PCR quando houver suspeita de doenças infecciosas. Além disso, avaliação de fundo de olho e pressão arterial não invasiva devem ser realizadas em cães com suspeita de hipertensão arterial (DE RISIO et al., 2015).

O nível II, ou Tier II, incluem todos os exames do Tier I e ácidos biliares pré e pós-prandiais normais, RM e análise do LCR. O nível III, ou Tier III, incluem todos os do nível II e o EEG (DE RISIO et al., 2015).

As crises epiléticas podem causar alterações na RM quando realizada em um período de 14 dias após a última crise e incluem alterações localizadas uni ou bilaterais, predominantes no lobo temporal e piriforme, mas em menor proporção podem ocorrer no bulbo olfatório e lobo frontal. Contudo, após 16 semanas de controle das crises epiléticas, essas alterações tendem a estar ausentes, sugerindo que as lesões vistas podem decorrer de edema citotóxico e vasogênico induzido pelas crises. No exame histológico, geralmente encontra-se edema, neovascularização, astrocitose reativa e necrose neuronal aguda (DE RISIO et al., 2015).

Com relação a análise do LCR, não houve associação encontrada entre a concentração de proteína, o tempo da coleta do LCR e a ocorrência de crises agrupadas, contudo em alguns cães pode ocorrer pleocitose sugerindo que um distúrbio transitório da barreira hematoencefálica (BHE) e a liberação de substâncias quimiotáticas durante as crises sejam a causa desta alteração (DE RISIO et al., 2015; GONÇALVES et al., 2010).

Por fim, a recomendação de RM e análise do LCR deve ser realizada em pacientes com início das crises menores que seis meses e maiores que seis anos, alteração em exame neurológico consistentes com alterações intracranianas, presença de crises agrupadas ou ES, diagnóstico presuntivo de EI e presença de resistência a terapia antiepilética (DE RISIO et al., 2015).

## 2.6 Tratamento da Epilepsia

O tratamento para a EI deve ser iniciado quando houver duas ou mais crises em um período de seis meses, quando o cão apresentar *cluster* ou SE, quando os sinais pós-ictais forem intensos (cães muito agressivos ou cegueira prolongada) ou durarem mais de 24 horas ou quando a frequência ou a severidade das crises agravar em um intervalo de três períodos interictais. O fármaco de escolha dependerá de fatores do próprio medicamento (segurança, efeitos adversos, frequência de

administração, interações), fatores secundários ao animal (tipo, frequência e etiologia das crises, além de doenças renais/hepáticos ou gastrointestinal) e fatores relacionados aos responsáveis (estilo de vida e condições financeiras) (BHATTI et al., 2015).

Os principais fármacos de escolha para tratamento são fenobarbital e KBr. Na Europa, em 2013, introduziram a imepitoína como alternativa para o controle das crises em cães com epilepsia idiopática. Outros fármacos que podem ser utilizados são levetiracetam, zonisamida, felbamato, topiramato, gabapentina e pregabalina. O fenobarbital é o fármaco de primeira escolha, pois apresenta melhor eficiência na redução e controle de crises e menos efeitos colaterais quando comparado ao KBr. A dose de início deve ser de 2,5 a 3mg/kg BID e ajustada conforme monitoramento da concentração sérica (BHATTI et al., 2015; CHARALAMBOUS et al., 2016; CHARALAMBOUS; BRODBELT; VOLK, 2014; PODELL et al., 2016).

Após o início da terapia com fenobarbital ou o ajuste na dose, recomenda-se que seja realizado a dosagem sérica após 14 dias para monitoramento da concentração. Se o cão estiver com a concentração abaixo de 35mg/L e com bom controle de crises, indica-se o monitoramento completo através do hemograma, bioquímico completo, ácidos biliares e a concentração a cada três meses, inicialmente, podendo se estender para a cada seis meses. Caso o cão não tenha atingido pelo menos 30mg/L e ainda esteja com crises, o aumento da dose é necessário. Se a concentração sérica do fenobarbital estiver entre 30-35mg/L e o paciente ainda apresenta crises, é recomendado o início do KBr. Por fim, caso apresente concentração acima de 35mg/L, deve ser reduzida a dose do fenobarbital e iniciado terapia com KBr (BHATTI et al., 2015).

Pacientes que apresentam crises agrupadas ou SE, o fenobarbital pode ser administrado em *loading* com doses de 15-20 mg/kg IM/IV dividido em múltiplas doses de 3-5mg/kg por 24-48h a fim de atingir a concentração sérica terapêutica mais rápida. Alguns autores fazem o *loading* em um período de 40 a 60 minutos (CHARALAMBOUS et al., 2023).

Os efeitos adversos comuns do fenobarbital incluem sedação, ataxia, polifagia, polidipsia e poliúria. Raramente podem ocorrer efeitos adversos idiossincráticos, como hepatotoxicidade, anemia e/ou trombocitopenia e/ou neutropenia, dermatite necrótica

superficial, pancreatite, discinesia, ansiedade e hipoalbuminemia, que podem ser revertidos com a descontinuação do fármaco. Por ser um medicamento indutor das enzimas do citocromo P450, as enzimas hepáticas se elevam em cães que fazem o uso deste medicamento. Além disso, podem ocorrer aumento do colesterol, triglicerídeos e disfunções endócrinas (tireoide, adrenal e eixo pituitário-adrenal) (PODELL et al., 2016).

O KBr e o fenobarbital possuem efeitos sinérgicos e a adição do primeiro em pacientes que já utilizam o segundo fármaco, melhora o controle das crises. Além disso, o KBr é uma alternativa excelente e deve ser utilizado como fármaco de primeira escolha para pacientes hepatopatas (BHATTI et al., 2015). Contudo, fatores dietéticos podem oscilar os níveis do fármaco através do aumento/redução de cloreto que podem diminuir/aumentar sua meia vida (PODELL et al., 2016). Sendo assim, os pacientes devem manter uma dieta constante a fim de evitar oscilações na concentração do KBr. A dose inicial de KBr é 15mg/kg BID, podendo chegar a 20mg/kg BID em pacientes que fazem uso sob monoterapia. O fármaco deve ser fornecido próximo à alimentação para prevenirmos irritação gastrointestinal. O monitoramento com hemograma, perfil bioquímico (incluindo colesterol e triglicerídeos) deve ser realizado antes e a cada seis meses durante o tratamento (BHATTI et al., 2015).

Os efeitos colaterais do KBr incluem sedação, ataxia, fraqueza de membros pélvicos, polidipsia, poliúria e polifagia com ganho de peso. Irritação gástrica pode ocorrer também. Reações idiossincráticas, como mudança de personalidade (agressividade, irritabilidade, hiperatividade), pancreatite, megaesôfago e tosse persistente (BHATTI et al., 2015).

Outro fármaco que pode ser utilizado em conjunto é o levetiracetam. Em um estudo de 2012, o levetiracetam promoveu uma redução significativa na frequência das crises em cães com epilepsia resistente. Ele é um fármaco que possui mínima metabolização hepática e é excretado inalterado pelos rins. Sua dosagem deve ser diminuída em pacientes que possuem disfunção renal severa. A dose oral de manutenção é 20mg/kg TID-QID, contudo alguns estudos demonstraram que o uso crônico pode promover tolerância ao medicamento, denominado efeito “lua de mel”. Baseado nisto, indica-se seu uso em pulsoterapia para pacientes que apresentem crises agrupadas. Nesse caso, administra-se 60mg/kg via oral, seguido de doses de

20mg/kg TID até o paciente permanecer 48 horas sem crises (BHATTI et al., 2015; MUÑANA; NETTIFEE-OSBORNE; PAPICH, 2015; PACKER; VOLK, 2015).

Os efeitos colaterais incluem sedação, ataxia, perda de apetite e vômitos. O uso de medicamentos que induzem a citocromo P450, como o fenobarbital, pode alterar sua distribuição e exigir doses maiores (BHATTI et al., 2015).

Os fármacos zonisamida, felbamato, gabapentina e pregabalina não possuem evidências suficientes para assegurarem o uso como fármacos adjuntos devido à grande presença de viés dos estudos (CHARALAMBOUS et. al., 2014).

Aproximadamente 30% dos cães podem apresentar refratariedade no tratamento da epilepsia idiopática e novos fármacos vem sendo estudado para associação ao tratamento desses pacientes. Um estudo controlado, duplo-cego, utilizando canabidiol foi utilizado em pacientes que já faziam uso de terapia antiepiléptica e que ainda apresentavam pelo menos duas crises por mês. Na dose de 9mg/kg/dia, em associação, o canabidiol promoveu redução no número total de crises epiléticas quando comparado ao grupo que recebeu placebo. Os cães não apresentaram efeitos adversos graves e não houve interação medicamentosa com os antiepiléticos associados (ROZENTAL et al., 2023).

Em cães com SE, a primeira linha de tratamento recomendada é a administração intravenosa de midazolam ou diazepam, além da administração intranasal de midazolam. Apesar dos dois serem ótimas opções, o midazolam é mais potente e seguro que o diazepam. Os fármacos de segunda linha incluem levetiracetam, fenobarbital e fosfenitoína intravenoso. Fármacos como cetamina, dexmedetomidina e propofol em bólus intravenoso e/ou infusão contínua são considerados os fármacos de terceira linha para interromper o SE. Também podem ser considerados, casos super refratários, anestésicos barbitúricos ou anestesia inalatória (CHARALAMBOUS et al., 2023).

A interrupção dos medicamentos deve ocorrer desde que os cães estejam sem crises por pelo menos 24-48 horas e a mesma deve ser progressiva oposto a ordem que foram introduzidos (CHARALAMBOUS et al., 2023).

Cães que apresentam crises em *cluster* podem se beneficiar da terapia em casa ou hospitalar. O levetiracetam em pulsoterapia é recomendado e deve ser

continuado por até 48 horas sem novas crises. Em ambiente hospitalar, a primeira linha de tratamento é igual ao SE. Se ainda assim persistir, pode ser associado, via oral, clonazepam ou clorazepato (CHARALAMBOUS et al., 2023).

### 2.7 Morte súbita inesperada na epilepsia (*Sudden Unexpected Death in Epilepsy – SUDEP*)

A morte súbita em pacientes epiléticos é descrita desde 1910, mas em 1996 foi definida como sendo evento em que o óbito ocorra de maneira não traumática, sem afogamento, com ou sem relatos de crise, excetuando-se *status epilepticus* e os exames realizados *post-mortem* não podem apresentar causas anatômicas ou toxicológicas para a morte (SCORZA et al., 2007).

As áreas corticais e subcorticais estão relacionadas com a função cardíaca através da sua influência no sistema autonômico que modula a atividade cardiovascular. Além disso, o *feedback* do sistema cardiovascular pode influenciar o fluxo autonômico por meio da ativação de reflexos neurocardíacos. O tronco encefálico hospeda os núcleos dos nervos parassimpáticos implicados na inervação do coração e na mediação dos reflexos autonômicos cardíacos. Além disso, a inervação simpática origina-se no bulbo ventrolateral rostral encontrando os neurônios pós-sinápticos nos gânglios estrelados (COSTAGLIOLA et al., 2021).

Alguns fatores podem ser considerados de risco, como idade, início precoce da epilepsia, tempo de duração das crises, não controle e frequência das crises, tipos de crise e regime de drogas antiepiléticas adotadas (SCORZA et al., 2007).

Uma das teorias sobre a SUDEP é que tenha origem cardiogênica, pois na necropsia podem ser comumente encontrados dilatação e hipertrofia cardíaca, fibrose nas paredes de pequenas artérias coronárias, atrofia dos cardiomiócitos, degeneração miofibrilar, infiltração leucocitária – miocardite focal, e alterações morfológicas do sistema de condução cardíaca. Além disso, as crises epiléticas estão relacionadas ao aumento da frequência cardíaca imediatamente antes do início das crises e ao aumento do segmento ST durante ou logo após a crise epilética e do segmento QT

(SCORZA et al., 2007). Além disso, podem ser encontradas na disfunção cardio-automônica e respiratória arritmias, taquicardia, bradicardia, distúrbios da onda T, assistolia, bloqueio atrioventricular, fibrilação atrial e ventricular (COSTAGLIOLA et al., 2021).

O primeiro relato de SUDEP na medicina veterinária é de 2010 em um cão jovem em tratamento para epilepsia com politerapia e que apresentava dificuldade no controle das crises epiléticas. O cão da raça Akita foi a óbito repentinamente durante um final de semana com a família (SCORZA, 2010). Um grupo de estudos elegeu o Labrador Retriever como modelo para estudos com SUDEP em humanos, pois apresenta pressão diastólica baixa, menor frequência cardíaca e menor concentração de catecolaminas, provavelmente, causadas por uma menor mobilização do sistema nervoso simpático (SCORZA et al., 2014). Sendo assim, estudos da SUDEP em raças de cães, principalmente Labrador, poderia facilitar os estudos e o conhecimento tanto na saúde humana quanto animal (SCORZA et al., 2013).

Posteriormente, em um estudo retrospectivo, pesquisadores relataram a morte de dois cães com provável SUDEP, sendo um Boston Terrier e um sem raça definida. Ambos vieram a óbito após um episódio epilético e possuíam mais que quatro crises por mês mesmo sob tratamento (HAMAMOTO et al., 2016).

## 2.8 Inflamação e Imunidade no Sistema Nervoso Central (SNC)

A inflamação é caracterizada pela produção de uma cascata de mediadores inflamatórios como resposta a estímulos nocivos ou estimulação imunológica. A produção dos mediadores inflamatórios ocorre a partir de células imunocompetentes residentes em tecidos ou circulantes no sangue e envolve a ativação da imunidade inata e adaptativa. O encéfalo é considerado um local imunoprivilegiado devido à barreira hematoencefálica, à falta de um sistema linfático convencional e ao tráfego limitado de células imunes periféricas. No entanto, tanto a resposta imune inata quanto a adaptativa ocorrem em resposta à patógenos, autoantígenos ou lesões teciduais de etiologias diferentes (VEZZANI et al., 2011).

A imunidade inata é uma resposta imediata inespecífica do hospedeiro contra patógenos invasores. Os leucócitos, incluindo células *Natural Killer*, granulócitos, e células da linhagem monomielocítica (monócitos, macrófagos e micróglia), células dendríticas e receptores *Toll-Like* (TLRs) estão envolvidos na ativação de receptores da imunidade inata. As células imunocompetentes, incluindo as células apresentadoras de antígenos (APCs), expressam proteínas conhecidas como TLRs, que compartilham domínios comuns com a família de receptores IL-1 e usam moléculas de sinalização sobrepostas com os receptores IL-1 tipo 1. A ativação dos TLRs desencadeia respostas imunes inatas e inflamação em resposta à infecção ou lesão tecidual. Quando estimulados por patógenos, os TLRs desencadeiam a liberação de citocinas, como a IL-12, que ajudam na transição entre a imunidade inata e adaptativa. Acredita-se que a micróglia, os astrócitos e os neurônios contribuam para os processos do tipo imunidade inata que causam inflamação cerebral (VEZZANI et al., 2011).

A imunidade adaptativa é acionada em resposta à imunidade inata, permitindo que o hospedeiro reconheça e memorize antígenos não próprios específicos para montar respostas imunes mediadas por células ou humorais dos linfócitos B e T. Células apresentadoras de antígenos (APCs) - incluindo células dendríticas, macrófagos, células B e micróglia no SNC - ativam as células T virgens para se tornarem células efetoras, dando início à seleção clonal e expansão dos linfócitos. A perda de tolerância aos autoantígenos e a desregulação da imunidade adaptativa podem resultar no desenvolvimento de autoimunidade. No entanto, a homeostase do sistema imunológico e a tolerância a autoantígenos são mantidas em parte por uma subpopulação de células T reguladoras (CD4+ e CD25+) que ajudam a restringir a atividade autoimune (VEZZANI et al., 2011).

A ativação da imunidade inata e a transição para a imunidade adaptativa são mediadas por uma grande variedade de mediadores inflamatórios. Dentre eles, incluem-se interleucinas (ILs), interferons (IFNs), fatores de necrose tumoral (TNFs) e fatores de crescimento. As citocinas são liberadas por células imunocompetentes e endoteliais, bem como pelas células da glia e neurônios no SNC, permitindo assim a comunicação entre células efetoras e o alvo durante a lesão ou o desafio imunológico. Após sua liberação, elas interagem com um ou mais receptores (VEZZANI et al., 2011).

Micróglias, astrócitos, neurônios, células endoteliais da BHE e células periféricas do sistema imunológico que extravasam para o parênquima cerebral podem produzir moléculas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. A contribuição de cada tipo celular para a inflamação cerebral vai depender da origem (SNC *versus* sistêmico) e do tipo do evento precipitante (infecioso ou asséptico). Acidente vascular cerebral isquêmico, lesão cerebral traumática e doenças neurodegenerativas crônicas podem ativar as micróglias e os astrócitos pela doença específica resultando em fontes de mediadores inflamatórios (VEZZANI et al., 2011).

A homeostase e a prevenção de lesões são importantes na regulação da resposta inflamatória. Existem mecanismos regulatórios que ajudam a atenuar essa resposta, incluindo a produção de proteínas que competem com as citocinas pelos seus receptores, como a proteína antagonista do receptor IL-1 e receptores chamariz que ligam citocinas e quimiocinas, mas não conseguem transmitir sinais. Essas proteínas atuam como armadilhas moleculares para evitar que os ligantes se liguem a receptores biologicamente ativos. Proteínas com atividades anti-inflamatórias são produzidas ao mesmo tempo que as moléculas pró-inflamatórias para ajudar a resolver a inflamação (VEZZANI et al., 2011).

Cada linhagem celular atua conforme o estímulo recebido. As citocinas são as responsáveis pela identificação do ambiente que se encontram, assim como as células do sistema fagocitário, principalmente, os macrófagos, são os principais efetores da resposta inflamatória. Quando há recrutamento leucocitário periférico, o estímulo lesivo promove instabilidade da BHE mediante ação das metaloproteinases (enzimas da família proteases) o que permite contato das células do sistema imune com o interior do encéfalo (ZHANG et al., 2010). Dessa forma, o tecido encefálico lesionado libera mediadores estimulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF-  $\alpha$ , favorecendo a expressão de moléculas de adesão e integrinas de membrana, promovendo a adesão leucocitária e quimiotaxia da mesma população celular. Como resultado tem-se o aumento da permeabilidade da BHE, possibilitando a transmigração da circulação periférica para o foco lesivo encontrado no encéfalo (VEZZANI et al., 2011).

Os glicocorticoides, por meio da ativação de seus receptores e, conseqüentemente, da regulação negativa da atividade do fator nuclear  $\kappa$ - $\beta$  (NF $\kappa$   $\beta$ ) e da proteína ativadora 1, inibem a resposta imunológica inata e, portanto, atuam como

sistema de *feedback* anti-inflamatório endógeno. As citocinas pró-inflamatórias são potenciadores dos níveis de glicocorticoides nas glândulas adrenais por meio do hormônio liberador de corticotrofina e do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Os glicocorticoides também provocam efeitos imunossupressores por meio da inibição do extravasamento de leucócitos da vasculatura e da regulação da diferenciação das células T auxiliares. O SNC também pode regular negativamente a resposta inflamatória de maneira reflexa usando a atividade eferente do nervo vago para inibir a liberação de moléculas pró-inflamatórias de macrófagos teciduais (VEZZANI et al., 2011).

Distúrbios autoimunes em humanos, como lúpus sistêmico, vasculite, esclerose múltipla e síndromes paraneoplásicas, podem causar convulsões recorrentes. Esses distúrbios geralmente se apresentam com SE e distúrbios psiquiátricos, e muitas vezes são seguidos por epilepsia agressiva e resistente ao tratamento. Em pacientes com essas doenças, as terapias imunológicas costumam ser mais eficazes do que o tratamento padrão com drogas antiepilépticas no início da doença (VEZZANI et al., 2011).

A inflamação cerebral tem sido associada a diversas etiologias em pacientes com epilepsia resistente ao tratamento, que foram submetidos a ressecção cirúrgica para remover o foco da crise epiléptica. Moléculas pró-inflamatórias, astrocitose reativa, micróglia ativada e outros indicadores de inflamação foram encontrados em hipocampos ressecados de pacientes com Epilepsia do Lobo Temporal (ELT), dentro e ao redor dos tubérculos epilépticos em pacientes com esclerose tuberosa, e em associação com lesões displásicas corticais em pacientes com Epilepsia Cortical Displásica. No entanto, esses marcadores inflamatórios não foram encontrados em espécimes obtidos de humanos saudáveis usados como controle (CHOI; KOH, 2008).

Após a indução do *status epilepticus* em roedores, estudos imunohistoquímicos revelaram áreas de inflamação durante o processo epileptogênico. Esse processo envolve várias populações de células e resulta no início e na recorrência crônica de convulsões espontâneas após um evento precipitante inicial. Citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$ , TNF e IL-6, são expressas primeiro na micróglia e astrócitos ativados, e a expressão do receptor de citocina é regulada positivamente na micróglia, astrócitos e neurônios (BARCO; LINARTEVICH, 2021). Essas citocinas podem levar à neuroinflamação e neurodegeneração, contribuindo

para a patogênese da epilepsia. Vários estudos têm demonstrado o aumento da expressão de IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  em diferentes amostras de humanos com epilepsia (GALIC; RIAZI; PITTMAN, 2012; VEZZANI et al., 2011).

A inflamação desempenha um papel importante no processo de epileptogênese, no qual ocorre redução do limiar das crises epiléticas. Vários mediadores inflamatórios com propriedades epileptogênicas incluindo a interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) são ativadas fazendo com que haja aumento da permeabilidade da BHE, estas ações desempenham papéis importantes no desenvolvimento da epilepsia, ou seja, os processos inflamatórios podem ser causa ou consequência das crises epiléticas (GUZZO et al., 2018).

Mediadores inflamatórios, como interleucinas, interferons, fatores de necrose tumoral e fatores de crescimento, foram encontrados em tecido cerebral ressecado cirurgicamente em pacientes com epilepsias refratárias, incluindo epilepsia de lobo temporal e epilepsia relacionada a displasia cortical em humanos. Dessa forma, a descoberta de que a inflamação cerebral ocorreu em epilepsias que não são ligadas a disfunção imunológica destacou que a inflamação crônica possa ser intrínseca a algumas epilepsias em vez de ser apenas uma consequência de uma etiologia inflamatória ou autoimune subjacente específica (VEZZANI et al., 2011).

Estudos experimentais em camundongos com epilepsia induzida identificaram que os principais tipos celulares que contribuem para a neuroinflamação são micróglia e astrócitos, neurônios e células endoteliais da BHE. Além disso, a neuroinflamação está normalmente associado com disfunção da BHE e a infiltração de células imunes presentes na circulação por meio da BHE foram descritas na epilepsia. Macrófagos são comumente observados e, dependendo da etiologia da epilepsia, neutrófilos e linfócitos podem ser observados também (CHOI e KOH, 2008).

A micróglia é a principal célula imunológica residente no sistema nervoso central (SNC) e está envolvida na manutenção da homeostase cerebral. No entanto, em resposta a lesões ou estímulos inflamatórios, a micróglia pode se tornar ativada, liberando citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e radicais livres, que podem levar à neuroinflamação e neurodegeneração. Vários estudos têm demonstrado a ativação de células microgliais em pacientes epiléticos, especialmente em áreas cerebrais onde as crises epiléticas se originam ou se propagam (VEZZANI et al., 2011).

Por sua vez, os astrócitos são células gliais que fornecem suporte estrutural e metabólico para os neurônios e são capazes de liberar uma variedade de mediadores inflamatórios em resposta a estímulos patológicos. A ativação astrocitária pode contribuir para a epileptogênese por meio da produção de citocinas pró-inflamatórias, que podem levar à neuroinflamação e neurodegeneração. A ativação de astrócitos tem sido amplamente observada em pacientes epiléticos (ROBEL et al., 2015).

O papel da inflamação na epilepsia surgiu recentemente devido ao uso de esteroides e outros medicamentos anti-inflamatórios que desempenharam efeitos antiepiléticos em epilepsias refratárias. Evidências adicionais vieram pelas convulsões febris, que sempre coincidem com, e, frequentemente, são causadas por, agentes pró-inflamatórios (BARCO; LINARTEVICH, 2021; VEZZANI et al., 2011). Estudos experimentais em modelos de convulsões e epilepsia demonstraram que a inflamação do cérebro não é uma simples marca registrada da lesão do tecido, mas desempenha um papel ativo em sustentar ou precipitar crises epiléticas e contribui para a perda de células (JUNIOR et al., 2021).

O conhecimento sobre os mecanismos que mediam a neuroinflamação permite realizar considerações importantes para o manejo clínico das crises. A neuroinflamação é uma resposta intrínseca do cérebro e é ativada durante a epileptogênese, crises agudas e epilepsia crônica. Essa resposta, quando ocorre durante o desenvolvimento da doença, pode mediar a transição para a doença e esse processo depende da ineficiência dos mecanismos anti-inflamatórios. Também, já é conhecido que, a extensão da neuroinflamação difere entre as diferentes origens de epilepsias e entre os pacientes, criando a necessidade de biomarcadores com o objetivo de triar pacientes e promover intervenções terapêuticas personalizadas. Além disso, a neuroinflamação pode piorar a epilepsia, sendo assim, oferecer novas opções terapêuticas com alvo no processo inflamatório pode beneficiar o paciente (VEZZANI; BALOSSO; RAVIZZA, 2019).

Na medicina humana, embora haja uma ampla variedade de medicamentos antiepiléticos disponíveis, aproximadamente um terço dos indivíduos ainda apresentam crises que não respondem ao tratamento medicamentoso. Os medicamentos disponíveis para o tratamento da epilepsia, tanto na medicina humana quanto veterinária, são sintomáticos, o que significa que eles bloqueiam as crises

epilépticas, mas não afetam a doença subjacente ou a progressão do distúrbio (VEZZANI et al., 2011).

### 2.8.1 Citocinas

As citocinas são pequenas moléculas envolvidas na comunicação intercelular, e podem ser potenciais biomarcadores da neuroinflamação nas síndromes epilépticas (TAN et al., 2020). Algumas citocinas induzem alterações na membrana celular neuronal, alterando sua função e conectividade, levando à hiperexcitabilidade regional e subsequente suscetibilidade a convulsões (CHOUDHARY et al., 2021).

#### *Interleucina 1*

A interleucina 1 (IL-1) é uma importante citocina mediadora de respostas inflamatórias produzida por células epiteliais, endoteliais e neutrófilos. Ela se encontra no organismo em duas formas diferentes como a IL-1  $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , exercendo papéis parecidos. De modo geral a IL-1 $\alpha$  está associada a produção de linfócitos e a IL-1 $\beta$  estimula a atividade de prostaglandina podendo levar ao estado de febre. Sugere-se ainda que a IL-1 $\beta$  induz alguns episódios de convulsões através da regulação dos receptores de NDMA em células pós-sinápticas através de uma ativação no domínio GluN2B do receptor NDMA (RANA e MUSTO, 2018) ou ainda por aumentar a formação de óxido nítrico e inibir diretamente os receptores GABA(A). Uma minoria de estudos implica um efeito anticonvulsivante da IL-1 $\beta$  (LI et al., 2011).

#### *Interleucina 2*

A IL-2 é produzida por linfócitos Th1 ativados que estimula a proliferação celular, produção de IFN- $\gamma$  e de anticorpos e aumenta a citotoxicidade. Ela é uma citocina com a função de regular as respostas imunológicas (TIZARD, 2014).

A administração intraventricular desta interleucina promoveu crises generalizadas em camundongos modelo de epilepsia experimental, contudo não houve aumento dos níveis plasmáticos e LCR na fase aguda (LI et al., 2011)

### *Interleucina 6*

A interleucina 6 (IL-6) é considerada a mais importante citocina em respostas inflamatórias, pois apresenta efeitos sistêmicos e locais além de estimular a produção de neutrófilos. É sintetizada especialmente por células endoteliais vasculares e fagócitos mononucleares. Estudos mostraram que os níveis de IL-6 têm predomínio de aumento no soro de pacientes com epilepsia comparado a outros sem a doença. Também foi encontrado o aumento da citocina no LCR de cães que apresentavam crises epilépticas comparando com cães saudáveis, além do aumento de TNF- $\alpha$  (ALLAN; ROTHWELL, 2001; JIANG et al., 2018; MERBL et al., 2014).

O uso de diferentes doses de diclofenaco em modelos de ratos com crises induzidas demonstrou que a dose mínima estudada foi capaz de reduzir os níveis de IL-6. Seu aumento no LCR está relacionado com crises epilépticas recorrentes e a persistência dela pode gerar mudanças neuropatológicas extensas, incluindo dano neuronal, astrocitose reativa e angiopatia proliferativa (CAMPBELL, 1993; VIEIRA et al., 2016).

### *Fator de Necrose Tumoral*

O TNF- $\alpha$  é um mediador de respostas inflamatórias a bactérias e outros organismos infecciosos. É uma proteína sintetizada por monócitos, macrófagos e células dendríticas que tem como função regular os receptores de glutamato alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA) fazendo com que haja aumento glutamatérgico. Esses receptores quando aumentados incrementam a absorção de cálcio fazendo com que ocorra uma neurotoxicidade. Essa citocina multiplica tanto os receptores de glutamato, quanto induz a endocitose do receptor do GABA. Essa ação reduz o impulso inibitório causando baixa excitabilidade celular, o que permite compreender que TNF- $\alpha$  possui propriedades neuromodulatórias (RANA e MUSTO, 2018).

O uso de diferentes doses de dexametasona em ratos com crises epilépticas induzidas promoveu diminuição significativa do TNF- $\alpha$  no hipocampo dos pacientes e, conseqüentemente, houve redução na severidade das crises. Além disso, não houve diferença entre o grupo tratado com dexametasona e o grupo tratado com diazepam. No entanto, não é possível prever se os efeitos apresentados são devido à ação anticonvulsivante aguda ou se ocorre devido a modificação da doença (GUZZO et al., 2018). Em outro estudo com prednisolona em ratos com crises epilépticas induzidas promoveu um efeito protetor contra os níveis de citocinas inflamatórias IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$  (DE LIMA ROSA et al., 2021).

#### *Interleucina 4*

A interleucina 4 (IL-4) é produzida a partir dos linfócitos Th2 ativados e mastócitos, sendo seus alvos os linfócitos T e B e macrófagos. Ela é capaz de ativar genes de citocinas e o fator de transcrição específico de linfócitos Th2 que é o principal regulador da diferenciação de linfócitos Th2. A IL-4 promove a produção de IgG e IgE, inibe a expressão do IFN $\alpha$  e IL-2, pela supressão da atividade Th1, e estimula a produção de linfócitos Th17 (TIZARD, 2014).

A interleucina 4 (IL-4) pode atuar como imunossupressor no SNC durante a inflamação, pois regula negativamente a proliferação de astrócitos, além de prejudicar a sobrevivência deste tipo celular. Em estudos avaliando a IL-4 *in vivo* e *in vitro*, a IL-4 recuperou a proliferação e a capacidade neurogênica de astrócitos corticais humanos (MASHKARYAN et al., 2020; PAPADIMITRIOU et al., 2018). Dessa forma, a IL-4 atua regulando os astrócitos reativos e desempenha um papel protetor contra a neuroinflamação (CHEN et al., 2020).

#### *Interleucina 10*

A interleucina 10 (IL-10) desenvolve papel nos ciclos de *feedback* positivo envolvendo citocinas e retransmite sinais de *feedback* negativo que amortecem o sistema imunológico ativado após um gatilho inflamatório. A IL-10 desativa macrófagos, o que por sua vez diminui a produção de citocinas pelas células T e também possui amplos efeitos anti-inflamatórios e atua suprimindo as citocinas pró-

inflamatórias (LI et al., 2011). Em alguns estudos em convulsões neonatais, a IL-10 permaneceu elevada no plasma 24-72 horas após o início das crises indicando que possa desenvolver um papel protetor com efeito anticonvulsivante nesse grupo, suprimindo a produção de citocinas pró inflamatórias (YOUN; SUNG; LEE, 2013).

### *Interleucina 17*

A interleucina-17 (IL-17) foi relacionada a ocorrência e desenvolvimento de doenças no SNC, como a epilepsia intratável (DAI et al., 2019; XU et al., 2018). A IL-17 é sintetizada e secretada pela célula Th17 após estimulação de citocinas, como IL-6 e IL-23. Ela é composta por seis tipos (A-F), sendo que a IL-17E exerce efeito anti-inflamatório em doenças imunomediadas (DAI et al., 2019; LIU et al., 2019).

Estudo sobre o papel da IL-17 na neuroinflamação, identificaram que ela induziu a ativação de micróglia, promoveu a expressão de fatores pró-inflamatórios em modelos experimentais com hemorragia intracranianas e com doença de Parkinson (LIU et al., 2019; SHI et al., 2018). O papel epileptogênico da IL-17 foi demonstrado pelos fatores pró-inflamatórios desta citocina, mas também por secretar outros fatores pró-inflamatórios, como IL-1 $\alpha$ , IL-6 e TNF $\alpha$  (HE et al., 2016).

Em pacientes com esclerose múltipla, os níveis de glutamato estavam diretamente relacionados com os níveis da IL-17 e induziu a excitotoxicidade (KOSTIC et al., 2017). Dessa forma, a IL-17 pode aumentar a incidência de crises epiléticas pelo desequilíbrio entre os neurotransmissores (AN et al., 2022).

### *Interferon- gama*

O interferon gama (IFN- $\gamma$ ) é uma citocina crítica na mediação de respostas imunes e é expressa em vários leucócitos, incluindo células B, células T, células natural killer (NK) e células apresentadoras de antígenos (APCs). No encéfalo, é produzido principalmente nos astrócitos e, além disso, pode ser liberado por células imunes periféricas infiltradas, incluindo células T produtoras de IFN- $\gamma$  (POPKO et al., 1997).

O IFN- $\gamma$  é uma citocina pró-inflamatória que existe em níveis baixos no encéfalo, enquanto aumenta em distúrbios cerebrais. O IFN- $\gamma$ , em um estudo experimental com *status epilepticus* induzido em ratos, demonstrou desempenhar um papel importante na redução da lesão neuronal (RYU et al., 2010). Em outro estudo com camundongos, o IFN- $\gamma$  administrado intraperitoneal conseguiu suprimir a frequência e a gravidade das crises, além dos ratos mostrarem melhor desempenho cognitivo (LI et al., 2017). No estudo em pacientes com epilepsia pós traumática, embora o INF-  $\gamma$  foi maior no grupo com crises, não houve associação dos seus níveis e a presença das crises (CHOUDHARY et al., 2021).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivos Gerais

- Avaliar os valores de pressão arterial e achados eletrocardiográficos, além dos parâmetros hematológicos, bioquímicos séricos e urinários, e hemogasométricos em cães com epilepsia idiopática tratados com fenobarbital.
- Avaliar o perfil pró-inflamatório e anti-inflamatório de citocinas séricas de cães com epilepsia idiopática.

#### 3.1 Objetivos Específicos

Artigo 1: Aceito em *Veterinary World* – Qualis A3

- Avaliar os valores de pressão arterial, achados eletrocardiográficos e os parâmetros hematológicos, bioquímicos séricos e urinários, e hemogasométricos em cães com epilepsia idiopática tratados com fenobarbital.
- Identificar e correlacionar as alterações eletrocardiográficas em cães com epilepsia idiopática.

Artigo 2: Submetido a *Veterinary Immunology and Immunopathology* – Qualis A1

- Mensuração sérica de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias de cães controle, cães com epilepsia idiopática e cães com epilepsia estrutural.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Procedimento Ético

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de ética no Uso de Animais (CEUA UFMT – 23108.934331/2018-80 e (CEP UFG - 3.959.384) e todas as condutas clínicas foram executadas mediante autorização prévia do responsável legal por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Após autorização dos responsáveis, foi realizado um questionário para auxiliar na interpretação do evento paroxístico (apêndice A).

### ARTIGO 1:

### 4.2 Animais

Durante o período de março de 2021 a julho de 2023, vinte cães foram selecionados e divididos em dois grupos para estudo, sendo o grupo um (GI) composto por dez cães com diagnóstico de epilepsia idiopática segundo os critérios Tier I (DE RISIO et al., 2015) e o grupo dois (GII) composto por dez cães saudáveis sem histórico de alterações neurológicas e/ou sistêmicas.

Os cães selecionados para o GI e GII foram provenientes dos serviços de atendimento clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso (HOVET – UFMT).

### 4.3 Avaliação Clínica e Neurológica

Todos os cães foram submetidos à avaliação clínica compreendendo exame físico e avaliação neurológica. A avaliação neurológica compreendeu estudo do estado mental, postura, posicionamento de cabeça, locomoção, nervos cranianos,

avaliação de reflexos espinhais e reações posturais, incluindo também avaliação nociceptiva. Todas as avaliações foram realizadas pelo mesmo avaliador a fim de manter o mesmo padrão.

Durante a avaliação clínica, foram realizadas cinco aferições da pressão arterial pelo método oscilométrico PetMap®, com cinco repetições, descartando a primeira aferição (ACIERNO et al., 2018).

#### 4.4 Coleta de Amostras

Após avaliação clínica, foram coletados cinco mL de sangue da veia jugular externa ou cefálica que foram divididos em dois tubos, um contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para avaliação do hemograma e outro com ativador de coágulo para avaliação da bioquímica sérica e das citocinas.

Também foi coletado 0,5 mL de sangue venoso com seringa heparinizada para realização do exame de hemogasometria.

Por fim, foram coletados cinco mL de urina por meio de sondagem uretral ou cistocentese para realização da urinálise.

#### 4.5 Processamento das Amostras

O hemograma foi processado para contagem celular automática de eritrócitos, plaquetas, leucócitos totais, e determinação da hemoglobina no Analisador Hematológico Poche 100 (Roche®). Posteriormente, pela técnica de microhematócrito foi conferido o volume globular e confeccionado esfregaço sanguíneo submetido à coloração do tipo Romanowsky para contagem diferencial de leucócitos e plaquetas, além da avaliação morfológica das células em microscopia de luz.

As análises bioquímicas séricas foram realizadas com kits comerciais no Analisador Bioquímico Automatizado Wiener®. Os bioquímicos selecionados foram: ureia, creatinina, albumina, fosfatase alcalina e alanina aminotransferase. Enquanto,

a análise físico-química da urina foi realizada através da fita reagente Combur-test® (Roche). A densidade urinária foi determinada por refratômetro e a sedimentoscopia em microscopia de luz.

Os valores de referência para os achados hematológicos foram de acordo com Jain (1993) e para bioquímica sérica, hemogasometria e urinálise foram considerados os descritos por Kaneko (2008).

#### 4.6 Eletrocardiograma

Em todos os cães deste estudo foi realizado eletrocardiograma pelo eletrocardiógrafo computadorizado (Tecnologia Eletrônica Brasileira - TEB) (VARSHNEY, 2020). O posicionamento padrão para a realização do exame foi o decúbito lateral direito. Para as derivações de membros bipolares e unipolares aumentadas, os eletrodos torácicos direito e esquerdo foram posicionados acima do olecrano, no seu aspecto caudal e os eletrodos pélvicos direito e esquerdo, acima dos ligamentos patelares no interior de cada membro. Foi utilizado álcool 70% entre os eletrodos e a pele do animal para melhor condutividade elétrica. O tempo de duração padrão do exame foi 5 minutos com gravação dos traçados para posterior interpretação. As mensurações foram realizadas na derivação II (Tilley and Burnick, 2004).

#### 4.7 Outros exames complementares

Em pacientes com alterações no exame neurológico foram realizados exames complementares de imagem e pesquisa de agentes infecciosos para exclusão de alterações estruturais.

#### 4.8 Análise Estatística

Os dados foram agrupados em planilhas no Excel (Microsoft®) e analisados quanto à normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e, posteriormente realizado o teste t de Student ou teste t de Welch considerando o nível de significância de 5%. Para a realização das análises, foi utilizado o software Jamovi® (Versão 2.3).

## ARTIGO 2:

### 4.9 Animais

Durante o período de julho de 2023, dez cães com diagnóstico de epilepsia idiopática segundo os critérios Tier I, II e III (DE RISIO et al., 2015) foram selecionados compondo o grupo um (G1) provenientes do serviço de Neurologia e Neurocirurgia veterinária do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Goiás (HOVET-UFG). Foram coletados cinco cães segundo nível de confiança Tier I, quatro cães Tier II e um cão compondo o nível de confiança Tier III.

Os cães com início de crises epiléticas com idade menor que seis meses ou maior que seis anos e que houvesse suspeita de EI, foram submetidos a RM de baixo campo e análise do LCR para descartar alterações estruturais. O grupo de cães com EI estavam sem crises epiléticas por pelo menos 30 dias.

Sete cães com exame neurológico interictal anormais e/ou anormalidades na RM, LCR ou exames laboratoriais foram alocados no grupo epilepsia estrutural (EE) após descartar as causas reativas.

Para o grupo controle foram utilizadas as amostras provenientes dos serviços de atendimento clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Mato Grosso (HOVET – UFMT) totalizando 11 cães.

### 4.10 Avaliação Clínica e Neurológica

Todos os cães foram submetidos à avaliação clínica compreendendo exame físico e avaliação neurológica. A avaliação neurológica compreendeu estudo do estado mental, postura, posicionamento de cabeça, locomoção, nervos cranianos,

avaliação de reflexos espinhais e reações posturais, incluindo também avaliação nociceptiva. Todas as avaliações foram realizadas pelo mesmo avaliador a fim de manter o mesmo padrão.

#### 4.11 Coleta de Amostras

Após avaliação clínica, foram coletados cinco mL de sangue da veia jugular externa ou cefálica que foram acondicionados em tubo com ativador de coágulo e centrifugados a 2000 giros por 15 minutos para posterior análise das citocinas. O soro foi armazenado a -80°C por quatro meses.

#### 4.12 Mensuração das citocinas

As amostras séricas foram utilizadas para mensuração das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-17 por meio do kit CBA (citometric beads array) (BD<sup>®</sup>) seguindo as recomendações do fabricante (DA SILVA et al., 2018; SCHERER et al., 2016). A escolha do kit para o estudo foi feita a partir das citocinas que já haviam estudos em conjunto com citocinas ainda não avaliadas em cães com epilepsia. A análise foi realizada na cidade de Barra do Garças no *campus* da UFMT, com citômetro de fluxo, modelo FACScalibur BD<sup>®</sup>, com marcação específica utilizando anticorpos para cada citocina. Os dados foram analisados pelo software FCAP array versão 3.0. O kit humano foi validado pelo banco de dados de nucleotídeos e pelo grau de homologia entre as citocinas humanas e caninas (MOREIRA et al., 2015).

#### 4.13 Análise Estatística

Os dados foram agrupados em planilhas no Excel (Microsoft<sup>®</sup>) e analisados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade de variância pelo teste de Levene. O teste t com bootstrap foi realizado com o software

R<sup>®</sup> e diferenças com  $p \leq 0,05$  foram consideradas estatisticamente significativas. Foram descartados os dados cujos valores estavam abaixo da faixa padrão e/ou fora da faixa do equipamento e valores muito discrepantes. Os valores p foram calculados para as variáveis que compararam os três grupos: controle *versus* (vs) IE; controle vs EE; EE vs IE.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados supracitados, pode-se sugerir que a epilepsia influencia a condução elétrica cardíaca, pois foi observado um aumento do tempo de condução elétrica de forma significativa nos ventrículos e não significativa nos átrios, sugerindo sobrecarga ventricular e atrial esquerda. Dessa forma, estudos de acompanhamento em diferentes grupos (epilépticos tratados, epilépticos sem tratamento e controle) são necessários para melhor caracterizar as alterações cardíacas. Para o significado prognóstico da eletrocardiografia é necessário acompanhamento longitudinal para melhor compreender a progressão da doença cardíaca e sua correlação com a epilepsia, além de avaliar se o tratamento possa ter interferido nos achados eletrocardiográficos. Por este estudo se tratar de um estudo transversal, a ausência de análise ecocardiográfica prévia limitou uma análise mais robusta das alterações cardiológicas relevantes.

Os achados laboratoriais dos pacientes sob tratamento com fenobarbital, mostraram que os cães com epilepsia idiopática apresentavam redução significativa da série vermelha do sangue, atribuídas ao uso de monoterapia com fenobarbital, e reforçam o acompanhamento clínico necessário em todos os cães sob tratamento.

Cães com EE apresentam menores citocinas pró-inflamatórias séricas, caracterizadas por diminuição de IFN- $\gamma$  quando comparados aos cães com epilepsia idiopática. O IFN- $\gamma$  ainda não havia sido estudado em cães com epilepsia. Além disso, não houve alteração no perfil sérico das citocinas em cães com epilepsia.

Por ser uma estratégia indireta de avaliação da epileptogênese e poder auxiliar no manejo de pacientes com epilepsia, estudos comparativos entre amostras de LCR,

soro e tecido cerebral podem fornecer novas perspectivas para o tratamento de cães com epilepsia.

## REFERÊNCIAS

- ACIERNO, M. J. et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1803–1822, nov. 2018.
- AIELLO, G. et al. Epilepsia em cães: 66 casos (2005-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 347–351, abr. 2012.
- ALLAN, S. M.; ROTHWELL, N. J. Cytokines and acute neurodegeneration. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 2, n. 10, p. 734–744, out. 2001.
- ALVIM, M. K. M. et al. Inflammatory and neurotrophic factor plasma levels are related to epilepsy independently of etiology. **Epilepsia**, v. 62, n. 10, p. 2385–2394, out. 2021.
- AN, J. et al. The role of interleukin-17 in epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 186, p. 107001, out. 2022.
- BARCO, N. M.; LINARTEVICH, V. F. Efeito dos anti-inflamatórios nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol no modelo de Kindling: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e538101321581, 21 out. 2021.
- BERENDT, M. et al. International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 182, s12917- 015- 0461–2, dez. 2015.
- BHATTI, S. F. M. et al. International Veterinary Epilepsy Task Force consensus proposal: medical treatment of canine epilepsy in Europe. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 176, dez. 2015.
- BLADES GOLUBOVIC, S.; ROSSMEISL, J. H. Status epilepticus in dogs and cats, part 1: etiopathogenesis, epidemiology, and diagnosis: Status epilepticus: etiopathogenesis and diagnosis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 27, n. 3, p. 278–287, maio 2017.
- BUTTS, C. L.; STERNBERG, E. M. Neuroendocrine factors alter host defense by modulating immune function. **Cellular Immunology**, v. 252, n. 1–2, p. 7–15, 2008.
- CAMPBELL, I. **Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6**. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.90.21.10061>>. Acesso em: 31 maio. 2023.
- CHARALAMBOUS, M. et al. Antiepileptic drugs' tolerability and safety – a systematic review and meta-analysis of adverse effects in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 79, 21 maio 2016.
- CHARALAMBOUS, M. et al. Defining and overcoming the therapeutic obstacles in canine refractory status epilepticus. **The Veterinary Journal**, v. 283–284, p. 105828, 1 maio 2022.

- CHARALAMBOUS, M. et al. ACVIM Consensus Statement on the management of status epilepticus and cluster seizures in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, p. jvim.16928, 3 nov. 2023.
- CHARALAMBOUS, M.; BRODBELT, D.; VOLK, H. A. Treatment in canine epilepsy--a systematic review. **BMC veterinary research**, v. 10, p. 257, 22 out. 2014.
- CHEN, L. et al. Interleukin 4 Affects Epilepsy by Regulating Glial Cells: Potential and Possible Mechanism. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 13, p. 554547, 4 set. 2020.
- CHOI, J.; KOH, S. Role of Brain Inflammation in Epileptogenesis. **Yonsei Medical Journal**, v. 49, n. 1, p. 1–18, 29 fev. 2008.
- CHOUDHARY, A. et al. A Prospective Study of Novel Therapeutic Targets Interleukin 6, Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , and Interferon  $\gamma$  as Predictive Biomarkers for the Development of Posttraumatic Epilepsy. **World Neurosurgery: X**, v. 12, p. 100107, out. 2021.
- COSTAGLIOLA, G. et al. The brain–heart interaction in epilepsy: implications for diagnosis, therapy, and SUDEP prevention. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, v. 8, n. 7, p. 1557–1568, 2021.
- DA SILVA, B. J. M. et al. Selective effects of Euterpe oleracea (açai) on Leishmania (Leishmania) amazonensis and Leishmania infantum. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 1613–1621, jan. 2018.
- DAI, Q. et al. Interleukin-17A-mediated alleviation of cortical astrocyte ischemic injuries affected the neurological outcome of mice with ischemic stroke. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 7, p. 11498–11509, jul. 2019.
- DE LIMA ROSA, G. et al. Effects of prednisolone on behavioral and inflammatory profile in animal model of PTZ-induced seizure. **Neuroscience Letters**, v. 743, p. 135560, 19 jan. 2021.
- DE RISIO, L. et al. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 148, dez. 2015.
- DE VRIES, E. E. et al. Inflammatory mediators in human epilepsy: A systematic review and meta-analysis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 63, p. 177–190, abr. 2016.
- FREDSØ, N. et al. A prospective observational longitudinal study of new-onset seizures and newly diagnosed epilepsy in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 13, p. 54, 16 fev. 2017.
- FREUNDT-REVILLA, J. et al. Th17-skewed immune response and cluster of differentiation 40 ligand expression in canine steroid-responsive meningitis-arteritis, a large animal model for neutrophilic meningitis. **Journal of Neuroinflammation**, v. 14, n. 1, p. 20, 23 jan. 2017.
- GALIC, M. A.; RIAZI, K.; PITTMAN, Q. J. Cytokines and brain excitability. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 33, n. 1, p. 116–125, jan. 2012.
- GOLDBERG, E. M.; COULTER, D. A. Mechanisms of epileptogenesis: a convergence on neural circuit dysfunction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 14, n. 5, p. 337–349, maio 2013.
- GONÇALVES, R. et al. Effect of seizures on cerebrospinal fluid analysis in dogs with idiopathic epilepsy. **Veterinary Record**, v. 166, n. 16, p. 497–498, abr. 2010.

- GUERREIRO, C. A. M. História do surgimento e desenvolvimento das drogas antiepilépticas. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 12, n. 1 suppl 1, p. 18–21, mar. 2006.
- GUZZO, E. F. M. et al. Effect of dexamethasone on seizures and inflammatory profile induced by Kindling Seizure Model. **Journal of Neuroimmunology**, v. 325, p. 92–98, 15 dez. 2018.
- HAMAMOTO, Y. et al. Retrospective epidemiological study of canine epilepsy in Japan using the International Veterinary Epilepsy Task Force classification 2015 (2003–2013): etiological distribution, risk factors, survival time, and lifespan. **BMC Veterinary Research**, v. 12, n. 1, p. 248, dez. 2016.
- HE, J.-J. et al. Increased expression of interleukin 17 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. **Journal of Neuroimmunology**, v. 298, p. 153–159, set. 2016.
- HÜLSMEYER, V.-I. et al. International Veterinary Epilepsy Task Force’s current understanding of idiopathic epilepsy of genetic or suspected genetic origin in purebred dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 175, dez. 2015.
- JIANG, N. M. et al. The Impact of Systemic Inflammation on Neurodevelopment. **Trends in Molecular Medicine**, v. 24, n. 9, p. 794–804, 1 set. 2018.
- JUNIOR, F. C. DE M. R. et al. Trastornos del aprendizaje y epilepsia. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e1910313039–e1910313039, 3 mar. 2021.
- KACULINI, C. M.; TATE-LOONEY, A. J.; SEIFI, A. The History of Epilepsy: From Ancient Mystery to Modern Misconception. **Cureus**, 17 mar. 2021.
- KEARSLEY-FLEET, L. et al. Prevalence and risk factors for canine epilepsy of unknown origin in the UK. **Veterinary Record**, v. 172, n. 13, p. 338–338, 2013.
- KNEBEL, A. et al. Measurement of canine Th17 cells by flow cytometry. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 243, p. 110366, 1 jan. 2022a.
- KNEBEL, A. et al. Th17 cell-mediated immune response in a subpopulation of dogs with idiopathic epilepsy. **PLOS ONE**, v. 17, n. 1, p. e0262285, 13 jan. 2022b.
- KOSTIC, M. et al. IL-17 signalling in astrocytes promotes glutamate excitotoxicity: Indications for the link between inflammatory and neurodegenerative events in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 11, p. 12–17, jan. 2017.
- LI, G. et al. Cytokines and epilepsy. **Seizure**, v. 20, n. 3, p. 249–256, abr. 2011.
- LI, T. et al. Intraperitoneal injection of IL-4/IFN- $\gamma$  modulates the proportions of microglial phenotypes and improves epilepsy outcomes in a pilocarpine model of acquired epilepsy. **Brain Research**, v. 1657, p. 120–129, fev. 2017.
- LIMA, J.; BAHRIAS, M. V. Acompanhamento dos casos de epilepsia canina atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina. **Medvop - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 10, p. 134–140, 1 nov. 2012.
- LIU, Z. et al. IL-17A exacerbates neuroinflammation and neurodegeneration by activating microglia in rodent models of Parkinson’s disease. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 81, p. 630–645, out. 2019.

- MASHKARYAN, V. et al. Type 1 Interleukin-4 Signaling Obliterates Mouse Astroglia in vivo but Not in vitro. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, 2020.
- MERBL, Y. et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 concentrations in cerebrospinal fluid of dogs after seizures. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 6, p. 1775–1781, 2014.
- MOREIRA, M. L. et al. Cross-reactivity of commercially available anti-human monoclonal antibodies with canine cytokines: establishment of a reliable panel to detect the functional profile of peripheral blood lymphocytes by intracytoplasmic staining. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, n. 1, p. 51, 11 set. 2015.
- MUÑANA, K. R.; NETTIFEE-OSBORNE, J. A.; PAPICH, M. G. Effect of chronic administration of phenobarbital, or bromide, on pharmacokinetics of levetiracetam in dogs with epilepsy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 2, p. 614–619, 2015.
- NORONA, F. E.; VOLK, H. A. Investigating the efficacy of medical management for canine structural epilepsy. **Veterinary Record**, v. 187, n. 8, out. 2020.
- PACKER, R. M. A. et al. Clinical Risk Factors Associated with Anti-Epileptic Drug Responsiveness in Canine Epilepsy. **PLOS ONE**, v. 9, n. 8, p. e106026, 25 ago. 2014.
- PACKER, R. M. A.; VOLK, H. A. Epilepsy beyond seizures: a review of the impact of epilepsy and its comorbidities on health-related quality of life in dogs. **Veterinary Record**, v. 177, n. 12, p. 306–315, set. 2015.
- PAPADIMITRIOU, C. et al. 3D Culture Method for Alzheimer’s Disease Modeling Reveals Interleukin-4 Rescues A $\beta$ 42-Induced Loss of Human Neural Stem Cell Plasticity. **Developmental Cell**, v. 46, n. 1, p. 85–101.e8, jul. 2018.
- PATTERSON, E. (NED) E. Epileptogenesis and Companion Animals. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 28, n. 2, p. 42–45, maio 2013.
- PERRY, V. H. The influence of systemic inflammation on inflammation in the brain: implications for chronic neurodegenerative disease. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 18, n. 5, p. 407–413, set. 2004.
- PODELL, M. et al. 2015 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Seizure Management in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 2, p. 477–490, 2016.
- POPKO, B. et al. The effects of interferon- $\gamma$  on the central nervous system. **Molecular Neurobiology**, v. 14, n. 1, p. 19–35, 1997.
- POWELL, K. L. et al. HCN channelopathy and cardiac electrophysiologic dysfunction in genetic and acquired rat epilepsy models. **Epilepsia**, v. 55, n. 4, p. 609–620, abr. 2014.
- RANA, A.; MUSTO, A. E. The role of inflammation in the development of epilepsy. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 144, 15 maio 2018.
- ROBEL, S. et al. Reactive astrogliosis causes the development of spontaneous seizures. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 35, n. 8, p. 3330–3345, 25 fev. 2015.

- ROZENTAL, A. J. et al. The efficacy and safety of cannabidiol as adjunct treatment for drug-resistant idiopathic epilepsy in 51 dogs: A double-blinded crossover study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 37, n. 6, p. 2291–2300, nov. 2023.
- RYU, H. J. et al. The protective effects of interleukin-18 and interferon- $\gamma$  on neuronal damages in the rat hippocampus following status epilepticus. **Neuroscience**, v. 170, n. 3, p. 711–721, out. 2010.
- SANDERS, S. Seizures in Dogs and Cats. 2015.
- SCHERER, E. F. et al. Cytokine modulation of human blood viscosity from vivax malaria patients. **Acta Tropica**, v. 158, p. 139–147, 1 jun. 2016.
- SCHWARTZ, M. et al. Canine intracranial neoplasia: clinical risk factors for development of epileptic seizures. **The Journal of Small Animal Practice**, v. 52, n. 12, p. 632–637, dez. 2011.
- SCORZA, C. A. et al. Sudden unexpected death in dogs with epilepsy: Risks versus benefits of omega-3 fatty acid supplementation for man's best friend. **Epilepsy & Behavior**, v. 27, n. 3, p. 508–509, jun. 2013.
- SCORZA, C. A. et al. Labrador retrievers and SUDEP: a simple theory that may have important applications. **Epilepsy & Behavior: E&B**, v. 32, p. 27–28, mar. 2014.
- SCORZA, F. A. et al. Alterações cardiovasculares e morte súbita nas epilepsias. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 65, p. 461–466, jun. 2007.
- SCORZA, F. A. Sudden unexpected death in epilepsy and the song of science. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 68, n. 6, p. 835–836, dez. 2010.
- SHI, H. et al. IL-17A induces autophagy and promotes microglial neuroinflammation through ATG5 and ATG7 in intracerebral hemorrhage. **Journal of Neuroimmunology**, v. 323, p. 143–151, out. 2018.
- SOFRONIEW, M. V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16, n. 5, p. 249–263, maio 2015.
- SZCZURKOWSKA, P. J. et al. Epilepsy and hypertension: The possible link for sudden unexpected death in epilepsy? **Cardiology Journal**, v. 28, n. 2, p. 330–335, 2021.
- VAN MEERVENNE, S. A. E. et al. The influence of sex hormones on seizures in dogs and humans. **The Veterinary Journal**, v. 201, n. 1, p. 15–20, jul. 2014.
- VARSHNEY, J. P. **Electrocardiography in Veterinary Medicine**. Singapore: Springer Singapore, 2020.
- VEZZANI, A. et al. The role of inflammation in epilepsy. **Nature Reviews. Neurology**, v. 7, n. 1, p. 31–40, jan. 2011.
- VEZZANI, A.; BALOSSO, S.; RAVIZZA, T. Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 8, p. 459–472, ago. 2019a.
- VEZZANI, A.; BALOSSO, S.; RAVIZZA, T. Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 8, p. 459–472, ago. 2019b.
- VIANNA, L. F. C. G.; VAHIA, K. B. Perfil clínico e epidemiológico de cães epiléticos atendidos no hospital veterinário da UFRRJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 14, n. 1, p. 51–55, 2007.

VIEIRA, V. et al. Effect of diclofenac sodium on seizures and inflammatory profile induced by kindling seizure model. **Epilepsy Research**, v. 127, p. 107–113, 1 nov. 2016.

XU, D. et al. Peripherally derived T regulatory and  $\gamma\delta$  T cells have opposing roles in the pathogenesis of intractable pediatric epilepsy. **Journal of Experimental Medicine**, v. 215, n. 4, p. 1169–1186, 27 fev. 2018.

YOUN, Y.; SUNG, I. K.; LEE, I. G. The role of cytokines in seizures: interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-8, and IL-10. **Korean Journal of Pediatrics**, v. 56, n. 7, p. 271, 2013.

ZHANG, H. et al. Matrix Metalloproteinases and Neurotrauma: Evolving Roles in Injury and Reparative Processes. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 16, n. 2, p. 156–170, abr. 2010.

**APÊNDICE A** – Questionário para caracterização das crises epiléticas em cães atendidos no HOVET-UFMT.

Nome:	Idade:	NPP:	
Proprietário:	Raça:	NM:	
1. Quando ocorreu a primeira crise?	<input type="checkbox"/> < 1 ano	<input type="checkbox"/> 1-3 anos	<input type="checkbox"/> 4-6 anos <input type="checkbox"/> > 6 anos
2. Crise começou no corpo todo?	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Face	<input type="checkbox"/> Membros Pélvicos <input type="checkbox"/> Membros Torácicos
3. As crises são todas similares?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
4. Durante a crise ocorreu	<input type="checkbox"/> vômito <input type="checkbox"/> salivação	<input type="checkbox"/> tremores	<input type="checkbox"/> defecação <input type="checkbox"/> desmaio
5. Quanto tempo duração	<input type="checkbox"/> < 1 minuto	<input type="checkbox"/> 1-5 minutos	<input type="checkbox"/> > 5 minutos
6. Quanto tempo animal demorou para retomar ao normal	<input type="checkbox"/> < 5 minutos	<input type="checkbox"/> 5-10 minutos	<input type="checkbox"/> > 10 minutos
7. Horas do dia que as crises ocorrem	<input type="checkbox"/> matutino	<input type="checkbox"/> vespertino	<input type="checkbox"/> indiferente
8. Fator desencadeante das crises	<input type="checkbox"/> trovão	<input type="checkbox"/> fogo de artifício	<input type="checkbox"/> agitação/excitação
9. Há perda da consciência durante a crise?	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	
10. O animal está normal entre as crises	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	
11. Quantas crises ocorrem em 24 horas?	<input type="checkbox"/> 1 crise	<input type="checkbox"/> 1-2 crises	<input type="checkbox"/> > 3 crises
12. Consciência/locomoção normal entre crises?	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não	
13. Dieta	<input type="checkbox"/> Ração	<input type="checkbox"/> Comida	<input type="checkbox"/> ração e comida
14. Fezes	<input type="checkbox"/> Normais	<input type="checkbox"/> Diarreica	<input type="checkbox"/> Pastosas <input type="checkbox"/> Sangue e/ou muco
15. Medicamentos	<input type="checkbox"/> Fenobarbital	<input type="checkbox"/> Brometo de K	<input type="checkbox"/> Outros
16. Vacinação	<input type="checkbox"/> Atualizado	<input type="checkbox"/> Desatualizado	
17. Vermifugação	<input type="checkbox"/> Atualizado	<input type="checkbox"/> Desatualizado	
18. Contactantes com crise?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	

**APÊNDICE B:** Tabela resumida com os dados dos grupos de cães com epilepsia

Tabela 1: Dados dos cães com epilepsia idiopática e o resultado das citocinas séricas.

<b>Cães</b>	<b>Raça</b>	<b>Idade</b>	<b>TIER</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-10</b>	<b>IFN</b>	<b>IL-6</b>	<b>TNF</b>	<b>IL-17</b>
E11	Pastor Belga	8 A	TI	11.88	7.92	3.11	4.33	4.95	8.09	26.58
E12	Rottweiler	9 A	TII	18.74	13.2	7.52	3.64	9.38	8.47	45.95
E13	Daschund	15 A	TII	13.40	9.16	6.37	3.74	5.92	8.21	63.22
E14	Labrador	8 A	TI	11.88	8.44	4.91	3.59	5.23	7.84	9.00
E15	SRD	7 A	TI	14.60	10.88	6.78	6.15	5.82	6.78	19.30
E16	SRD	6 A	TI	15.21	5.85	6.08	12.04	6.66	9.54	28.45
E17	Labrador	6 A	TIII	13.59	8.44	5.8	4	6.34	7.01	11.96
E18	SRD	3 A	TII	13.40	7.75	5	5.22	5.42	6.89	28.45
E19	Golden	9 A	TII	12.06	7.92	4.11	5.61	5.04	7.24	14.52
E110	SRD	12 A	TI	14.39	10.88	8.8	3	7.58	7.12	9.92

SRD: sem raça definida

Tabela 2: Dados dos cães com epilepsia estrutural e o resultado das citocinas séricas.

<b>Cães</b>	<b>Raça</b>	<b>Idade</b>	<b>TIER</b>	<b>IL-2</b>	<b>IL-4</b>	<b>IL-10</b>	<b>IFN</b>	<b>IL-6</b>	<b>TNF</b>	<b>IL-17</b>
EE1	SRD	3 A	NA	12.63	8.44	5.52	4.62	5.92	8.21	42.79
EE2	SRD	5 A	NA	15.01	12.12	5.52	4.74	8.45	7.12	30.63
EE3	Bulldog	5 A	NA	10.97	18.35	102.98	9.9	63.34	149.45	13.33
EE4	SRD	4 A	NA	13.59	11.28	4.34	29.39	6.77	7.48	55.10
EE5	Daschund	3 A	NA	14.39	12.98	5.52	6.95	7.35	10.86	15.02
EE6	SRD	3 A	NA	15.63	10.88	6.47	10.82	7.46	9.83	10.65
EE7	Poodle	15 A	NA	4.04	5.99	3.52	0.58	3.75	0.34	10.13

SRD: sem raça definida; NA: não se aplica

**APÊNDICE C - QUALIS da Veterinary World a qual foi publicado o artigo “Influência da epilepsia idiopática na pressão arterial e no ritmo cardíaco em cães sob tratamento com fenobarbital”**

sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/veiculoPublicacaoQualis/listaConsultaGeralPeriodicos.jsf			
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	BIOTECNOLOGIA	A3
0972-8988	VETERINARY WORLD (PRINT)	BIOTECNOLOGIA	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	CIÊNCIAS AMBIENTAIS	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS I	A3
0972-8988	VETERINARY WORLD (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS I	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS II	A3
0972-8988	VETERINARY WORLD (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS II	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS III	A3
0972-8988	VETERINARY WORLD (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS III	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	FARMÁCIA	A3
0972-8988	VETERINARY WORLD (PRINT)	FARMÁCIA	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	INTERDISCIPLINAR	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	MEDICINA I	A3
0972-8988	VETERINARY WORLD (PRINT)	MEDICINA I	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	MEDICINA VETERINÁRIA	A3
0972-8988	VETERINARY WORLD (PRINT)	MEDICINA VETERINÁRIA	A3
2231-0916	VETERINARY WORLD (ONLINE)	ZOOTECNIA / RECURSOS PESQUEIROS	A3

## APÊNDICE D - ARTIGO 1 PUBLICADO NA REVISTA VETERINARY WORLD

### **Influência da epilepsia idiopática na pressão arterial e no eletrocardiograma de cães tratados com fenobarbital**

#### **Resumo**

**Antecedentes e/ou Objetivo:** A epilepsia idiopática em cães está associada à redução da expectativa de vida, alterações neurocomportamentais e aumento do risco de comorbidades durante o período interictal. Em humanos com epilepsia, houve vários relatos de morte súbita sugerindo alterações no ritmo cardíaco secundárias a convulsões. O presente estudo teve como objetivo avaliar os valores de pressão arterial, achados eletrocardiográficos e parâmetros laboratoriais em cães com epilepsia idiopática tratados com fenobarbital e correlacionar os achados com possíveis alterações cardíacas.

**Materiais e Métodos:** Vinte cães foram divididos em dois grupos, sendo dez cães saudáveis e dez cães epiléticos idiopáticos, para análises hematológicas, eletrocardiograma computadorizado e pressão arterial pelo método oscilométrico.

**Resultados:** Os valores do complexo QRS e do intervalo S-T foram estatisticamente diferentes entre os grupos, mas os valores da pressão arterial não foram estatisticamente diferentes.

**Conclusão:** A epilepsia idiopática sugere ser uma doença que pode cursar com alterações na condução cardíaca.

**Palavras-Chave:** hipertensão arterial; condução cardíaca; eletrocardiograma; crises epiléticas; hemogasometria; taquicardia.

#### **1 Introdução**

A epilepsia idiopática (EI) é uma doença neurológica crônica com prevalência de 0,75% em cães, semelhante à prevalência da epilepsia em humanos, e está associada à redução da expectativa de vida, alterações neurocomportamentais e aumento do risco de comorbidades durante o período interictal. [1, 2]. Como os cães

afetados não apresentam alterações clínicas, laboratoriais ou de imagem, a EI é diagnosticada por exclusão [3]. Houve vários relatos de morte súbita em humanos com epilepsia, no entanto, os mecanismos para estas mortes permanecem obscuros, embora tenha sido descoberto que a hipertensão arterial pode diminuir o limiar convulsivo e precipitar crises epiléticas. Sabe-se que o início das convulsões está relacionado ao aumento do tônus simpático, que, por sua vez, aumenta a pressão arterial [4].

Da mesma forma, o aumento da estimulação simpática resulta em toxicidade de catecolaminas no miocárdio, promovendo cardiomiopatia aguda. Além disso, a toxicidade das catecolaminas e a baixa sensibilidade dos barorreceptores podem contribuir para o aumento da pressão arterial [5]. Há evidências de que a epilepsia afeta tanto o ritmo quanto a frequência cardíaca, devido à disfunção neuronal autonômica, além de apresentar alterações eletrocardiográficas, como aumento dos intervalos QT e diminuição dos intervalos RR, devido ao aumento da frequência cardíaca pós-convulsão [6].

Os cães domésticos fornecem um modelo ideal para a medicina porque têm a maior diversidade fenotípica e os dados relacionados à saúde dos cães apresentam muitas oportunidades para descobrir insights sobre os resultados de saúde e doenças em ambas as populações [7]. Ao contrário da medicina humana, há escassez de informações sobre as relações entre EI em cães e hipertensão ou alterações no ritmo cardíaco. O objetivo do presente estudo, portanto, foi avaliar valores de pressão arterial, achados eletrocardiográficos e parâmetros laboratoriais em cães com EI tratados com fenobarbital.

## **2 Materiais e Métodos**

### **2.1 Aprovação ética**

Este estudo foi realizado com aprovação do comitê de ética para uso de animais sob protocolo número 23108.934331/2018-80.

### **2.2 Período e local do estudo**

O estudo foi realizado de março de 2021 a julho de 2023. Todos os cães deste estudo foram provenientes do atendimento clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso, em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

### 2.3 Animais

Foram selecionados 20 cães de diferentes idades, raças e sexos, divididos em dois grupos: grupo um (G1) composto por dez cães com diagnóstico de epilepsia idiopática, sem histórico de convulsões nos últimos sete dias, de acordo com os critérios diagnósticos Tier I descrito por De Risio et al. com hemograma completo, perfil bioquímico sérico (sódio, potássio, cloreto, cálcio, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, proteína total, albumina, glicose e lactato) e urinálise [8]. O grupo dois (G2) foi composto por dez cães hígidos, sem alterações nos exames físicos, neurológicos, laboratoriais e que nunca tiveram crises epiléticas. Todos os exames neurológicos foram realizados pelo mesmo médico veterinário para garantir resultados padronizados. Todos os cães do G1 estavam em tratamento com fenobarbital há pelo menos 60 dias.

### 2.4 Exames complementares

Em todos os cães do G1 e G2 foram realizados os seguintes exames: hemograma completo, perfil bioquímico sérico (alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, ureia, creatinina, albumina, glicose e lactato), urinálise e gasometria venosa respeitando o nível de confiança I para o diagnóstico de EI segundo De Risio et al. [8].

Foi realizado hemograma completo em cada cão utilizando o Analisador Hematológico Automático Poche 100iV (Roche, Suíça) e microscopia óptica, bioquímica sérica utilizando o analisador Automático CM 250 (Wiener Lab, Argentina), medição de lactato utilizando o Accutrend Plus (Roche, Suíça) e glicemia usando o Accu-Chek Active (Roche, Suíça) [9]. A urinálise foi realizada por meio de avaliação física, refratometria, tiras reagentes Combur-Test (Roche, Suíça) e sedimentoscopia. A gasometria venosa foi realizada utilizando o aparelho Cobas b 121 (Roche, Suíça) [9]. A eletrocardiografia foi realizada através da interpretação computadorizada do eletrocardiograma (Tecnologia Eletrônica Brasileira), utilizando medidas obtidas segundo Varshney [10]. A pressão arterial foi obtida com o petMAP, utilizando um método oscilométrico, sendo realizadas cinco medições e descartando a primeira [11].

### 2.5 Análises Estatísticas

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e, posteriormente, pelo teste t de Student ou Welch, com  $P < 0,05$  indicando significância estatística pelo software Jamovi versão 2.3 (endereço web: <https://www.jamovi.org/>).

### 3 Resultados

O G1 incluiu 10 cães com epilepsia (G1), sendo 6 (60%) cães sem raça definida e 4 (40%) cães de raças definidas (1 Pinscher, 1 Australian Cattle Dog, 1 Spitz, 1 Poodle), de 1 a 7 anos de idade (média = 3,40; mediana = 3 anos), composta por 7 (70%) machos e 3 (30%) fêmeas. O G2 incluiu 11 cães saudáveis, 4 (36,4%) sem raça definida e 7 (63,6%) cães de raça definida (2 Spitz, 2 Pug, 1 Bulldog Francês, 1 Dachshund, 1 Chow Chow) ( $P = 0,302$ ), 1–6 anos de idade (média = 3,82; mediana = 4 anos), sendo 7 (63,3%) machos e 4 (36,4%) fêmeas ( $P = 0,772$ ).

Todos os cães com epilepsia foram tratados com monoterapia com fenobarbital no momento deste estudo. A média e mediana da dose de fenobarbital foram de 3 mg/kg o que promoveu concentração sérica média e mediana de 24,37 mcg/mL e 22,5 mcg/mL, respectivamente. O G1 apresentou histórico de frequência média e mediana de crises epiléticas em 24 horas, respectivamente, 1,8 e 2 crises generalizadas e 30% dos cães tiveram controle satisfatório após início da terapia.

A média, mediana, desvio padrão e intervalos interquartis das análises hematológica, bioquímica e urinária para os dois grupos são mostrados na tabela 1. Os cães com epilepsia apresentaram valores significativamente mais baixos de hemoglobina, hematócrito, creatinina e glicose ( $P < 0,05$ ) do que os cães saudáveis, embora estes valores ainda estivessem dentro da faixa de referência normal. Os dados da gasometria venosa são apresentados na tabela 2, incluindo valores de média, mediana, desvio padrão e intervalo interquartil. O nível médio de cálcio ionizado foi sutilmente inferior, enquanto o nível médio de bicarbonato foi ligeiramente superior nos cães do G1 aos valores de referência, embora nenhum deles tenha sido estatisticamente significativo.

A tabela 3 apresenta as avaliações do eletrocardiograma e da pressão arterial. Os valores do complexo QRS e do intervalo ST diferiram significativamente entre G1 e G2, sendo os valores médios do G1 superiores aos do G2. Os valores de pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial sistólica (PAS) e pressão arterial média

(PAM) no G1 foram superiores aos do G2, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas.

#### 4 Discussão

Os cães com epilepsia tinham história de início de crises convulsivas entre os seis meses e os seis anos de idade, sem história de *status epilepticus*, embora todos tivessem história de crises generalizadas. A monoterapia com fenobarbital foi o tratamento de primeira linha para controlar as crises epiléticas no presente estudo, entretanto, é comum incluir outro(s) medicamento(s) para melhor controle [12]. O uso contínuo de fenobarbital pode resultar em anemia induzida pela diminuição da produção de eritrócitos na medula óssea, destruição de eritrócitos por processos imunomediados e aumento da degradação da hemoglobina [13]. Os dados do presente estudo mostraram que os cães com epilepsia apresentaram níveis mais baixos de hemoglobina e hematócrito ( $P < 0,05$ ) do que os cães controle saudáveis, sugerindo que o tratamento farmacológico para a epilepsia pode ter influenciado esses resultados.

Não houve alterações significativas nos demais parâmetros hematológicos e urinários; entretanto, as enzimas hepáticas devem ser cuidadosamente avaliadas em cães submetidos à terapia com fenobarbital para epilepsia, pois pode ocorrer doença hepática induzida pelo fármaco. Conforme mostrado na Tabela 1, os cães do G1 apresentaram valores de fosfatase alcalina acima dos valores de referência, embora as diferenças não tenham sido estatisticamente significativas, reforçando a ideia de que o fenobarbital é metabolizado pelas enzimas do citocromo P450, levando à disfunção mitocondrial e ao estresse oxidativo [13]. Embora as concentrações séricas de creatinina e glicose dos cães com epilepsia estivessem dentro dos limites de referência, elas foram significativamente diferentes das dos cães saudáveis, o que pode resultar de alterações metabólicas causadas pelo uso contínuo de fenobarbital [14].

Os cães do G1 apresentaram nível médio de cálcio iônico abaixo da faixa de referência, o que pode resultar em intervalo QT prolongado nesses animais. Em ambos os grupos, embora não tenham sido estatisticamente diferentes, as pressões arteriais diastólica, média e sistólica estavam aumentadas, principalmente nos cães com epilepsia. Na literatura, observou-se que epilepsia e hipertensão têm uma relação

bidirecional, na qual danos cerebrais resultantes do aumento da pressão arterial podem diminuir os limiares convulsivos, aumentando a incidência de epilepsia em pacientes hipertensos [5]. Flutuações na pressão arterial relacionadas a situações estressantes, como aquelas causadas pela síndrome da “hipertensão do jaleco branco” em humanos, entretanto, podem explicar o aumento da pressão arterial em ambos os grupos [15].

Embora a frequência cardíaca (FC) não tenha mudado no presente estudo, outros estudos que avaliaram alterações cardíacas em modelos experimentais de ratos com crises epiléticas induzidas observaram um aumento na FC durante o período interictal, independentemente da etiologia da crise. Esse aumento da FC, entretanto, pode ocorrer devido à má regulação autonômica o que pode levar a uma predisposição a alterações cardíacas [6].

A duração média da onda P no eletrocardiograma, que se traduz no período de despolarização e contração do miocárdio atrial, foi maior em ambos os grupos, embora a diferença não tenha sido significativa. Uma onda P prolongada indica um atraso na condução do miocárdio atrial e/ou seu feixe e/ou nó atrioventricular. Em pacientes com epilepsia, as ativações autonômicas repetidas que ocorrem durante as convulsões podem lesionar os miócitos e as estruturas cardíacas que conduzem os impulsos elétricos [16]. Além disso, pode ocorrer apoptose e deposição de tecido fibroso no músculo cardíaco, levando a um atraso no tempo de condução e, conseqüentemente, a um aumento na duração da onda P e do complexo QRS [17].

A duração do complexo QRS foi maior nos cães com epilepsia (G1), o que é sugestivo de aumento do ventrículo esquerdo e/ou bloqueio de ramo esquerdo. Todos os cães incluídos no presente estudo apresentaram aumento do intervalo ST, no entanto, a diferença foi estatisticamente maior no G1 do que nos cães controle saudáveis [10]. Em estudos com humanos epiléticos, a prevalência de alterações no eletrocardiograma foi maior no grupo epilético, incluindo alterações no intervalo ST semelhantes a este estudo [18].

Como limitação deste estudo, temos a ausência de abordagem aos pacientes epiléticos que não iniciaram tratamento com drogas antiepiléticas. Portanto, as alterações do eletrocardiograma não foram comparadas entre pacientes tratados e não tratados. Contudo as análises preliminares sugerem novas perspectivas

fisiopatológicas que podem estar envolvidas na epilepsia e que requerem melhor compreensão em cães e humanos epiléticos.

## **5 Conclusões**

Com base nos resultados acima mencionados, pode-se sugerir que a EI influencia a condução elétrica devido às repetidas ativações autonômicas que ocorrem durante as crises que culminam em lesão dos miócitos e das estruturas cardíacas, por isso são importantes estudos de acompanhamento em diferentes grupos para caracterizar melhor essas alterações. Além disso, verificou-se que cães com EI apresentavam alterações hematológicas leves, que podem ser atribuídas ao uso de monoterapia com fenobarbital e reforçaram o acompanhamento clínico de todos os pacientes.

É importante ressaltar que cães epiléticos devem ser acompanhados cardiologicamente durante toda a vida devido às complicações cardiovasculares secundárias às convulsões que podem ocorrer.

O significado prognóstico da eletrocardiografia permanece incerto e requer acompanhamento longitudinal para compreender melhor a progressão da doença cardíaca e sua correlação com a epilepsia. Como o presente estudo foi transversal, a ausência de análise ecocardiográfica prévia limitou uma análise mais robusta das alterações eletrocardiográficas relevantes.

### **Contribuições dos Autores:**

MSF, MNF e JK: Curadoria de dados. JB: Análise estatística. ACS, AFBF e SSP: Metodologia. YPAT: Administração do projeto; Redação – rascunho original. VRFS e ABPFA: Supervisão; Redação - revisão e edição. Todos os autores leram, revisaram e aprovaram o manuscrito final.

### **Reconhecimento:**

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

### **Financiamento:**

Esta pesquisa não recebeu nenhum subsídio específico de agências de financiamento dos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

## Referências

1. Berendt, M., Farquhar, R.G., Mandigers, P.J.J., Pakozdy, A., Bhatti, S.F.M, De Risio, L., Fischer, A., Long, S., Matiasek, K., Muñana, K., Patterson, E.E., Penderis, J., Platt, S., Podell, M., Potschka, H., Pumarola, M.B, Rusbridge, C., Stein, V.M., Tipold, A., and Volk, H.A. (2015) International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. *BMC Vet Res*, 11(1):182.
2. Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T.J., Jette, N., Scheffer, I.E., de Curtis, M., and Perucca, P. (2018) Epilepsy. *Nat Rev Dis Primers*, 4(1): 1–24.
3. Volk, H.A. (2015) International Veterinary Epilepsy Task Force consensus reports on epilepsy definition, classification and terminology, affected dog breeds, diagnosis, treatment, outcome measures of therapeutic trials, neuroimaging and neuropathology in companion animals. *BMC Vet Res*, 11(1): 174, s12917-015-0460–3.
4. Szczurkowska, P.J., Polonis, K., Becari, C., Hoffmann, M., Narkiewicz, K., and Chrostowska, M. (2021) Epilepsy and hypertension: The possible link for sudden unexpected death in epilepsy? *Cardiol J*, 28(2): 330–335.
5. Liu, Z., Thergarajan, P., Antonic-Baker, A., Chen, Z., Sparks, P.B., Lannin, N.A., Kwan, P., Jones, N.C., Casillas-Espinosa, P.M., Perucca, P., O'Brien, T.J., and Sivathamoo, S. (2023) Cardiac structural and functional abnormalities in epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Epilepsia Open*, 8(1): 46–59.
6. Powell, K.L., Jones, N.C., Kennard, J.T., Ng, C., Urmaliya, V., Lau, S., Tran, A., Zheng, T., Ozturk, E., Dezsí, G., Megatia, I., Delbridge, L.M., Pinault, D., Reid, C.A., White, P.J., and O'Brien, T. (2014) HCN channelopathy and cardiac electrophysiologic dysfunction in genetic and acquired rat epilepsy models. *Epilepsia*, 55(4): 609–620.
7. Löscher W. (2022) Dogs as a Natural Animal Model of Epilepsy. *Front Vet Sci*, 9:928009.
8. De Risio, L., Bhatti, S., Muñana, K., Penderis, J., Stein, V., Tipold, A., Berendt, M., Farquhar, R., Fischer, A., Long, S., Mandigers, P.J.J, Matiasek, K., Packer, R.M.A., Pakozdy, A., Patterson, N., Platt, S., Podell, M., Potschka, H., Battle, M.P., Rusbridge, C., and Volk, H.A. (2015) International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. *BMC Vet Res*, 11(1): 148.
9. Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (2008) *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Elsevier.
10. Varshney, J.P. (2020) *Electrocardiography in Veterinary Medicine*. Singapore, Springer Singapore.

11. Acierno, M.J., Brown, S., Coleman, A.E., Jepson, R.E., Papich, M., Stepien, R.L., and Syme, H.M. (2018) ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med.*, 32(6):1803–1822.
12. Hamamoto, Y., Hasegawa, D., Mizoguchi, S., Yu, Y., Wada, M., Kuwabara, T., Fujiwara-Igarashi, A., and Fujita, M. (2016) Retrospective epidemiological study of canine epilepsy in Japan using the International Veterinary Epilepsy Task Force classification 2015 (2003–2013): etiological distribution, risk factors, survival time, and lifespan. *BMC Vet Res*, 12(1): 248.
13. Bhatti, S.F.M., De Risio, L., Muñana, K., Penderis, J., Stein, V.M., Tipold, A., Berendt, M., Farquhar, R.G., Fischer, A., Long, S., Loscher, W., Mandigers, P.J.J., Matiasek, K., Pakozdy, A., Patterson, E.E., Platt, S., Podell, M., Potschka, H., Rusbridge, C., and Volk, H.A. (2015) International Veterinary Epilepsy Task Force consensus proposal: medical treatment of canine epilepsy in Europe. *BMC Vet Res*, 11(1): 176.
14. Ottka, C., Weber, C., Müller, E., and Lohi, H. (2021) Serum NMR metabolomics uncovers multiple metabolic changes in phenobarbital-treated dogs. *Metabolomics*, 17(6): 54.
15. Martin, C.A., and McGrath, B.P. (2014) White-coat hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 41(1): 22–29.
16. Scorza FA, Albuquerque M de, Arida RM, Cavalheiro EA. (2007) Cardiovascular changes and sudden death in epilepsy. [Alterações cardiovasculares e morte súbita nas epilepsias]. *Arq Neuropsiquiatr*. 65:461–6.
17. Oliveira, L.S., Santos, R.R.B., Melo, M.B., Lorangeira, D.F, and Barrouin-Melo, S.M. (2013) Computerized electrocardiography in dogs: comparative study [Eletrocardiografia computadorizada em cães: estudo comparativo]. *Pesq Vet Bras*, 33: 949–953.
18. Adane, T., Melese, M., Tesfaye, E., Ambelu, A., Getnet, M., Sinamaw, D., Esubalev, D., Yismaw, Y. (2023) Electrocardiogram Abnormalities and Associated Factors Among People with and without Epilepsy Attending the Outpatient Department at Referral Hospitals in Amhara Regional State, Northern Ethiopia, 2022: Institutional-Based Comparative Cross-Sectional Study. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 19: 1285–1302.

## Tabelas

Tabela 1. Análise estatística dos achados hematológicos, bioquímicos e urinários nos grupos de cães com epilepsia idiopática e grupo controle. A coluna do valor p apresenta o resultado do teste t ou de Welch.

Variáveis (Referência)	Grupo Controle		Grupo Epilepsia Idiopática		p-valor*
	Média (DP)	Mediana (AIQ)	Média (DP)	Mediana (AIQ)	
Hematócrito (37 -55%)	55,64 (4,59)	57,00 (6,50)	46,24 (4,83)	46,00 (6,20)	< 0.001
Hemoglobina (12,0 – 18,0 g/L)	18,14 (1,63)	17,70 (2,60)	15,72 (1,71)	15,70 (2,28)	0.004
Leucócitos Totais (6,0 – 17,0 mil/mm <sup>3</sup> )	9,82 (2,70)	9,10 (1,05)	11,66 (3,34)	10,85 (4,00)	0.179
Plaquetas (200 – 500 mil/mm <sup>3</sup> )	331,91 (94,19)	330,00 (189,00)	281,10 (154,44)	249,00 (225,75)	0.369
Proteína Plasmática Total (6,0 – 8,0 g/dL)	7,44 (0,56)	7,40 (0,70)	7,80 (1,0)	7,70 (1,25)	0.311
Ureia (21 – 59,9 mg/dL)	32,10 (7,14)	31,00 (4,75)	33,10 (12,55)	32,50 (11,0)	0.829
Creatinina (0,5 – 1,5 mg/dL)	1,12 (0,19)	1,05 (0,18)	0,91 (0,20)	0,90 (0,28)	0.029
Albumina (2,6 – 3,3 mg/dL)	3,27 (0,32)	3,30 (0,40)	3,47 (0,43)	3,50 (0,83)	0.248
Alanina Aminotransferase (21 – 102 U/L)	46,55 (19,98)	43,00 (25,50)	77,00 (79,34)	40,00 (38,50)	0.265
Fosfatase alcalina (20 – 156 U/L)	72,36 (28,29)	85,00 (22,50)	194,70 (231,79)	83,00 (57,50)	0.131
Glicose (65 – 118 mg/dL)	77,55 (13,14)	80,00 (20,00)	91,00 (3,03)	91,50 (4,00)	0.007
Lactato (0,3 – 3,2 mmol/L)	3,37 (0,96)	3,30 (1,15)	3,09 (0,67)	2,80 (0,60)	0.502
pH urinário (5,5 – 7,5)	6,44 (1,24)	7,00 (2,00)	7,00 (1,31)	7,00 (2,0)	0.382
Densidade urinária (1.015 – 1.045)	1.030 (11,11)	1.030 (13,75)	1.027,38 (10,54)	1.028,00 (20,00)	0.578

Tabela 2. Análise estatística da gasometria venosa nos grupos de cães com epilepsia idiopática e grupo controle. A coluna do valor p apresenta o resultado do teste t ou de Welch.

Variáveis (Referência)	Grupo Controle		Grupo Epilepsia Idiopática		p-valor
	Média (DP)	Mediana (AIQ)	Média (DP)	Mediana (AIQ)	
pH (7,31 - 7,42)	7,42 (0,05)	7,40 (0,02)	7,40 (0,10)	7,38 (0,07)	0.170
Bicarbonato (17 - 24 mEq/L)	20,69 (3,37)	21,1 (2,85)	22,90 (2,83)	22,39 (2,41)	0.248
Sódio (140 - 155 mmol/L)	147,27 (2,85)	147,35 (4,37)	151,50 (4,40)	150,94 (3,28)	0.096
Potássio (3,7 - 5,8 mmol/L)	3,97 (0,17)	3,99 (0,16)	4,17 (0,59)	4,14 (0,62)	0.488
Cálcio iônico (1,2 - 1,5 mmol/L)	1,29 (0,07)	1,29 (0,05)	1,30 (0,56)	1,11 (0,33)	0.166
Cloretos (105 - 120 mmol/L)	110,29 (3,03)	110,7 (3,05)	112,15 (5,95)	113,78 (5,37)	0.103
BE ecf (-3 - +3)	-3,61 (2,96)	-3,35 (2,40)	-2,10 (1,88)	-2,58 (2,21)	0.424

Tabela 3. Análise estatística do eletrocardiograma e da pressão arterial nos grupos de cães com epilepsia idiopática e grupo controle. A coluna do valor p apresenta o resultado do teste t ou de Welch.

Variáveis (Referência)	Grupo Controle		Grupo Epilepsia Idiopática		p-valor
	Média (DP)	Mediana (AIQ)	Média (DP)	Mediana (AIQ)	
Duração onda P (20 a 40 ms)	45,9 (10,71)	47 (5,5)	53,88 (6,64)	53,00 (5,25)	0.082
Amplitude onda P (0.15 - 0.40 mV)	0,22 (0,075)	0,23 (0,08)	0,17 (0,05)	0,17 (0,08)	0.106
Intervalo P-R (80 - 120 ms)	88,54 (13,29)	92 (13,29)	91,25 (22,46)	87,50 (20,50)	0.746
Complexo QRS (30- 50 ms)	48,45 (12,04)	42 (12,04)	60,13 (9,58)	57 (9,50)	0.037

Amplitude onda R (0.9 - 2.4 mV)	0,84 (0,29)	0,85 (0,38)	1,19 (0,48)	1,10 (0,53)	0.070
Intervalo ST (40 - 100 ms)	107,27 (45,91)	127 (72,5)	153,13 (14,48)	152,00 (21,75)	0.009
Intervalo QT (110 - 230 ms)	175,27 (44,38)	187 (36,5)	208,75 (15,31)	203,50 (21,25)	0.058
FC (60 – 150 bpm)	146,90 (20,88)	144,00 (13,00)	129,19 (32,77)	132 (23,38)	0.146
PAD (70 – 90 mmHg)	95,55 (9,98)	97,00 (5,75)	102,89 (21,69)	104,50 (24,63)	0.320
PAM (90 – 100 mmHg)	122,98 (14,10)	122,00 (9,25)	138,91 (30,75)	146,50 (40,00)	0.141
PAS (140 – 160 mmHg)	176,36 (25,72)	174,75 (30,50)	204,72 (43,90)	217,25 (43,00)	0.079

## APÊNDICE E – Comprovante de aceite para a publicação do Artigo 1

January 18, 2024

Dear Yolanda Paim Arruda Trevisan

I am pleased to inform you that your manuscript titled as "Influence of idiopathic epilepsy on blood pressure and electrocardiogram in dogs treated with phenobarbital" (Manuscript Number: VETWORLD-2023-10-468 is accepted for publication in the Veterinary World.

- We have received the revised manuscript as per reviewers suggestions.
- We have received the payment.
- You will receive the signed acceptance letter within 2 days by email. Please check your inbox/spam folder for the same.

Sincerely yours,

Editor-Veterinary World  
Star, Gulshan Park, NH-8A, Chandrapur Road,  
Wankaner-363621, Dist. Morbi, Gujarat,  
India  
[www.veterinaryworld.org](http://www.veterinaryworld.org)

-----

## APÊNDICE F – Qualis da Revista “Veterinary Immunology And Immunopathology” o qual foi submetido o Artigo 2

← → ↻ 🏠 [sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/veiculoPublicacaoQualis/listaConsultaGeralPeriodicos.jsf](https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/veiculoPublicacaoQualis/listaConsultaGeralPeriodicos.jsf) ☆ 📄 🗑️ 📄 📄 📄 📄

**\* Evento de Classificação:**

CLASSIFICAÇÕES DE PERÍODI x

A relação dos Cursos avaliados e reconhecidos está passando por reformulação e pode apresentar inconsistências. Alternativamente, consulte a página <https://sucupira-beta.capes.gov.br/sucupira/>

**Área de Avaliação:**

-- SELECIONE -- +

**ISSN:**

**Título:**

Veterinary Immunology and Immunopathology

**Classificação:**

-- SELECIONE -- +

**Periódicos**

ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
0165-2427	VETERINARY IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS I	A1
0165-2427	VETERINARY IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY (PRINT)	CIÊNCIAS BIOLÓGICAS III	A1
0165-2427	VETERINARY IMMUNOLOGY AND IMMUNOPATHOLOGY (PRINT)	MEDICINA I	A1

**APÊNDICE G – ARTIGO 2** – Submetido na Revista *Veterinary Immunology and Immunopathology*

### **Perfis de Citocinas Séricas de Cães com Epilepsia**

#### **Resumo**

A epilepsia idiopática (EI) é uma doença cerebral crônica que afeta cães e é diagnosticada por meio de avaliação física e exames complementares. Apesar do tratamento, alguns cães apresentam crises agrupadas e/ou *status epilepticus*, e alguns não respondem ao tratamento. Um estudo anterior que investigou o papel da inflamação na etiopatogenia de doenças do sistema nervoso central relatou níveis elevados de mediadores inflamatórios séricos em muitos distúrbios neurológicos. Estudos recentes em medicina veterinária relataram que cães com EI podem ter um componente autoimune que está correlacionado com a gravidade das crises. Portanto, no presente estudo, o perfil de citocinas de cães com EI e com epilepsia estrutural (EE) foi examinado através da medição dos níveis séricos de interleucina (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, tumor fator de necrose alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) usando citometria de fluxo e comparado com um grupo controle. Os níveis de IFN- $\gamma$  foram significativamente diferentes entre os grupos controle e SE. Os níveis das outras citocinas não diferiram significativamente entre os grupos, mas as citocinas pró-inflamatórias foram mais baixas nos cães epiléticos. O número limitado de cães pode ter reduzido o poder estatístico, mas a diminuição das citocinas periféricas pode ser explicada pela migração para outros locais, como o cérebro.

Palavras-chave: neuroinflamação; interleucina; TNF- $\alpha$ ; interferon; canino

#### **1 Introdução**

A epilepsia é a doença cerebral crônica mais comum que afeta cães, com uma prevalência de 0,6% a 0,75%, e é caracterizada por excessiva atividade neuronal hipsíncrona, paroxística e, geralmente, autolimitante que leva a alterações motoras, autonômicas e/ou comportamentais. Em cães, as crises epiléticas recorrentes são classificadas de acordo com a etiologia como epilepsia idiopática (EI), epilepsia estrutural (SE) quando relacionada a uma doença cerebral, ou crises reativas que ocorrem como uma resposta natural de um cérebro normal a uma disfunção

metabólica ou tóxica (Berendt et al., 2015; Hülsmeier et al., 2015). A EI é diagnosticada por exclusão através de avaliação física e exames complementares (De Risio et al., 2015). Apesar do tratamento, alguns cães apresentam convulsões agrupadas e/ou *status epilepticus*, e alguns não respondem ao tratamento (Packer et al., 2014).

O papel da neuroinflamação na etiopatogenia da epilepsia humana foi descrito por meio de estudos com níveis séricos de mediadores pró-inflamatórios elevados em muitos distúrbios neurológicos (Perry, 2004; Vezzani et al., 2019). As evidências sugerem uma relação entre inflamação e diferentes tipos de epilepsia humana, considerando o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE) e o estado inflamatório do cérebro epilético (De Vries et al., 2016; Vezzani et al., 2011). A análise da BHE em cães com epilepsia utilizando ressonância magnética dinâmica com contraste revelou maior disfunção no lobo piriforme daqueles com EI do que no grupo controle. Além disso, a imunohistoquímica sugeriu a presença de neuroinflamação no lobo piriforme (Hanael et al., 2019). Estudos demonstraram que a ativação da sinalização de citocinas no cérebro e a excitabilidade neuronal fornecem uma base para o envolvimento de citocinas na hiperatividade neuronal patológica, resultando em crises epiléticas (Allan e Rothwell, 2001; Amanollahi et al., 2023; Perry, 2004; Vezzani e Viviani, 2015).

Estudos comparando soro, líquido cefalorraquidiano (LCR) e tecido cerebral relataram níveis significativamente elevados de citocinas em pacientes com epilepsia. As citocinas, como interleucina (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, estavam aumentadas no soro, no LCR e no tecido cerebral; o interferon (IFN- $\gamma$ ) e o fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$  estavam elevados apenas no soro e no LCR; e IL-1 $\alpha$ , IL-7 e IL-13 estavam aumentados exclusivamente no tecido cerebral (De Vries et al., 2016).

Uma meta-análise incluindo pacientes humanos com epilepsia revelou níveis séricos aumentados de IL-6 e IL-17 e IL-1 $\beta$  e IL-10 no LCR. Este estudo envolveu pacientes com diferentes etiologias de epilepsia e revelou níveis elevados de IL-6 naqueles com epilepsia do lobo temporal. O papel da inflamação é apoiado por achados de níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias e a variação nos achados entre as amostras pode refletir o envolvimento diferente de componentes do processo inflamatório. O aumento dos níveis de citocinas no LCR pode possivelmente ser responsável pela ocorrência e recorrência de crises epiléticas, como um “ciclo

vicioso” inflamatório, no qual as crises induzem a produção de mediadores pró-inflamatórios pelo sistema nervoso central, que podem ser considerados marcadores gerais de ativação do sistema imunológico (local e sistêmico) (De Vries et al., 2016; Merbl et al., 2014).

Na medicina veterinária, estudos recentes demonstraram o papel das células T-helper 17 (Th17) na meningite-arterite responsiva a esteroides caninos (MARE), tecidos de cães com doenças idiopáticas crônicas e com EI (Freundt-Revilla et al., 2017; Knebel et al., 2022a; Knebel et al., 2022b). Esses estudos e suas respectivas descobertas sugerem que cães com EI podem ter um componente autoimune que está correlacionado com a gravidade das convulsões (Knebel et al., 2022b).

Os cães são considerados um modelo natural de epilepsia humana, em que a epilepsia não é uma doença única, mas um grupo de distúrbios caracterizados por um amplo espectro de sinais, idade de início e causas subjacentes (Löscher, 2022). Portanto, no presente estudo, os perfis de citocinas de cães com crises epiléticas recorrentes foram analisados através da dosagem de citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) e pró-inflamatórias (IL-2, IL-6, IL-10), IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) em amostras de soro com base na hipótese de que, como em estudos humanos, diferentes etiologias de epilepsia em cães apresentam perfis inflamatórios variados envolvidos em sua patogênese.

## **2 Materiais e Métodos**

### **2.1 Desenho do estudo e população**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso (CEUA-UFMT; Mato Grosso, Brasil; Número 23108.934331/2018-80) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (CEP – UFG; Goiás, Brasil; Número 3.959.384). Os proprietários dos cães incluídos no presente estudo forneceram consentimento informado por escrito.

Este estudo observacional prospectivo incluiu cães com epilepsia idiopática (EI) e epilepsia estrutural (EE). No período de junho a julho de 2023, cães oriundos do Serviço de Neurologia e Neurocirurgia Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil, foram selecionados e incluídos no presente estudo se

correspondessem pelo menos ao TIER I, ou nível de confiança I, para o diagnóstico de EI (De Risio et al., 2015). Se os cães tivessem < 6 meses ou > 6 anos de início das convulsões, e suspeitava-se de EI, a ressonância magnética (RM) e a análise do LCR eram realizadas para descartar EE. Os cães selecionados não apresentaram crises em um período inferior a 30 dias. Cães com crises epiléticas com exame neurológico interictal anormal e/ou anormalidades na ressonância magnética, LCR ou investigações laboratoriais foram alocados no grupo SE após descartar as crises reativas.

Cães saudáveis, sem crises epiléticas ou quaisquer alterações no exame físico, avaliação neurológica ou exames laboratoriais, foram selecionados como grupo controle. Estes cães foram recrutados no Departamento de Clínica Médica de Pequenos Animais da Universidade Federal de Mato Grosso em Cuiabá, Brasil.

## 2.2. Amostras de Sangue

Para a dosagem dos níveis de citocinas, as amostras de sangue foram coletadas por punção de veia cefálica ou safena, colocadas em tubos sem anticoagulantes e centrifugadas a 2.000 × g por 15 min. As amostras de soro foram armazenadas a -80°C por até 4 meses.

## 2.3. Medição dos Níveis de Citocinas usando Citometria de Fluxo

Foi utilizado o kit de citocinas comercialmente disponível (Cytometric Bead Array Human Th1/Th2/Th17, BD Bioscience, New Jersey, EUA) para medir IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- $\gamma$  e IL-17 em amostras de soro. O ensaio foi realizado de acordo com as instruções do fabricante utilizando uma curva padrão. Após a preparação, as amostras foram analisadas utilizando um citômetro de fluxo (FACSCalibur BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, EUA) e os dados foram analisados utilizando o software FCAP array versão 3.0. O kit humano foi validado utilizando um banco de dados de nucleotídeos e o grau de homologia entre citocinas humanas e caninas segundo Moreira et al. (2015).

## 2.4. Análise Estatística

Os dados foram analisados quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade de variância pelo teste de Levene. O teste t com bootstrap foi utilizado com software R e diferenças com  $p \leq 0,05$  foram consideradas estatisticamente significativas. Foram excluídos dados com valores abaixo da faixa padrão e fora da faixa de detecção do equipamento ou com valores discrepantes. Os valores de P foram calculados para as variáveis que comparam os três grupos: controle versus [vs] IE; controle vs EE; e EE vs IE.

### 3 Resultados

Vinte e oito cães foram incluídos neste estudo e divididos em 3 grupos: grupo controle (n=11); EI (n=10); e EE (n=7). O grupo IE incluiu 5 cães que atenderam o TIER I, 4 cães TIER II e 1 TIER III, dos quais 6 (60%) eram de raça pura e 4 (40%) eram mestiços. Os cães de raça pura incluíram 2 (33%) Labrador Retrievers, 1 (16,67%) Dachshund, 1 (16,67%) Golden Retriever, 1 (16,67%) Pastor belga e 1 (16,67%) Rottweiler, com média  $\pm$  DP de idade de  $8,3 \pm 3,33$  anos, sendo 7 (70%) fêmeas e 3 (30%) machos. Foram avaliados cinco cães (50%) submetidos à ressonância magnética e à análise do LCR.

Sete cães foram distribuídos no grupo EE, sendo 3 (42,8%) de raça pura e 4 (57,2%) mestiços. Havia 1 (14,28%) Bulldog Francês, 1 (14,28%) Poodle e 1 (14,28%) Dachshund, com idade média  $\pm$  DP de  $5,85 \pm 4,18$  anos, sendo 3 (42,8%) machos e 4 (57,2%) fêmeas.

O grupo controle incluiu 4 (36,4%) cães mestiços e 7 (63,6%) cães de raça pura, sendo 2 (28,5%) Spitz, 2 (28,5%) Pug, 1 (14,3%) Bulldog Francês, 1 (14,3%) Dachshund e 1 (14,3%) Chow Chow, consistindo de 7 (63,6%) machos e 4 (36,4%) fêmeas.

Os níveis médios de citocinas séricas estão resumidos na Tabela 1. Não foram detectadas diferenças significativas entre cães com EI e o grupo controle para TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IL-17. No entanto, os níveis de IFN- $\gamma$  foram significativamente diferentes entre os grupos controle e SE. No grupo SE houve aumento de IL-4 e IL-6, diferentemente do grupo IE onde houve aumento de IL-10 e TNF- $\alpha$ . IL-2, IL-17 e IFN- $\gamma$  apresentaram níveis séricos mais baixos que o grupo

controle tanto no grupo EI quanto no SE, embora nessas variáveis não tenha havido diferença estatística. Os resultados das citocinas anti-inflamatórias estão representados na Figura 1 e das citocinas pró-inflamatórias na Figura 2.

#### 4 Discussão

As crises epiléticas elevam os níveis de citocinas no cérebro e podem contribuir para lesões neuronais, além de ativar células gliais, o que pode desencadear maior liberação de citocinas (Von Rüden et al., 2023). Na medicina veterinária, diferentes processos inflamatórios estão envolvidos na epilepsia e vários estudos investigaram citocinas pró-inflamatórias incluindo IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 em cães (Merbl et al., 2014; Kostic et al., 2019).

Neste estudo, os níveis de INF- $\gamma$  no grupo controle foram estatisticamente maiores que os do grupo SE. Este resultado pode sugerir que o INF- $\gamma$  poderia ser maior no LCR de pacientes com epilepsia, conforme estudo anterior encontrado em diferentes etiologias de epilepsia (Tan et al., 2021). Um ponto que deve ser considerado na interpretação desse resultado é o tempo entre a coleta da amostra e a crise, pois estudos anteriores demonstraram que os níveis plasmáticos de IL-6, IL-17 e INF- $\gamma$  permanecem elevados por até 48 horas após a convulsão (Sinha et al., 2008; Gao et al., 2017). Todos os cães neste estudo estavam livres de crises epiléticas há pelo menos 30 dias.

Os resultados do presente estudo revelaram níveis séricos reduzidos de citocinas em cães com EI, exceto IL-10 e TNF- $\alpha$ , que foram maiores, embora sem diferença estatisticamente significativa. O TNF- $\alpha$  é uma citocina pró-inflamatória envolvida no desenvolvimento da reação inflamatória, astrogliose e aumento do número de células da micróglia (Merbl et al., 2014). A IL-10 desativa macrófagos, que por sua vez diminui a produção de citocinas pelas células T e tem efeitos anti-inflamatórios, suprimindo a produção de citocinas pró-inflamatórias (Li et al., 2011). Nas convulsões neonatais, a elevação da IL-10 no plasma após as convulsões indicou o papel protetor aprimorado com efeito anticonvulsivo ao suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias (Youn et al., 2013).

A concentração de TNF- $\alpha$  está aumentada no hipocampo de modelos de convulsão elétrica em ratos, e a injeção de TNF- $\alpha$  na amígdala pode induzir atividade epileptiforme (Balosso et al., 2013). O TNF- $\alpha$  também pode contribuir para a falha da BHE, levando a fenômenos de hiperexcitabilidade duradouros. No entanto, estudos recentes relataram níveis plasmáticos mais baixos de TNF- $\alpha$  em pacientes com epilepsia do que em controles e não exibiram diferença nos valores entre o período após as convulsões (Sinha et al., 2008; Alvim et al., 2021a). Além disso, os níveis periféricos de citocinas nem sempre refletem as concentrações teciduais encontradas em estudos experimentais (Sedger e McDermott, 2014). Essas discrepâncias destacam a complexidade do estudo da inflamação periférica. Assim, resultados heterogêneos são comuns, principalmente em estudos que envolvem pequenos grupos de pacientes (Alvim et al., 2021b).

Em pacientes com epilepsia, sabe-se que nos focos epiléticos do tecido cerebral ocorre ativação imunológica. As células gliais presentes nas proximidades dos focos epiléticos passam a produzir mediadores inflamatórios, que promovem uma cascata imunológica inflamatória (Choudhary et al., 2021). Além disso, as vias pró-inflamatórias das citocinas são ativadas na epilepsia farmacorresistente e na patogênese da epilepsia canina (Merbl et al., 2014; Kostic et al., 2019; Castañeda-Cabral et al., 2020).

No presente estudo, foram encontrados baixos níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias, como IL-2, IL-17 e IFN- $\gamma$  em pacientes epiléticos. Um estudo recente analisou citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, incluindo IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , e também relatou níveis plasmáticos mais baixos em pacientes com epilepsia de etiologias diferentes dos pacientes controle (Alvim et al., 2021a). Outro estudo envolvendo pacientes com epilepsia do lobo temporal medial analisou IL-2, IL-8 e IL-10 e relatou níveis diminuídos, o que foi explicado pela migração dessas citocinas para áreas específicas do cérebro, reduzindo assim seus níveis na periferia (Rosa et al., 2016).

Na medicina veterinária, níveis mais elevados de IL-17 foram correlacionados com a gravidade das convulsões em cães com EI e tiveram valores significativamente mais elevados em amostras de LCR e soro em comparação com um grupo de controle (Knebel et al., 2022a). Neste estudo, a IL-17 não apresentou diferença estatística entre os grupos e foi menor em cães epiléticos.

Assim, apesar do importante papel da inflamação na epileptogênese, as citocinas tendem a estar presentes em níveis baixos em amostras periféricas. Contudo, em alguns estudos foram relatados valores mais elevados, principalmente em períodos recentes após a última crise. Em um estudo realizado em 2008, IL-2, IL-4, IL-1 e IFN- $\gamma$  foram mais detectáveis no soro pós-ictal do que nos controles (Sinha et al., 2008).

O grupo SE foi composto por cães com diferentes etiologias de crises epiléticas. Este grupo incluiu cães com doenças inflamatórias, infecciosas, neoplásicas, vasculares, traumáticas, congênitas ou degenerativas. Neste grupo, houve aumento de citocinas anti-inflamatórias (IL-4) e pró-inflamatórias (IL-6 e IFN- $\gamma$ ) em comparação com os grupos EI e controle.

A IL-4 é uma citocina anti-inflamatória que tem um importante efeito regulador na resposta das células gliais. Além disso, a IL-4 regula e promove a neurogênese ao inibir o metabolismo do triptofano. A neurogênese está envolvida na epileptogênese e nos resultados da epilepsia; como tal, a IL-4 desempenha um papel importante no desenvolvimento da epilepsia, regulando as interações neurogлияis (Bhattarai et al., 2016; Chen et al., 2020).

Como o presente estudo utilizou amostras de soro de cães com epilepsia, a falta de diferença estatística entre os grupos controle e epilético pode ser atribuída à migração celular para o cérebro e/ou ao período entre a coleta e a última crise epilética. Um estudo anterior relatou que a expressão de IL-6 atingiu o pico entre 10 e 16 horas e retornou aos níveis de controle em 5 dias (Rosell et al., 2003).

A ausência de amostras obtidas dentro de 24 horas após a(s) crise(s) epilética(s) e a ausência de LCR de pacientes epiléticos são limitações deste estudo, pois não permitem a avaliação dos valores de citocinas em diferentes momentos e locais para uma melhor compreensão dos fatores epileptogênicos. Portanto, um estudo longitudinal poderá explicar melhor a variação das citocinas séricas nos diferentes períodos após a ocorrência das crises epiléticas. Apesar disso, este estudo demonstrou que cães com SE apresentam menor valor de IFN- $\gamma$ . Acreditamos também que o número limitado de cães em cada grupo pode ter reduzido o poder estatístico.

## **5 Conclusões**

Nosso estudo fornece informações sobre os mecanismos fisiopatológicos da epilepsia de diferentes origens. Cães com EE apresentam níveis séricos mais baixos de citocinas anti-inflamatórias, caracterizadas pela diminuição do IFN- $\gamma$ .

Do ponto de vista clínico, a busca por biomarcadores periféricos de citocinas pode ajudar a desenvolver novos tratamentos que possam atuar nas vias inflamatórias da epilepsia. No entanto, apesar de muitos anos de investigação, as citocinas periféricas não têm sido correlacionadas de forma consistente, o que permitiria a identificação de novos alvos terapêuticos.

A dosagem periférica de citocinas é uma estratégia indireta para avaliação da epileptogênese, é de fácil acesso e pode auxiliar no manejo de pacientes com epilepsia. Assim, estudos comparativos investigando LCR, soro e tecido cerebral podem fornecer novas perspectivas para o tratamento de pacientes veterinários.

## **Declaração de Conflitos de Interesse**

Nenhum.

## **Agradecimentos**

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

## **Financiamento**

Esta pesquisa não recebeu nenhum subsídio específico de agências de financiamento dos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

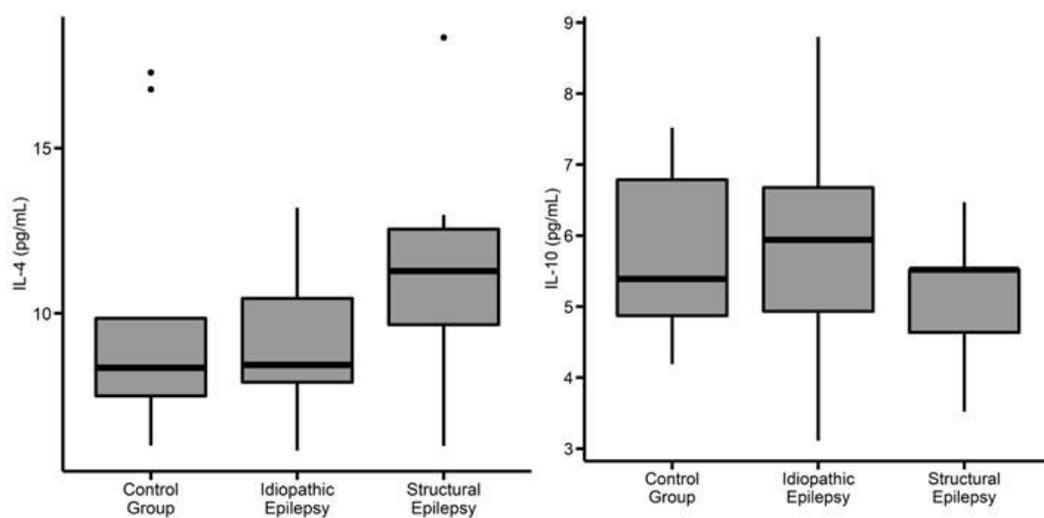
## Tabela

Tabela 1: Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) de citocinas no soro de cães epiléticos (pg/mL).

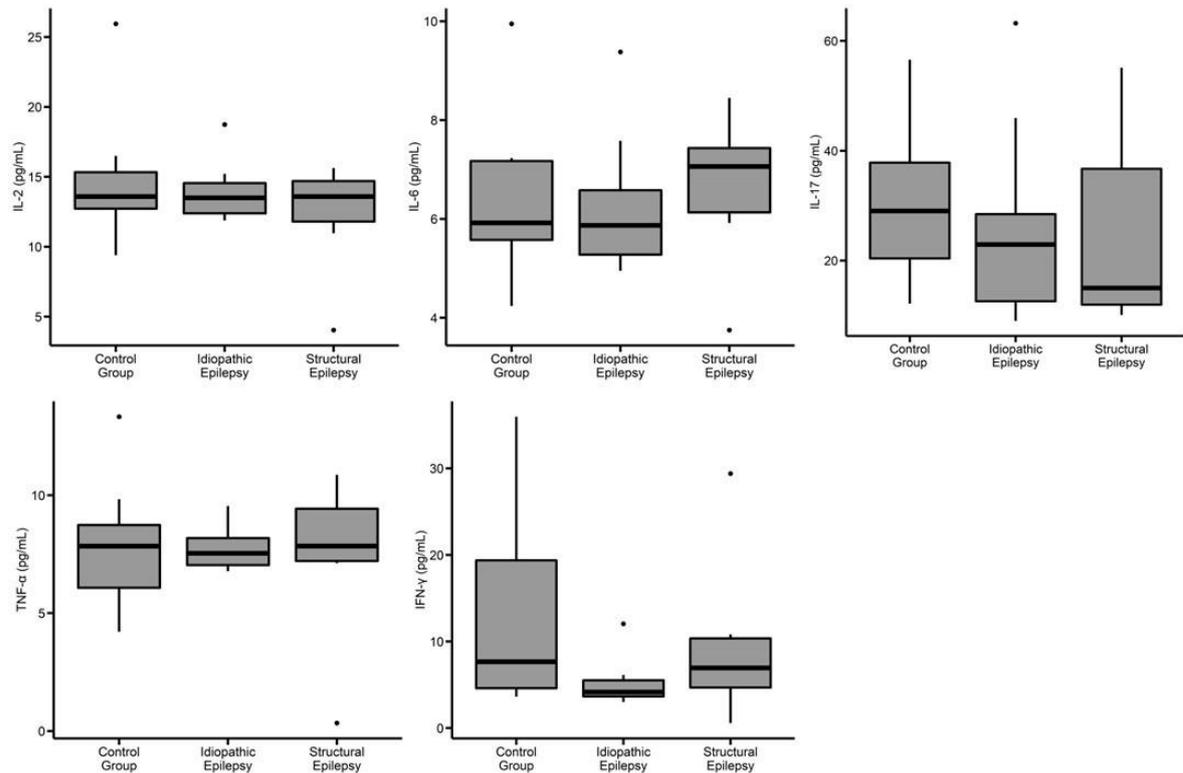
Variáveis	Média $\pm$ Desvio padrão			Valor-p		
	Controle	Idiopático	Estrutural	P1	P2	P3
<b>IL-2</b>	14.6 $\pm$ 4.24	13.9 $\pm$ 2.05	12.32 $\pm$ 3.97	0.230	0.600	0.238
<b>IL-4</b>	9.88 $\pm$ 3.94	9.04 $\pm$ 2.08	11.43 $\pm$ 3.86	0.430	0.504	0.146
<b>IL-10</b>	5.78 $\pm$ 1.19	5.84 $\pm$ 1.66	5.14 $\pm$ 1.04	0.248	0.964	0.296
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	13.09 $\pm$ 12.01	5.13 $\pm$ 2.62	9.57 $\pm$ 9.39	0.534	0.010*	0.134
<b>IL-6</b>	6.41 $\pm$ 1.53	6.23 $\pm$ 1.37	6.61 $\pm$ 1.63	0.880	0.778	0.670
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	7.67 $\pm$ 2.52	7.71 $\pm$ 0.87	7.30 $\pm$ 3.69	0.734	0.948	0.710
<b>IL-17</b>	29.71 $\pm$ 13.42	25.73 $\pm$ 17.37	25.37 $\pm$ 17.86	0.598	0.608	0.988

IL-2: interleucina 2; IL-4: interleucina 4; IL-10: interleucina 10; IFN- $\gamma$ : interferon gama; IL-6: interleucina 6; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; IL-17: interleucina 17; P1: significância entre controle e idiopático; P2: significância entre controle e estrutural; P3: significância entre idiopática e estrutural. \* =  $p < 0,05$ .

## Figuras



**Figure 1:** Valores séricos das citocinas anti-inflamatórias. A linha do centro indica o valor da mediana, as caixas indicam os percentis e as linhas indicam os valores máximo e mínimo. O ponto preto indica os valores discrepantes. Valores em pg/mL.



**Figure 2:** Valores séricos das citocinas pró-inflamatórias. A linha do centro indica o valor da mediana, as caixas indicam os percentis e as linhas indicam os valores mínimo e máximo. O ponto preto indica os valores discrepantes. Valores em pg/ml.

## Referências

ACIERNO, M. J. et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1803–1822, nov. 2018.

AIELLO, G. et al. Epilepsia em cães: 66 casos (2005-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 347–351, abr. 2012.

ALLAN, S. M.; ROTHWELL, N. J. Cytokines and acute neurodegeneration. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 2, n. 10, p. 734–744, out. 2001.

ALVIM, M. K. M. et al. Inflammatory and neurotrophic factor plasma levels are related to epilepsy independently of etiology. **Epilepsia**, v. 62, n. 10, p. 2385–2394, out. 2021.

AN, J. et al. The role of interleukin-17 in epilepsy. **Epilepsy Research**, v. 186, p. 107001, out. 2022.

BARCO, N. M.; LINARTEVICH, V. F. Efeito dos anti-inflamatorios nas convulsões induzidas por pentilenotetrazol no modelo de Kindling: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e538101321581, 21 out. 2021.

BERENDT, M. et al. International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 182, s12917- 015- 0461–2, dez. 2015.

BHATTI, S. F. M. et al. International Veterinary Epilepsy Task Force consensus proposal: medical treatment of canine epilepsy in Europe. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 176, dez. 2015.

BLADES GOLUBOVIC, S.; ROSSMEISL, J. H. Status epilepticus in dogs and cats, part 1: etiopathogenesis, epidemiology, and diagnosis: Status epilepticus: etiopathogenesis and diagnosis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 27, n. 3, p. 278–287, maio 2017.

BUTTS, C. L.; STERNBERG, E. M. Neuroendocrine factors alter host defense by modulating immune function. **Cellular Immunology**, v. 252, n. 1–2, p. 7–15, 2008.

CAMPBELL, I. **Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6**. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.90.21.10061>>. Acesso em: 31 maio. 2023.

CHARALAMBOUS, M. et al. Antiepileptic drugs' tolerability and safety – a systematic review and meta-analysis of adverse effects in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 12, p. 79, 21 maio 2016.

CHARALAMBOUS, M. et al. Defining and overcoming the therapeutic obstacles in canine refractory status epilepticus. **The Veterinary Journal**, v. 283–284, p. 105828, 1 maio 2022.

CHARALAMBOUS, M. et al. ACVIM Consensus Statement on the management of status epilepticus and cluster seizures in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, p. jvim.16928, 3 nov. 2023.

CHARALAMBOUS, M.; BRODBELT, D.; VOLK, H. A. Treatment in canine epilepsy--a systematic review. **BMC veterinary research**, v. 10, p. 257, 22 out. 2014.

CHEN, L. et al. Interleukin 4 Affects Epilepsy by Regulating Glial Cells: Potential and Possible Mechanism. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 13, p. 554547, 4 set. 2020.

CHOI, J.; KOH, S. Role of Brain Inflammation in Epileptogenesis. **Yonsei Medical Journal**, v. 49, n. 1, p. 1–18, 29 fev. 2008.

CHOUDHARY, A. et al. A Prospective Study of Novel Therapeutic Targets Interleukin 6, Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , and Interferon  $\gamma$  as Predictive Biomarkers for the Development of Posttraumatic Epilepsy. **World Neurosurgery: X**, v. 12, p. 100107, out. 2021.

COSTAGLIOLA, G. et al. The brain–heart interaction in epilepsy: implications for diagnosis, therapy, and SUDEP prevention. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, v. 8, n. 7, p. 1557–1568, 2021.

DA SILVA, B. J. M. et al. Selective effects of Euterpe oleracea (açai) on Leishmania (Leishmania) amazonensis and Leishmania infantum. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 1613–1621, jan. 2018.

DAI, Q. et al. Interleukin-17A-mediated alleviation of cortical astrocyte ischemic injuries affected the neurological outcome of mice with ischemic stroke. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 7, p. 11498–11509, jul. 2019.

DE LIMA ROSA, G. et al. Effects of prednisolone on behavioral and inflammatory profile in animal model of PTZ-induced seizure. **Neuroscience Letters**, v. 743, p. 135560, 19 jan. 2021.

DE RISIO, L. et al. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 148, dez. 2015.

DE VRIES, E. E. et al. Inflammatory mediators in human epilepsy: A systematic review and meta-analysis. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 63, p. 177–190, abr. 2016.

FREDSØ, N. et al. A prospective observational longitudinal study of new-onset seizures and newly diagnosed epilepsy in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 13, p. 54, 16 fev. 2017.

FREUNDT-REVILLA, J. et al. Th17-skewed immune response and cluster of differentiation 40 ligand expression in canine steroid-responsive meningitis-arteritis, a large animal model for neutrophilic meningitis. **Journal of Neuroinflammation**, v. 14, n. 1, p. 20, 23 jan. 2017.

GALIC, M. A.; RIAZI, K.; PITTMAN, Q. J. Cytokines and brain excitability. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 33, n. 1, p. 116–125, jan. 2012.

GOLDBERG, E. M.; COULTER, D. A. Mechanisms of epileptogenesis: a convergence on neural circuit dysfunction. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 14, n. 5, p. 337–349, maio 2013.

GONÇALVES, R. et al. Effect of seizures on cerebrospinal fluid analysis in dogs with idiopathic epilepsy. **Veterinary Record**, v. 166, n. 16, p. 497–498, abr. 2010.

GUERREIRO, C. A. M. História do surgimento e desenvolvimento das drogas antiepilépticas. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 12, n. 1 suppl 1, p. 18–21, mar. 2006.

GUZZO, E. F. M. et al. Effect of dexamethasone on seizures and inflammatory profile induced by Kindling Seizure Model. **Journal of Neuroimmunology**, v. 325, p. 92–98, 15 dez. 2018.

HAMAMOTO, Y. et al. Retrospective epidemiological study of canine epilepsy in Japan using the International Veterinary Epilepsy Task Force classification 2015 (2003–2013): etiological distribution, risk factors, survival time, and lifespan. **BMC Veterinary Research**, v. 12, n. 1, p. 248, dez. 2016.

HE, J.-J. et al. Increased expression of interleukin 17 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. **Journal of Neuroimmunology**, v. 298, p. 153–159, set. 2016.

HÜLSMEYER, V.-I. et al. International Veterinary Epilepsy Task Force’s current understanding of idiopathic epilepsy of genetic or suspected genetic origin in purebred dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 1, p. 175, dez. 2015.

JIANG, N. M. et al. The Impact of Systemic Inflammation on Neurodevelopment. **Trends in Molecular Medicine**, v. 24, n. 9, p. 794–804, 1 set. 2018.

JUNIOR, F. C. DE M. R. et al. Trastornos del aprendizaje y epilepsia. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e1910313039–e1910313039, 3 mar. 2021.

KACULINI, C. M.; TATE-LOONEY, A. J.; SEIFI, A. The History of Epilepsy: From Ancient Mystery to Modern Misconception. **Cureus**, 17 mar. 2021.

KEARSLEY-FLEET, L. et al. Prevalence and risk factors for canine epilepsy of unknown origin in the UK. **Veterinary Record**, v. 172, n. 13, p. 338–338, 2013.

KNEBEL, A. et al. Measurement of canine Th17 cells by flow cytometry. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 243, p. 110366, 1 jan. 2022a.

KNEBEL, A. et al. Th17 cell-mediated immune response in a subpopulation of dogs with idiopathic epilepsy. **PLOS ONE**, v. 17, n. 1, p. e0262285, 13 jan. 2022b.

KOSTIC, M. et al. IL-17 signalling in astrocytes promotes glutamate excitotoxicity: Indications for the link between inflammatory and neurodegenerative events in multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, v. 11, p. 12–17, jan. 2017.

LI, G. et al. Cytokines and epilepsy. **Seizure**, v. 20, n. 3, p. 249–256, abr. 2011.

LI, T. et al. Intraperitoneal injection of IL-4/IFN- $\gamma$  modulates the proportions of microglial phenotypes and improves epilepsy outcomes in a pilocarpine model of acquired epilepsy. **Brain Research**, v. 1657, p. 120–129, fev. 2017.

LIMA, J.; BAHRIARIAS, M. V. Acompanhamento dos casos de epilepsia canina atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina. **Medvop - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 10, p. 134–140, 1 nov. 2012.

LIU, Z. et al. IL-17A exacerbates neuroinflammation and neurodegeneration by activating microglia in rodent models of Parkinson's disease. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 81, p. 630–645, out. 2019.

MASHKARYAN, V. et al. Type 1 Interleukin-4 Signaling Obliterates Mouse Astroglia in vivo but Not in vitro. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, 2020.

MERBL, Y. et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-6 concentrations in cerebrospinal fluid of dogs after seizures. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 6, p. 1775–1781, 2014.

MOREIRA, M. L. et al. Cross-reactivity of commercially available anti-human monoclonal antibodies with canine cytokines: establishment of a reliable panel to detect the functional profile of peripheral blood lymphocytes by intracytoplasmic staining. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, n. 1, p. 51, 11 set. 2015.

MUÑANA, K. R.; NETTIFEE-OSBORNE, J. A.; PAPICH, M. G. Effect of chronic administration of phenobarbital, or bromide, on pharmacokinetics of levetiracetam in dogs with epilepsy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 29, n. 2, p. 614–619, 2015.

NORONA, F. E.; VOLK, H. A. Investigating the efficacy of medical management for canine structural epilepsy. **Veterinary Record**, v. 187, n. 8, out. 2020.

- PACKER, R. M. A.; VOLK, H. A. Epilepsy beyond seizures: a review of the impact of epilepsy and its comorbidities on health-related quality of life in dogs. **Veterinary Record**, v. 177, n. 12, p. 306–315, set. 2015.
- PAPADIMITRIOU, C. et al. 3D Culture Method for Alzheimer's Disease Modeling Reveals Interleukin-4 Rescues A $\beta$ 42-Induced Loss of Human Neural Stem Cell Plasticity. **Developmental Cell**, v. 46, n. 1, p. 85–101.e8, jul. 2018.
- PATTERSON, E. (NED) E. Epileptogenesis and Companion Animals. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 28, n. 2, p. 42–45, maio 2013.
- PODELL, M. et al. 2015 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Seizure Management in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 30, n. 2, p. 477–490, 2016.
- POPKO, B. et al. The effects of interferon- $\gamma$  on the central nervous system. **Molecular Neurobiology**, v. 14, n. 1, p. 19–35, 1997.
- POWELL, K. L. et al. HCN channelopathy and cardiac electrophysiologic dysfunction in genetic and acquired rat epilepsy models. **Epilepsia**, v. 55, n. 4, p. 609–620, abr. 2014.
- RANA, A.; MUSTO, A. E. The role of inflammation in the development of epilepsy. **Journal of Neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 144, 15 maio 2018.
- ROBEL, S. et al. Reactive astrogliosis causes the development of spontaneous seizures. **The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience**, v. 35, n. 8, p. 3330–3345, 25 fev. 2015.
- ROZENTAL, A. J. et al. The efficacy and safety of cannabidiol as adjunct treatment for drug-resistant idiopathic epilepsy in 51 dogs: A double-blinded crossover study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 37, n. 6, p. 2291–2300, nov. 2023.
- RYU, H. J. et al. The protective effects of interleukin-18 and interferon- $\gamma$  on neuronal damages in the rat hippocampus following status epilepticus. **Neuroscience**, v. 170, n. 3, p. 711–721, out. 2010.
- SANDERS, S. Seizures in Dogs and Cats. 2015.
- SCHERER, E. F. et al. Cytokine modulation of human blood viscosity from vivax malaria patients. **Acta Tropica**, v. 158, p. 139–147, 1 jun. 2016.
- SCHWARTZ, M. et al. Canine intracranial neoplasia: clinical risk factors for development of epileptic seizures. **The Journal of Small Animal Practice**, v. 52, n. 12, p. 632–637, dez. 2011.
- SCORZA, C. A. et al. Sudden unexpected death in dogs with epilepsy: Risks versus benefits of omega-3 fatty acid supplementation for man's best friend. **Epilepsy & Behavior**, v. 27, n. 3, p. 508–509, jun. 2013.
- SCORZA, C. A. et al. Labrador retrievers and SUDEP: a simple theory that may have important applications. **Epilepsy & Behavior: E&B**, v. 32, p. 27–28, mar. 2014.
- SCORZA, F. A. et al. Alterações cardiovasculares e morte súbita nas epilepsias. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 65, p. 461–466, jun. 2007.

SCORZA, F. A. Sudden unexpected death in epilepsy and the song of science. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 68, n. 6, p. 835–836, dez. 2010.

SHI, H. et al. IL-17A induces autophagy and promotes microglial neuroinflammation through ATG5 and ATG7 in intracerebral hemorrhage. **Journal of Neuroimmunology**, v. 323, p. 143–151, out. 2018.

SOFRONIEW, M. V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16, n. 5, p. 249–263, maio 2015.

SZCZURKOWSKA, P. J. et al. Epilepsy and hypertension: The possible link for sudden unexpected death in epilepsy? **Cardiology Journal**, v. 28, n. 2, p. 330–335, 2021.

VAN MEERVENNE, S. A. E. et al. The influence of sex hormones on seizures in dogs and humans. **The Veterinary Journal**, v. 201, n. 1, p. 15–20, jul. 2014.

VARSHNEY, J. P. **Electrocardiography in Veterinary Medicine**. Singapore: Springer Singapore, 2020.

VEZZANI, A. et al. The role of inflammation in epilepsy. **Nature Reviews. Neurology**, v. 7, n. 1, p. 31–40, jan. 2011.

VEZZANI, A.; BALOSSO, S.; RAVIZZA, T. Neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarkers in epilepsy. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 8, p. 459–472, ago. 2019.

VIANNA, L. F. C. G.; VAHIA, K. B. Perfil clínico e epidemiológico de cães epiléticos atendidos no hospital veterinário da UFRRJ. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 14, n. 1, p. 51–55, 2007.

VIEIRA, V. et al. Effect of diclofenac sodium on seizures and inflammatory profile induced by kindling seizure model. **Epilepsy Research**, v. 127, p. 107–113, 1 nov. 2016.

XU, D. et al. Peripherally derived T regulatory and  $\gamma\delta$  T cells have opposing roles in the pathogenesis of intractable pediatric epilepsy. **Journal of Experimental Medicine**, v. 215, n. 4, p. 1169–1186, 27 fev. 2018.

YOUN, Y.; SUNG, I. K.; LEE, I. G. The role of cytokines in seizures: interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-1Ra, IL-8, and IL-10. **Korean Journal of Pediatrics**, v. 56, n. 7, p. 271, 2013.

ZHANG, H. et al. Matrix Metalloproteinases and Neurotrauma: Evolving Roles in Injury and Reparative Processes. **The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry**, v. 16, n. 2, p. 156–170, abr. 2010.

## APÊNDICE H – Comprovantes de Submissão do Artigo 2

em Veterinary Immunology and Immunopathology						
<a href="#">Home</a> <a href="#">Main Menu</a> <a href="#">Submit a Manuscript</a> <a href="#">About</a> <a href="#">Help</a>						
← Submissions Being Processed for Author ⓘ						
Page: 1 of 1 (1 total submissions)						Results per page 10
Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status	
<a href="#">View Submission</a> <a href="#">Send E-mail</a>	VETIMM-D-24-00019	Serum cytokine profiles of dogs with epilepsy	Feb 05, 2024	Feb 05, 2024	Submitted to Journal	
Page: 1 of 1 (1 total submissions)						Results per page 10

V Veterinary Immunology and Immunopathology  
 Para: Você **Confirm co-authorship of submission to Veterinary Immunology and Immunopathology**

Seg, 05/02/2024 14:42

\*This is an automated message.\*

Journal: Veterinary Immunology and Immunopathology  
 Title: Serum cytokine profiles of dogs with epilepsy  
 Corresponding Author: Dra Valéria Régia Franco Sousa  
 Co-Authors: Yolanda Paim Arruda Trevisan; Danny Laura Gomes Fagundes-Triches; Saulo Pereira Cardoso; Suelen Dalegrave; Luana de Sousa Ribeiro; Bruno Benetti Junta Torres; Juliano Bortolini  
 Manuscript Number: **VETIMM-D-24-00019**

Dear Ms Yolanda Paim Arruda Trevisan,

The corresponding author Dra Valéria Régia Franco Sousa has listed you as a contributing author of the following submission via Elsevier's online submission system for Veterinary Immunology and Immunopathology.

Submission Title: Serum cytokine profiles of dogs with epilepsy

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

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

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

If you did not co-author this submission, please contact the corresponding author directly at [valeriaregia27@gmail.com](mailto:valeriaregia27@gmail.com).

Thank you,  
 Veterinary Immunology and Immunopathology