

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
DOUTORADO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

DANIELLE IRIGOYEN DA COSTA

**FUNÇÕES DE MEMÓRIA EM PACIENTES COM EPILEPSIA REFRATÁRIA DO
LOBO TEMPORAL ANTES E APÓS TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS-
TRONCO DA MEDULA ÓSSEA**

Porto Alegre

2012

DANIELLE IRIGOYEN DA COSTA

**FUNÇÕES DE MEMÓRIA EM PACIENTES COM EPILEPSIA REFRACTÁRIA DO
LOBO TEMPORAL ANTES E APÓS TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS-
TRONCO DA MEDULA ÓSSEA**

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde, área de concentração Neurociências.

Orientadora: Professora Dra. Mirna Wetters Portuguese

Porto Alegre

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

C837f Costa, Danielle Irigoyen da
Funções de memória em pacientes com epilepsia refratária do lobo temporal antes e apos transplante autólogo de células tronco da medula óssea / Danelle Irigoyen da Costa. Porto Alegre: PUCRS, 2012.

102 f.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Mirna Wetters Portuguez.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Mestrado em Medicina e Ciências da Saúde. Área de Concentração: Neurociências.

1. EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL. 2. CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA/TRANSPLANTE. 3. ENSAIOS CLÍNICOS COMO ASSUNTO. 4. MEMÓRIA. I. Portuguez, Mirna Wetters. II. Título.

C.D.D. 616.853
C.D.U. 616.853(043.2)
N.L.M. WL385

Vanessa Pinent
CRB10/1297

*Aos que compartilharam os meus ideais, incentivando-me a prosseguir na jornada,
não importando os obstáculos.*

Aos que na angústia, acolheram-me ou silenciosamente, acompanharam-me.

Aos que, pelo amor, se fizeram presentes.

Aos que, mesmo distantes, me encheram de força.

Aos que, através do exemplo, lições e lembranças me deram direção.

Aos que amo.

A vocês dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Mirna Wetters Portuguez que oportunizou meu início “nas neurociências”, acompanhou minha trajetória profissional e incentivou meu aprendizado. Meu carinho, reconhecimento e gratidão. “*O verdadeiro mestre se alegra ao perceber que o caminho iniciado por ele está sendo trilhado por muitos, ao ver o crescimento daqueles que formou*”.

À minha amiga e sócia, Sabine Possa Marroni, pelo apoio, compreensão, amizade e parceria constantes. Por ter sido incansável em todas as etapas deste trabalho e ter “segurado” outros projetos profissionais nossos na minha ausência. Obrigada por ser esta grande amiga sempre!

Às colegas da equipe de Neuropsicologia, meu reconhecimento pelo apoio, em especial à colega e amiga Luciana S. Azambuja pela amizade e Adriana Pereira pelo auxílio na fase inicial deste trabalho.

À amiga e colega Vanessa Pagliarini pelo intenso apoio e torcida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da PUCRS, pela oportunidade para desenvolver minha pesquisa em um pós-graduação de qualidade e reconhecimento nacional.

À Capes pela bolsa de doutorado, possibilitando meu aprimoramento.

À equipe de pesquisa: Dr. Bernardo Garicochea, Dra. Carolina Machado Torres, Técnico de laboratório Daniel Marinowic, Dra. Denise Cantarelli Machado, Dr. Eduardo Floriani Raupp, Dr. Jaderson Costa da Costa, Dr. Lucas Porcello Schilling, Técnica Maria Dall Pozzo, Dra. Maria Julia Carrion, Dra. Mirna Portuguez, Coordenadora Administrativa em Pesquisa Clínica Nurma Ramos Pereira, Técnico de laboratório Ricardo Vaz Breda e bolsista Silvia Lardi, pela participação de todos durante o projeto.

Ao Prof. Dr. Mário Wagner, obrigada pelo aprendizado e ensinamentos em Estatística.

Aos pacientes com epilepsia acompanhados nos HSL-PUCRS.

Aos meus pais que além da vida ofereceram-me os instrumentos e instruções

fundamentais para vivê-la. Ao meu pai Jaderson Costa da Costa por ter me ensinado a arte de pensar o trabalho acadêmico com rigor, paixão e disciplina. À minha mãe Maria Cláudia Irigoyen, por sua paciência infinita, sua crença absoluta em minha capacidade de realização, sua presença incondicional (“*onipresença*”) e conhecimento. Agradeço a vocês, de forma muito carinhosa, pois estes foram, indubitavelmente, elementos essenciais para esta Tese de Doutorado.

Ao meu amor Cláudio Rotta por existir, por resistir e por saber tanto de mim quanto eu. Obrigada pelo apoio e incentivo valiosos ao longo da jornada. Obrigada pelo amor e sabedoria.

Aos meus irmãos Alessandro Irigoyen da Costa e Frederico Guilherme Irigoyen da Costa, seus pares Flávia de Medeiros Durand e Adriana Vasques, ao meu sobrinho Felipe e ao meu afilhado amado Francisco Durand da Costa, minha alegria de viver.

À minha “sempre” e “para sempre” Vó Nelly, que se mantém viva dentro de mim.

Agradecer a todos que ajudaram a construir este trabalho não é tarefa fácil. Então, a todos que, de uma forma ou de outra, contribuíram com sua amizade e com sugestões efetivas para esta realização, meu reconhecimento.

RESUMO

Introdução: A epilepsia, enquanto condição crônica de alta prevalência tem impacto importante no funcionamento psíquico/cognitivo e nas relações familiares e sociais da pessoa acometida. Entre as epilepsias refratárias, a epilepsia do lobo temporal (ELT) é a mais freqüente em adultos. Estudos sobre lesões no hipocampo e seus efeitos, constataram que pacientes com ELT apresentam déficits de memória verbal e visual, dependendo do hemisfério acometido. A refratariedade ao tratamento clínico, leva à indicação cirúrgica, visto que até o momento, não estão disponíveis outras alternativas terapêuticas. Neste contexto, se vislumbra uma nova possibilidade de tratamento para as epilepsias refratárias, utilizando-se células-tronco (CT). Estas apresentam grande capacidade de proliferação e auto-renovação e capacidade de responder a estímulos externos dando origem a diferentes linhagens celulares mais especializadas. **Objetivos:** Avaliar o efeito do transplante autólogo de células-tronco da medula óssea (CTMO) nas funções de memória de pacientes com epilepsia refratária do lobo temporal mesial. **Pacientes e Métodos:** A seleção dos pacientes foi realizada no Ambulatório de Pesquisa Clínica em Epilepsia do Hospital São Lucas da PUCRS. Os 13 pacientes que se submeteram à terapia, foram avaliados antes e após o tratamento com células-tronco (3 meses e 6 meses depois). Os testes utilizados para avaliação neuropsicológica: Escala de Memória Wechsler - revisada (WMS-R), Teste de Aprendizado de Memória Verbal de Rey (RAVLT) e Figura Complexa de Taylor. **Resultados e Conclusões:** Os resultados indicam um aumento significativo nos escores neuropsicológicos ao longo do tempo. Em seis dos sete testes utilizados, o acréscimo no escore médio obtido foi significativo e, em apenas um teste (WMS R visual imediato), o acréscimo apresentou significância estatística limítrofe (entre 5% e 10%). Dada a evolução favorável dos pacientes analisados, o transplante de CTMO mostrou-se factível, seguro e com perspectivas importantes para a reabilitação e reinserção psicossocial e profissional.

Palavras-chave: Epilepsia Refratária. Epilepsia do Lobo Temporal. Células-tronco. Memória.

ABSTRACT

Introduction: As a chronic disease which is highly prevalent, epilepsy has an important impact on the affected person's psychic/cognitive functioning and their family and social relationships. Among refractory epilepsies, epilepsy of the temporal lobe (ETL) is the most frequent in adults. Studies about lesions on the hippocampus and their effects found that patients with ETL presented verbal and visual memory deficits, depending on the affected hemisphere. Refractoriness to clinical treatment leads to the recommendation of surgery when it is seen that up to that point there have not been any other therapeutic alternatives available. In this context, there is a glimpse of a new treatment possibility for refractory epilepsies, using stem cells. These present a large capacity for proliferation and auto-renovation and the capacity to respond to external stimuli and give rise to different, more specialized cell lines.

Objectives: To evaluate the effect of autologous stem cell transplants of bone marrow on the memory functions of patients with refractory epilepsy of the mesial temporal lobe. **Patients and Methods:** The selection of patients was done at the Outpatient Center for Clinical Epilepsy Research at PUCRS São Lucas Hospital [Ambulatório de Pesquisa Clínica em Epilepsia do Hospital São Lucas da PUCRS]. The 13 patients submitted themselves to therapy, and they were evaluated before and after the stem cell treatment (3 and 6 months after). The tests utilized for neuropsychological evaluation (pre and post-therapy) include the Wechsler Memory Scale – revised (WMS-R), the Rey Auditory Verbal Learning Test (RAVLT) and the Taylor Complex Figure. **Results and Conclusions:** The results indicate a significant increase in the neuropsychological scores over time. In six out of seven utilized tests, the increase of average score obtained was significant. In only one test (visual reproduction I – WMS R), the increase showed limitrofe statistical significance (between 5% and 10%). Given the favorable evolution of those patients analyzed, the stem cell transplant showed itself to be feasible, safe and with important perspectives for rehabilitation as well as psychosocial and professional reinsertion.

Keywords: Refractory epilepsy. Epilepsy of the Temporal Lobe. Stem cells. Memory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Principais categorias qualitativas da memória humana.	19
Figura 2: Plasticidade das células-tronco da medula óssea.....	30
Figura 3: Desenho do estudo.....	41
Figura 4: Ilustração representativa da punção na crista ilíaca posterior.	47
Figura 5: Punção femoral.	49
Figura 6: Desempenho dos pacientes com ELT e submetidos ao tratamento com células-tronco em testes de memória (n=13).....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prejuízo cognitivo freqüentemente relatados por pessoas com epilepsia	17
Tabela 2 - Doenças neurológicas, efeitos em modelos animais	32
Tabela 3 - Seqüência do protocolo de pesquisa	50
Tabela 4 - Dados clínicos e demográficos da amostra	52
Tabela 5 - Desempenho dos pacientes com ELT submetidos ao tratamento com células-tronco em testes de memória.....	53
Tabela 6 - Impacto de duas variáveis selecionadas sobre o desempenho em testes de memória dos pacientes submetidos ao tratamento da ELT com células-tronco...	56
Tabela 7 - Impacto de variáveis sobre o desempenho em testes de memória dos pacientes submetidos ao tratamento da ELT com células-tronco (n=13).....	58

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

µl	microlitro
µm	micrometro
AVC	Acidente vascular cerebral
BAI	Inventário de ansiedade de Beck
BDI	Inventário de depressão de Beck
CA1	Corno de Amon 1
CA2	Corno de Amon 2
CA3	Corno de Amon 3
CA4	Corno de Amon 4
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CONEP	Comitê Nacional de Ética em Pesquisa
CT	Células-tronco
CTMO	Células-tronco da medula óssea
DAE	Drogas antiepilépticas
EEG	Eletroencefalograma
EH	Esclerose hipocampal
EGF	Fator de crescimento epidérmico
ELT	Epilepsia do lobo temporal
ELTM	Epilepsia do lobo temporal mesial
EMT	Esclerose mesial temporal
FGF	Fator de crescimento de fibroblasto
ILAE	<i>International League Against Epilepsy</i>
IR	<i>Inversion Recovery</i>
KTTP	Tempo de tromboplastina
MCP	Memória de curto prazo
mL	Mililitro
MLM	Modelos lineares mistos
MLP	Memória de longo prazo
mm	Milímetros
MO	Medula óssea
MSC	Modelo sem convergência
MT	miliTesla
RAVLT	Aprendizado de memória verbal/ <i>Rey auditory verbal learning test</i>
RM	Ressonância magnética
SNC	Sistema nervoso central
STIR	<i>Supression T2 Inversion Recovery</i>
T	Tesla
T1	Sequência de aquisição de RNM
T2	Sequência de aquisição de RNM
TAS	Teste do amobarbital sódico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGO	Transaminase oxalacética
TGP	Transaminase pirúvica
TIRDA	Atividade delta rítmica intermitente temporal
TIRTA	Atividade theta rítmica intermitente temporal
TP	Tempo de protrombina
WMS-R	Escala de memória Wechsler revisada

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS	9
1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL.....	15
2.2 EPILEPSIA E FUNÇÕES NEUROPSICOLÓGICAS.....	16
2.2.1 Epilepsia do lobo temporal e funções neuropsicológicas.....	17
2.2.1.1 <i>Memória</i>	17
2.2.1.2 <i>Depressão</i>	21
2.2.1.3 <i>Ansiedade</i>	24
2.3 REGENERAÇÃO TECIDUAL.....	26
2.4 TERAPIA CELULAR E CÉLULAS-TRONCO.....	27
2.4.1 Células-tronco embrionárias.....	28
2.4.2 Células-tronco adultas.....	29
2.4.3 Células-tronco da medula óssea.....	30
2.5 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA TERAPIA CELULAR.....	34
2.5.1 Fusão celular.....	34
2.5.2 Transdiferenciação.....	35
2.5.3 Fatores parácrinos.....	36
3 OBJETIVOS	38
3.1 OBJETIVO GERAL.....	38
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
4 PACIENTES E MÉTODOS	39
4.1 DELINEAMENTO.....	39
4.2 VARIÁVEIS.....	39

4.3 PACIENTES	39
4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	40
4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	40
4.6 ASPECTOS ÉTICOS	40
4.7 FASES DO ESTUDO	41
4.7.1 Fase de seleção	42
4.7.2 Fase do transplante celular	42
4.7.3 Fase de acompanhamento clínico e laboratorial (trimestral)	42
4.8 EXAMES COMPLEMENTARES E PROCEDIMENTOS REALIZADOS	43
4.8.1 Eletrocardiograma	43
4.8.2 Coleta de sangue	43
4.8.3 Vídeo-eletroencefalograma (EEG durante 24-72hs e EEG 30minutos)	43
4.8.4 Ressonância magnética do cérebro com estudo hipocampal	44
4.8.4.1 Seqüências de aquisição	44
4.8.5 Avaliação neurológica	45
4.8.6 Avaliação neuropsicológica	45
4.8.6.1 Avaliação da memória	45
4.8.6.2 Avaliação dos sintomas de depressão	46
4.8.6.3 Avaliação dos sintomas de ansiedade.....	46
4.8.7 Coleta de medula óssea.....	46
4.8.7.1 Processamento das células mononucleares.....	47
4.8.7.2 Transplante de células-tronco de medula óssea	48
4.9 SEQÜÊNCIA DO PROTOCOLO DE PESQUISA (RESUMO)	49
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	50
5 RESULTADOS	52
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA	52
5.2 EFEITO DO TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS-TRONCO DA MEDULA ÓSSEA NAS FUNÇÕES DE MEMÓRIA DE PACIENTES COM EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL MESIAL	53
5.3 IMPACTO DE VARIÁVEIS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS SOBRE AS FUNÇÕES DE MEMÓRIA	55
5.3.1 Impacto do momento (basal, 3 e 6 meses) e freqüência das crises sobre o desempenho em testes de memória (variáveis selecionadas)	55
5.3.2 Impacto das variáveis sobre o desempenho em testes de memória.....	56

6 DISCUSSÃO	59
CONCLUSÕES	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS	76
PESPECTIVAS FUTURAS	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
ANEXOS	89
ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	90
ANEXO B - WMS-R Memória Lógica I e II	93
ANEXO C - WMS-R Reprodução Visual I e II.....	94
ANEXO D - Aprendizado de memória verbal.....	95
ANEXO E - Figura Complexa de Taylor	96
ANEXO F - Inventário de depressão de Beck	97
ANEXO G - Inventário de ansiedade de Beck	98
ANEXO H - Divulgação da pesquisa	99
ANEXO I - Resumo enviado à congresso internacional	100
ANEXO J - Resumo enviado à congresso nacional	101
ANEXO K - Prêmios	102

1 INTRODUÇÃO

Epilepsia é definida como um distúrbio cerebral caracterizado por crises epiléticas recorrentes e espontâneas (GASTAUT, 1973; ROGAWSKI e PORTER, 1990). É considerada uma condição crônica, ou um grupo de doenças (com etiologias, tratamentos e prognósticos distintos) que têm em comum crises epiléticas que ocorrem na ausência de doença tóxica-metabólica ou febril (ENGEL, 2001; ALESSIO *et al.*, 2004).

A incidência de epilepsia tem sido estimada em até 100 casos por 100000 pessoas em países em desenvolvimento (SANDER e HART, 1999). A prevalência em nosso meio é estimada em 16,5 - 20,3/1000 respectivamente para a epilepsia ativa e inativa em Porto Alegre (FERNANDES, 1993). Cerca de 10-20% dos pacientes têm suas crises inadequadamente tratadas e 30% apresentam resistência à terapia medicamentosa.

Enquanto condição crônica de alta prevalência, a epilepsia tem impacto importante no funcionamento psíquico/cognitivo e nas relações familiares e sociais da pessoa acometida. Também há de se considerar a instabilidade psicológica relacionada à imprevisibilidade das crises, os efeitos colaterais das drogas antiepiléticas (DAE), e quando refratárias ao tratamento clínico, o impacto causado pela necessidade de intervenção neurocirúrgica.

Entre as epilepsias refratárias ao tratamento clínico, aquelas com crises parciais complexas com origem no lobo temporal são as mais freqüentes em adultos (ALESSIO *et al.*, 2004; STASFROM, 2006). Estas também são conhecidas por encontrarem-se entre as mais debilitantes (GÓIS, 2010).

A presença de déficits cognitivos em indivíduos com epilepsia do lobo temporal (ELT) é amplamente reconhecida, sendo os mesmos caracterizados por prejuízos, especialmente, nas funções executivas e de memória. Estes prejuízos cognitivos estão relacionados, principalmente, à idade e à duração da patologia (HELMSTAEDTER e KURTHEN, 2001; HELMSTAEDTER *et al.*, 2003). Outro aspecto importante é que apenas 11% dos pacientes com ELT apresentam controle

total de crises com o uso de DAEs (WIESER, 2004). A refratariedade ao tratamento clínico leva à indicação cirúrgica, visto que até o momento, não estão disponíveis outras alternativas terapêuticas.

A busca de estratégias terapêuticas menos invasivas e que possibilitem o tratamento da epilepsia e a melhora das funções cognitivas a um maior número de pacientes é plenamente justificada e relevante, visto que renova as expectativas e esperanças daqueles que tem sua qualidade de vida comprometida ou sua vida em risco pela presença de uma doença com terapêutica limitada. Neste contexto, se vislumbra uma nova possibilidade de tratamento para as epilepsias refratárias, utilizando-se células-tronco (CT). Estas são conhecidas por apresentarem grande capacidade de proliferação e auto-renovação e capacidade de responder a estímulos externos e dar origem a diferentes linhagens celulares mais especializadas (PEREIRA, 2008).

Pesquisas têm sido realizadas acerca da terapia com CT, obtendo-se resultados animadores no que se refere à cura e ao tratamento de determinadas doenças (DE SOUZA *et al.*, 2003). Em se tratando da ELT, ainda não existem estudos em humanos avaliando o potencial terapêutico do transplante de células-tronco de medula óssea (CTMO) no desempenho das funções de memória. Entretanto, estudos mostraram que células-tronco injetadas em animais tratados com Pilocarpina e que apresentavam déficit de memória espacial, associado com morte de células hipocâmpais, reverteram esse déficit, promovendo não só redução da frequência de crises espontâneas recorrentes, mas também melhora cognitiva na tarefa do labirinto aquático de Morris (VENTURIN, 2008).

A possibilidade de melhorar e até mesmo recuperar a memória destes pacientes permitirá sua reinserção psicossocial e profissional, o que é de extrema relevância para a saúde como um todo, além de ampliar as possibilidades estudadas em reabilitação de doenças que acometem o funcionamento cognitivo.

Assim, avaliar o efeito do transplante autólogo de CTMO nas funções de memória em pacientes com epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM), foi a proposta do presente estudo, que integrou o projeto aprovado em 2007 pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da PUCRS, intitulado, “Transplante autólogo de células-tronco da medula óssea em pacientes com epilepsia”.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL

A palavra epilepsia foi utilizada pela primeira vez por Avicena, no século XI, originada do verbo grego *Epilambaneim*, que significa “ser tomado”, “atacado” ou “dominado”, sugerindo que uma força externa provocava a crise (YACUBIAN, 2000).

Atualmente, é definida como um distúrbio cerebral caracterizado por crises epilépticas recorrentes e espontâneas, que ocorrem na ausência de doença tóxico-metabólica ou estado febril (GASTAUT, 1973; ROGAWSKI e PORTER, 1990; ENGEL, 2001).

Uma das classificações das crises epilépticas é realizada de acordo com a área que dá origem a atividade epileptiforme. Segundo esta classificação, existem dois tipos básicos de crises, as parciais e as generalizadas. Crises parciais são aquelas que são originadas em uma parte específica do cérebro. Já as crises generalizadas, são originadas em múltiplas áreas do córtex cerebral simultaneamente (ILAE, 1989). As crises parciais podem ser simples ou complexas, de forma que é o comprometimento da consciência, presente nesta última, que as diferencia (ILAE, 1989).

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é a forma mais comum de epilepsia em adultos, reconhecida como uma síndrome altamente prevalente que atinge 40% dos indivíduos que apresentam convulsões. Usualmente é refratária às DAE e é cirurgicamente tratável (ALESSIO *et al.*, 2004; STASFROM, 2006).

A maior parte dos pacientes com ELT apresentam, à ressonância magnética (RM) do encéfalo, sinais indicativos de esclerose mesial temporal (EMT) (CENDES *et al.*, 2005). A EMT é caracterizada por esclerose hipocampal (EH), associada a um grau variável de gliose e perda neuronal na amígdala, uncus e giro parahipocampal. A EH consiste na perda neuronal e gliose marcadas no campo CA1 de Sommer e hilo hipocampal, menos visível em CA3 e CA4, com preservação relativa da estrutura de CA2 (VALÉRIO *et al.*, 1995; LUDERS, 2008).

Os critérios diagnósticos da ELT utilizados mundialmente são baseados na história clínica do paciente, avaliação neuropsicológica, achados eletrencefalográficos interictais e ictais e dados de neuroimagem por ressonância nuclear magnética (WATSON e CENDES, 1998; PALMINI *et al.*, 2001; WIESER, 2004).

O tratamento farmacológico para a ELT é baseado na utilização das DAE, seja em monoterapia ou politerapia, a depender do controle das crises e da tolerância individual a estas drogas. Apenas 11% dos pacientes com ELT apresentam controle total de crises com o uso de DAE (WIESER, 2004). A refratariedade ao tratamento clínico, leva à indicação cirúrgica. Os tipos de cirurgia mais comumente realizadas na epilepsia são a lobectomia anterior e a amígdalo-hipocampectomia temporal. A maioria dos adultos com crises parciais pode se beneficiar do tratamento cirúrgico (PAGLIOLI e CENDES, 2000; GÓIS, 2010).

Em geral, os tratamentos visam diminuir ou eliminar as crises. No entanto, estes pacientes apresentam dificuldades cognitivas e psicossociais que dificilmente serão abolidas com tratamento medicamentoso ou cirúrgico (GÓIS, 2010).

2.2 EPILEPSIA E FUNÇÕES NEUROPSICOLÓGICAS

A neuropsicologia clínica estuda a expressão comportamental das disfunções cerebrais (LEZAK, 2005). Como ramo da psicologia historicamente atrelado à neurologia, avalia, pesquisa e reabilita expressões comportamentais de disfunções cerebrais.

Ao lado dos avanços conquistados pela neurocirurgia, neurofisiologia e pelas técnicas de diagnóstico por neuroimagem, vem clarificar a enigmática relação existente entre funcionamento cerebral e funções corticais superiores (como percepção, memória, linguagem, atenção, entre outras), considerando tanto as variáveis biológicas quanto as socioculturais e psicológicas como constituintes do ser humano (DA COSTA, 2006).

A avaliação neuropsicológica, neste contexto, constitui-se da aplicação de testes específicos para mensuração dos resultados e análise qualitativa do desempenho do paciente, a fim de relacionar os prejuízos observados no funcionamento cognitivo com possíveis disfunções cerebrais (LEZAK, 2005). Esta avaliação é fundamental para o diagnóstico, tratamento e prognóstico das síndromes

epilépticas, visto que pacientes com epilepsia, freqüentemente, apresentam queixas cognitivas (HOMMET *et al.*, 2006).

Neste sentido, Dodson *et al.*, (1991), referem que pacientes com epilepsia apresentam um risco três vezes maior de apresentar prejuízos cognitivos quando comparados a indivíduos sem problemas neurológicos (DODSON *et al.*, 1991). Campos-Castelló e Campos-Soler (2004), corroboram com esta questão e complementam relatando que 25% dos pacientes com epilepsia queixam-se de declínio cognitivo depois do início das crises epiléticas (CAMPOS-CASTELLO e CAMPOS-SOLER, 2004). Algumas das queixas cognitivas comumente relatadas por pessoas com epilepsia estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Prejuízos cognitivos freqüentemente relatados por pessoas com epilepsia

PREJUÍZOS COGNITIVOS
Esquecimento do caminho em lugares conhecidos
Dificuldades na realização de cálculos mentais
Esquecimento do nome de pessoas próximas
Dificuldades para fixar um número de telefone
Dificuldade em prestar atenção em um discurso ou noticiário
Dificuldade para compreender algo que escutou ou leu
Dificuldade para aprender algo novo
Pensamento lentificado
Dificuldade no seguimento de instruções
Esquecer aniversários, compromissos e datas

Fonte: Adaptado de (BAKER *et al.*, 2009).

2.2.1 Epilepsia do lobo temporal e funções neuropsicológicas

2.2.1.1 Memória

Há funções importantes relacionadas ao lobo temporal a serem discutidas, destacando-se, as funções de memória.

Define-se memória como a aquisição, a formação, a conservação e a evocação de informações (IZQUIERDO, 2011).

Nos seres humanos, existem pelo menos dois sistemas qualitativamente diferentes de armazenamento da informação, que são normalmente designados como memória declarativa ou explícita e não-declarativa ou implícita (também chamadas de "memória de procedimento" ou "procedimental") (KANDEL *et al.*, 2000; EICHENBAUM, 2001; IZQUIERDO, 2011). De maneira ampla, a memória declarativa refere-se ao armazenamento do material que está disponível à consciência, podendo ser verbalizado (expresso mediante a linguagem), e a memória não-declarativa refere-se àquela memória não disponível à percepção consciente, pelo menos não de forma detalhada, estando associadas a comportamentos, hábitos e habilidades, conforme esquematizado na Figura 1 (KANDEL *et al.*, 2000). Incluem-se nesta segunda categoria atividades motoras complexas, como dirigir um automóvel, tocar piano ou andar de bicicleta.

Memória declarativa ou explícita (ou ainda consciente): É a memória para fatos, eventos, palavras, faces, músicas - todos os vários fragmentos do conhecimento que adquirimos durante uma vida de experiência e aprendizado. Este conhecimento pode ser "declarado", isto é, trazido à mente de uma forma verbal ou como uma imagem mental (sua evocação é consciente) (BUENO e OLIVEIRA, 2004). São fáceis de formar e de esquecer, sendo o "registro explícito" de uma experiência prévia individual (GIL, 2002). Entre elas, as relacionadas a eventos dos quais participamos ou a que assistimos são denominadas episódicas; as de conhecimentos gerais, semânticas (IZQUIERDO, 2002).

Memória não-declarativa ou implícita (ou ainda "de procedimento"): Considerada memória de procedimento ou associativa em sua natureza. É evidenciável apenas através do desempenho em tarefas diárias e apresenta acesso não-consciente ao seu conteúdo. Está associada aos comportamentos, hábitos e habilidades (KANDEL *et al.*, 2000). Estão incluídas, ainda, neste tipo de memória, as dicas de *priming*. O termo ativação (*priming*) designa a melhora da capacidade de detectar ou identificar palavras ou objetos pouco depois de ter contato com eles. A definição poderia sugerir que a noção de *priming* remete, simplesmente, à memória cotidiana, declarativa. Mas pesquisas mostraram que a ativação é um fenômeno de memória distinto e inconsciente, cuja função é aprimorar a percepção de estímulos recentes,

sem que tenhamos, necessariamente, consciência da melhora da velocidade ou eficácia da percepção (SQUIRE e KANDEL, 2005).

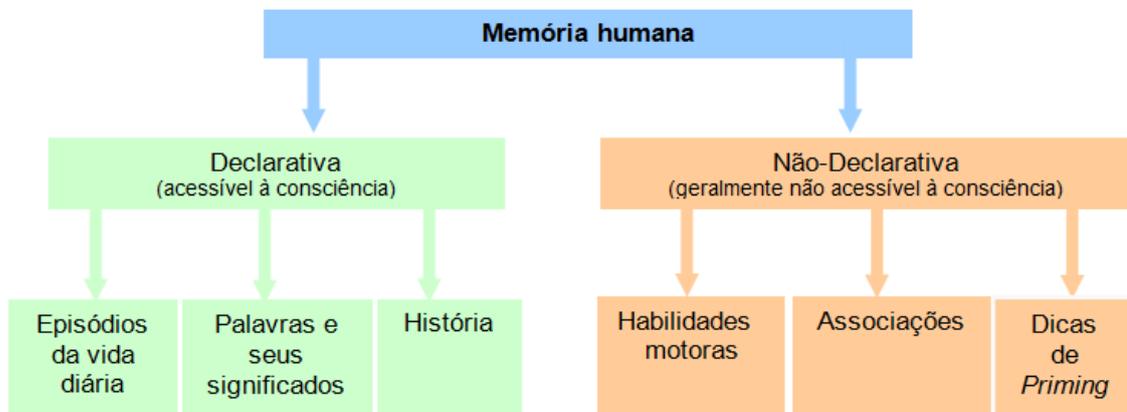


Figura 1: Principais categorias qualitativas da memória humana.

Fonte: Adaptada de (PURVES, 2005).

A memória declarativa ou memória explícita pode ser subdividida, de acordo com o tempo de armazenamento das informações em memória imediata, memória de curto prazo e memória de longo prazo. Embora os detalhes dessa divisão ainda sejam bastante debatidos por neuropsicólogos e neurobiólogos, estas três classes temporais da memória são geralmente aceitas.

Na memória de procedimentos, assim como no *priming*, não se distingue uma memória de curto prazo (IZQUIERDO, 2002).

Subdivisões, de acordo com o tempo, das memórias declarativas:

- **Memória imediata** (registro sensorial): É a capacidade rotineira de manter na consciência uma informação ou experiências em andamento, durante poucos segundos (LUNDY-EKMAN, 2004).
- **Memória de curto prazo** (MCP): É a capacidade de reter uma informação por segundos, minutos ou poucas horas, ou seja, refere-se ao sistema de memória com capacidade de poucos itens e que decai rapidamente com o tempo (BUENO e OLIVEIRA, 2004).
- **Memória de longo prazo** (MLP): Permite a conservação durável das informações, podendo durar horas, meses, décadas, ou pela vida inteira, possibilitando o aprendizado e a consolidação das informações (MAGILA, 2004). As MLP que duram

muitos meses ou anos costumam ser denominadas memórias remotas (IZQUIERDO, 2002).

É freqüente a associação da ELT às disfunções cognitivas, em especial aos distúrbios de memória de curta e de longa duração, identificáveis pela avaliação neuropsicológica. Neste sentido, convém fazer um breve relato sobre a década de 50 que se tornou um marco histórico no estudo neuropsicológico da memória.

Em 1957, o neurocirurgião Scoville descreveu o caso do paciente H.M., operado por ele em 1953, para tratamento das crises epiléticas. Após ablação bilateral do lobo temporal mesial, H.M. passou a apresentar graves prejuízos com a memória (SCOVILLE e MILNER, 1957). Milner e colaboradores escreveram vários trabalhos com os resultados dos testes de memória e de inteligência aplicados no paciente (SCOVILLE e MILNER, 1957; MILNER *et al.*, 1968), os quais confirmaram amplamente os relatos informais de familiares, médicos e pesquisadores, de que H.M. não conseguia recordar nenhum evento ocorrido após a cirurgia (amnésia anterógrada).

Desde o trabalho pioneiro de Scoville e Milner (1957), o hipocampo tem sido considerado a estrutura crítica no desencadeamento da síndrome amnésica associada ao lobo temporal mesial, pois se observa uma correlação entre o grau de prejuízo e a magnitude do comprometimento do hipocampo.

Estes achados indicam que a formação hipocampal (entendida como o conjunto que inclui o giro denteado, o corno de Amon, o subículo e o córtex entorrinal) e mais o córtex perirrinal e para-hipocampal desempenham papel de fundamental importância na memória, presumivelmente devido às conexões recíprocas entre estas estruturas e o neocórtex associativo posterior.

Pacientes com epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM) frequentemente apresentam alteração de memória, visto que o foco epileptogênico está localizado na área mais relacionada a funções de memória (hipocampo). A avaliação neuropsicológica evidencia alteração da memória verbal ou da memória não-verbal nos pacientes com comprometimento de estruturas hipocampais no hemisfério dominante ou não dominante, respectivamente (PORTUGUEZ, 1998a).

Um estudo com 100 pacientes com ELT refratária, relatou que 70 a 80% destes pacientes apresentavam comprometimento da memória verbal ou visual (HELMSTAEDTER *et al.*, 2003). A presença de prejuízos da memória é comum nos indivíduos com ELT, principalmente quando o foco epilético encontra-se em ambos

os lobos temporais ou quando se localiza no lobo temporal dominante para a linguagem (BLUME, 2003).

Em vários estudos sobre lesões no hipocampo e seus efeitos, constatou-se que os pacientes com epilepsia do lobo temporal apresentam déficits de memória verbal e memória não-verbal, dependendo do hemisfério acometido, visto que o hipocampo é a principal estrutura envolvida no armazenamento da memória declarativa. Em casos de epilepsia bitemporal, este déficit pode ser mais intenso, levando a quadros de amnésia (PORTUGUEZ, 1998a; KANDEL *et al.*, 2000; MARTIN *et al.*, 2002).

Os distúrbios da memória em pessoas com epilepsia são amplamente reconhecidos na literatura e de maneira genérica se relacionam a alterações anatômicas ou funcionais de regiões do cérebro associadas à memória ou, então, são decorrentes de distúrbios da atenção, depressão e ansiedade (menos abordadas). Esta questão permanece em debate; no entanto, é importante considerar que além da associação entre ELT e prejuízos nas funções de memória, existe uma “aproximação” dos estados emocionais ao estudo das funções de memória.

Neste sentido, o estudo da memória na ELT deve considerar, também, sintomas de depressão e ansiedade, visto que estas são as mais freqüentes comorbidades psiquiátricas relatadas no estudo das epilepsias, em especial da ELT. Em suma, na ELT evidenciam-se sintomas psiquiátricos e déficits mnemônicos, e a relação entre estas três variáveis não está bem esclarecida.

2.2.1.2 Depressão

A depressão se caracteriza por alterações do humor e da atividade motora, alterações vegetativas, do ritmo circadiano, da cognição e do comportamento (ZORZETTO FILHO, 2009). Encontra-se classificada no grupo das doenças afetivas, isto é, entre aquelas que têm uma evolução cíclica, em que se alternam períodos depressivos com fases de absoluta sanidade (MARRONI, 2006).

O termo “depressão” tem sido utilizado tanto para quantificar sintomas isolados que podem estar presentes em condições normais (como na eutimia) como para fazer referência àqueles sintomas associados à outras condições médicas (como, por exemplo, no hipotireoidismo) ou para especificar a manifestação primária

de um transtorno de humor (MARRONI, 2006).

Pesquisas realizadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) referido por Marroni (2006) revelam que indivíduos que vivem um episódio depressivo, têm 50% de probabilidade de ter um segundo episódio. Para os que passam por um segundo episódio, a probabilidade de ter um terceiro aumenta para 75%. Da mesma forma, quem chegou ao terceiro episódio, têm um risco 90% maior de sofrer uma quarta crise depressiva (MARRONI, 2006). Estima-se que cerca de 20% da população mundial enfrentará esse problema em determinada fase da vida. A doença atinge crianças, adolescentes e adultos, sendo verificada incidência duas vezes maior em mulheres na faixa dos 20 aos 40 anos.

Distúrbios psiquiátricos aparecem com maior freqüência em pessoas com epilepsia quando comparados a população geral. A prevalência de qualquer distúrbio psiquiátrico varia de 19 a 48%, com diferenças acentuadas entre os tipos de epilepsia considerados (KANDRATAVICIUS *et al.*, 2007). Entre os distúrbios psiquiátricos estudados, a depressão é vista como o aspecto mais comum associado à epilepsia e tem sido mais descrita em pacientes com crises parciais, especialmente nos casos de difícil controle (QUARANTINI *et al.*, 2009).

A associação entre depressão e epilepsia vem sendo descrita desde a antiguidade. Hipócrates (400 AC) citado por Marroni (2006), sugeriu uma relação bidirecional quando descreveu “melancólicos freqüentemente tornam-se epiléticos, e epiléticos tornam-se melancólicos: o que determina a preferência é a direção que a doença toma; se é levada em direção ao corpo, é epilepsia, se sobre a inteligência, é melancolia” (MARRONI, 2006). Como revisto recentemente, esta proposição bastante antiga tem se mostrado correta (KANNER, 2005). O autor relaciona uma série de eventos comuns entre depressão e epilepsia, como a diminuição da atividade serotoninérgica e noradrenérgica, além de anormalidades estruturais e funcionais no sistema límbico (KANDRATAVICIUS *et al.*, 2007). Poderíamos esperar que pacientes com maior quantidade de crises teriam maior freqüência de episódios de depressão, quando comparados com pacientes com menos crises (KANDRATAVICIUS *et al.*, 2007).

A prevalência de depressão é de 10 a 20% nos pacientes com crises controladas, e de 20 a 60% naqueles com epilepsia refratária (KANNER, 2005). Vários estudos mostram que a prevalência de transtornos depressivos em indivíduos com epilepsia é significativa. No entanto, os transtornos depressivos continuam

pouco diagnosticados e tratados. Uma razão importante para esta falha de percepção é a concepção, por pacientes e médicos, de que os epiléticos apresentam um processo reativo às doenças crônicas que é “normal” pelas dificuldades e obstáculos que enfrentam na vida. Esta “normalidade” determina que o paciente e seus familiares não valorizem as informações a respeito dos sintomas e, em consequência disso, não relatem as informações aos médicos (MARRONI, 2006).

2.2.1.2.1 Depressão - Aspectos cognitivos

A neuropsicologia é a ciência que estuda a relação entre o cérebro e o comportamento humano (DA COSTA, 2006). A avaliação neuropsicológica permite uma melhor compreensão dos processos de memória, percepção, aprendizagem e solução de problemas, bem como dos aspectos emocionais que podem interferir no funcionamento cognitivo, tais como depressão, ansiedade e estresse (ZORZETTO FILHO, 2009).

Muitos fatores podem afetar a cognição na epilepsia: a etiologia das crises, lesões cerebrais adquiridas, tipo de crise, idade de início, frequência de crises, duração e gravidade, disfunção fisiológica intra-ictal e interictal, dano cerebral estrutural causado por crises repetidas ou prolongadas, fatores hereditários, fatores psicossociais/afetivos e sequelas de tratamentos para epilepsia, incluindo as DAE e a cirurgia da epilepsia (DA COSTA, 2006; MARRONI, 2006).

O tipo de epilepsia está associado ao déficit apresentado. Por exemplo, a ELT pode causar prejuízos na memória e a epilepsia focal, envolvendo o hemisfério dominante para linguagem, pode induzir a dificuldade em encontrar palavras e nomeação, enquanto que certas síndromes epiléticas estão associadas com problemas graves cognitivos e comportamentais (MARRONI, 2006).

As intervenções terapêuticas na epilepsia podem diminuir os déficits cognitivos e comportamentais por proporcionarem uma parada ou diminuição das crises, mas podem também induzir efeitos na cognição e no comportamento.

As características clínicas da depressão podem ser divididas em quatro grupos de sintomas: afetivos (tristeza, angústia, vazio, entre outros); cognitivos (diminuição da concentração, dificuldades para tomar decisões, déficit de memória e pensamento lentificado); somáticos e neurovegetativos (hipersonia, insônia,

inapetência, aumento de apetite, fadiga, desânimo) ou psíquicos (idéias de culpa, de menos valia, de desesperança e de suicídio) (MARRONI, 2006).

Pacientes deprimidos com frequência se queixam de dificuldades cognitivas. No entanto, o mecanismo pelo qual a depressão causa disfunção cognitiva ainda não foi totalmente estabelecido. Duas hipóteses principais tem sido levantadas na tentativa de explicá-lo. A primeira refere que os déficits neuropsicológicos observados em portadores de depressão são originados de um comprometimento orgânico intrínseco aos efeitos neurobiológicos da própria depressão. A outra hipótese sustenta que os déficits cognitivos na depressão são consequentes de sintomas da própria depressão tais como as dificuldades em manter a atenção e a redução da motivação (ZORZETTO FILHO, 2009).

Entre as alterações cognitivas mais comuns associadas à depressão, destacam-se a dificuldade para concentrar-se, pensamentos negativos, falta de esperança, auto-acusação, autodepreciação, visão pessimista do mundo, baixa auto-estima, alterações da memória e de aprendizagem, diminuição da atenção e pensamentos suicidas (ZORZETTO FILHO, 2009).

Em relação à memória, os estudos enfatizam uma variedade de déficits cognitivos, alguns dos quais persistem inclusive na fase de remissão. Os principais estudos neuropsicológicos que relacionam déficits mnêmicos com transtorno depressivo apontam alterações nas seguintes características da memória: memória imediata, de curto prazo e de longo prazo; memória visual e verbal (memória lógica); memória de reconhecimento e aprendizado. É importante salientar que nem todos os estudos têm encontrado déficits de memória em pacientes com depressão, podendo ser explicado pela variabilidade clínica (medicações em uso, gravidade da doença, outras) e questões sócio-demográficas (ZORZETTO FILHO, 2009).

2.2.1.3 Ansiedade

A avaliação dos pacientes epiléticos e seu atendimento exige um maior conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos e das comorbidades associadas a epilepsia. Entre os transtornos psiquiátricos estudados, os transtornos de humor estão em evidência há mais tempo, com pouca informação a respeito dos transtornos de ansiedade (TORRES, 2010).

O papel das estruturas límbicas na fisiopatogenia da ansiedade,

principalmente a contribuição da amígdala na origem de mecanismos mal-adaptativos ao estresse, tem sido cada vez mais estudados. Nesse contexto, é de especial interesse o estudo de doenças que têm nas estruturas mesiais do lobo temporal uma provável origem em comum, como acontece com a ELT e os transtornos de ansiedade (TORRES, 2010).

Define-se ansiedade como um estado em que ocorrem sentimentos de temor associados a sinais somáticos de hiperatividade do sistema nervoso autônomo.

A imprevisibilidade das crises (com pouco ou nenhum tipo de proteção), somada a divulgação de sua condição (“tornar público sua doença”), aumenta a susceptibilidade individual à psicopatologia. Entre estas, a depressão e a ansiedade parecem estar entre as comorbidades mais comuns, ainda que não suficientemente estudadas, diagnosticadas e tratadas nos indivíduos com esta condição neurológica. Fatores endógenos como os genéticos, os efeitos das crises e a causa da epilepsia em si também podem influenciar a ocorrência das comorbidades psiquiátricas, além de fatores ambientais, efeitos psicossociais, de medicações e a cirurgia.

Estima-se que entre 25 e 52% dos pacientes epiléticos apresentem critérios diagnósticos para transtornos de ansiedade (KANDRATAVICIUS *et al.*, 2007). Pessoas nestas condições relatam um impacto significativo da epilepsia em termos de disfunção familiar, redução de oportunidades sociais e de lazer, aumento dos níveis de ansiedade e depressão, entre outros (MARRONI, 2006).

Outros estudos trazem como fatores de risco associados com ansiedade a depressão, para-efeitos de medicações antiepiléticas, baixo nível educacional, doença clínica crônica, sexo feminino e desemprego (MENSAH *et al.*, 2007 apud; TORRES, 2010).

Alguns fatores relacionados a epilepsia têm sido associados à ansiedade, tais como: epilepsia de lobo temporal, crises de lobo temporal direito e tratamento cirúrgico da epilepsia com redução na frequência de crises menor de 75%.

O início da epilepsia na idade adulta parece estar associado a maiores níveis de ansiedade. O risco de transtornos de ansiedade parece ser maior em epilepsias focais, principalmente na epilepsia de lobo temporal.

2.2.1.3.1 Ansiedade - Aspectos cognitivos

A aquisição e a evocação da memória são fortemente moduladas pelos sistemas que registram e respondem às emoções e aos estados de ânimo: as vias dopaminérgicas, noradrenérgicas e serotoninérgicas e colinérgicas do cérebro. Estas vias fazem sinapse com as células do hipocampo, corte entorrinal, amígdala e outras regiões cerebrais nas quais as memórias são adquiridas, armazenadas e evocadas (IZQUIERDO, 2004).

Desta forma, todas as doenças acompanhadas de alterações emocionais (ansiedade, estresse, a maioria das doenças dolorosas e/ou crônicas) ou dos estados de ânimo podem, em princípio, alterar a memória (IZQUIERDO, 2004).

A ansiedade ou o estresse, e principalmente a depressão, estão entre as doenças mais prejudiciais para o funcionamento da memória, afetando tanto a aquisição como a evocação de informações. No entanto, são escassos os estudos enfocando as relações entre epilepsia, ansiedade e memória. Góis (2010), refere que os déficits neuropsicológicos nos pacientes com ELT, particularmente, podem ser decorrentes do mau funcionamento da região afetada (com ou sem lesão), do uso da medicação por um longo período, das crises recorrentes ou mesmo de fatores psicossociais subseqüentes ao quadro de epilepsia, estando incluídos nestes últimos, os sintomas de ansiedade e depressão (GÓIS, 2010).

2.3 REGENERAÇÃO TECIDUAL

As doenças que acometem o sistema nervoso central (SNC) estão entre as de maior prevalência, mortalidade e morbidade, tanto em países desenvolvidos como nos em desenvolvimento (MENDEZ-OTERO *et al.*, 2009). No entanto, uma característica importante do SNC a ser considerada é a sua pequena capacidade de regeneração. Até o início da década de 60, acreditava-se que novos neurônios não eram formados no SNC de adultos, isto é, a ciência desconhecia a capacidade regenerativa do cérebro. Sabe-se hoje que, a despeito do que se acreditou por décadas, novos neurônios podem sim ser integrados a determinadas regiões do encéfalo adulto a partir de células progenitoras neurais ou células-tronco adultas neurais, em um processo chamado neurogênese (GROSS, 2000). Na maioria dos mamíferos, a neurogênese ocorre ao longo de toda a vida na zona subventricular,

em torno dos ventrículos laterais e na zona subgranular do giro denteado no hipocampo (MENDEZ-OTERO *et al.*, 2009).

Estas células estão presentes em número reduzido, dividem-se lentamente e podem dar origem a neurônios e glia. Embora em número reduzido e em regiões limitadas, este conhecimento abriu novas perspectivas e permitiu que novas estratégias fossem desenvolvidas no reparo de lesões do SNC. Em teoria, seria possível estimular estas células de modo a gerar mais neurônios e/ou glia, assim como poderia ser possível ativá-las de tal forma que tipos neuronais específicos pudessem ser gerados.

2.4 TERAPIA CELULAR E CÉLULAS-TRONCO

A terapia celular, por definição mínima, compreende a utilização de células com objetivos terapêuticos. Refere-se a um conjunto de métodos e abordagens tecnológicas embasadas no conhecimento de várias áreas do conhecimento, que visam à utilização de células para o tratamento de diferentes doenças.

Atualmente, um dos focos de maior interesse da terapia celular é a medicina regenerativa, que busca a substituição de células, tecidos ou órgãos, lesados ou perdidos, com o uso de células-tronco (CT).

As células-tronco têm sido consideradas muito promissoras em terapia celular. Estas são definidas como células com duas propriedades peculiares: auto-renovação e potencial de diferenciação. A auto-renovação é a capacidade que as CT têm de proliferar, gerando células idênticas à original (outras células-tronco). O potencial de diferenciação é a capacidade que as CT têm de, quando em condições favoráveis, gerar células especializadas e de diferentes tecidos. Em outras palavras, são células com capacidade de auto-replicação, isto é, com capacidade de gerar uma cópia idêntica a si mesma e com potencial de diferenciar-se em vários tecidos (CARRION *et al.*, 2010).

Levando-se em conta seu potencial de diferenciação, as CT são classificadas em três níveis diferentes: células totipotentes, pluripotentes e multipotentes (DE SOUZA *et al.*, 2003).

As células-tronco totipotentes podem originar um organismo completo, bem como qualquer tipo celular do corpo, inclusive o sistema nervoso central e periférico (GAGE, 2000). Correspondem às células do embrião recém-formado e

têm potencial para originar até mesmo as células do folheto extra-embrionário que formarão a placenta.

As pluripotentes, por sua vez, podem originar qualquer tipo de tecido sem, no entanto, originar um organismo completo, visto que não podem gerar a placenta e outros tecidos de apoio ao feto. Formam a massa celular interna do blastocisto depois dos quatro dias de vida e participam da formação de todos os tecidos do organismo (ROBEY, 2000; DE SOUZA *et al.*, 2003).

Já as CT multipotentes, possuem uma capacidade de diferenciação mais restrita, com capacidade de originar apenas um limitado número de tipos teciduais. Estas células são designadas de acordo com o órgão de que derivam e podem originar apenas células daquele órgão, possibilitando a regeneração tecidual (GAGE, 2000; DE SOUZA *et al.*, 2003). Quanto a sua natureza, as CT são denominadas de células-tronco embrionárias (CTE) e células-tronco adultas.

2.4.1 Células-tronco embrionárias

As CTE são células totipotentes dotadas de grande plasticidade, que apresentam características essenciais, como uma ilimitada capacidade de proliferação indiferenciada *in vitro*, além de formar os derivados dos três folhetos embrionários mesmo após um longo período em cultura (DE SOUZA *et al.*, 2003; DA SILVA, 2011). As CTE foram primeiramente isoladas, em 1981, da massa celular interna do blastocisto de camundongos após 3,5 dias do coito (DA SILVA, 2011). Mais de uma década depois, realizou-se o isolamento de CTE humanas de blastocistos e surgiu a criação da primeira linhagem de CTE humanas para pesquisa (THOMSON *et al.*, 1998; DA SILVA, 2011).

As CTE são caracterizadas pela auto-renovação, imortalidade e pluripotência. Por estas características, são capazes de diferenciar-se em células presentes nas três camadas germinativas embrionárias. Normalmente, a diferenciação dessas células *in vitro* necessita do crescimento das mesmas em suspensão para a formação de agregados, conhecidos como corpos embrionários que, posteriormente, diferenciam-se espontaneamente em diversos tipos celulares (DA SILVA, 2011).

Pela sua grande capacidade de diferenciação as CTE têm despertado o

interesse dos cientistas que desejam estudar o potencial terapêutico dessas células em diversas doenças. No entanto, seu uso em terapia celular e em pesquisa tem sido dificultado por questões de histocompatibilidade, segurança e ética (PEREIRA, 2008), uma vez que são obtidas de embriões gerados por fertilização *in vitro* que seriam descartados (DA SILVA, 2011).

2.4.2 Células-tronco adultas

As células-tronco adultas são células multipotentes, conhecidas também como CT somáticas ou CT não-embrionárias.

São melhor denominadas como somáticas por encontrarem-se na intimidade dos tecidos do corpo (soma). Acreditava-se que estas células teriam opções mais restritas de diferenciação, podendo selecionar um programa de diferenciação dentre apenas poucas vias possíveis, ou seja, já comprometidas com determinada linhagem celular (não seriam pluripotentes à exemplo das embrionárias). Atualmente discute-se muito esta questão, visto que evidências apontam que estas células poderiam transdiferenciar-se em células com origem germinativa distinta. Exemplos disto são achados de Mezey *et al.*, os quais mostraram que células da medula óssea diferenciam-se em células que expressam marcadores neuronais. Neste mesmo sentido, muito se tem estudado sobre a plasticidade das CTMO e sua habilidade em selecionar linhagens atípicas quando colocadas em ambientes não-hematopoiéticos (Figura 2) (MEZEY *et al.*, 2000). Esta questão de que essas células se transdiferenciam em células de tecidos diferentes daquele a partir do qual foram obtidas continua em discussão (PHINNEY e PROCKOP, 2007).

Outra questão bastante relevante em relação às CT adultas refere-se ao fato destas não apresentarem os empecilhos relacionados ao uso de CTE (apesar da extensão de sua plasticidade ainda estar sob investigação).

A principal vantagem do uso de CT adultas quando comparadas as CTE refere-se a facilidade de obtenção. Estas são extraídas dos diversos tecidos humanos, tais como medula óssea, sangue, fígado, cordão umbilical, entre outros. Além disso, não apresenta problemas como histocompatibilidade e ética.

As vantagens em se estudarem células-tronco adultas em contraste com as embrionárias incluem a maior facilidade de obtenção das primeiras, sendo que as CTMO podem ainda ser obtidas em maior quantidade (ideal para aplicação clínica)

do que as demais células-tronco adultas (CARRION *et al.*, 2010).

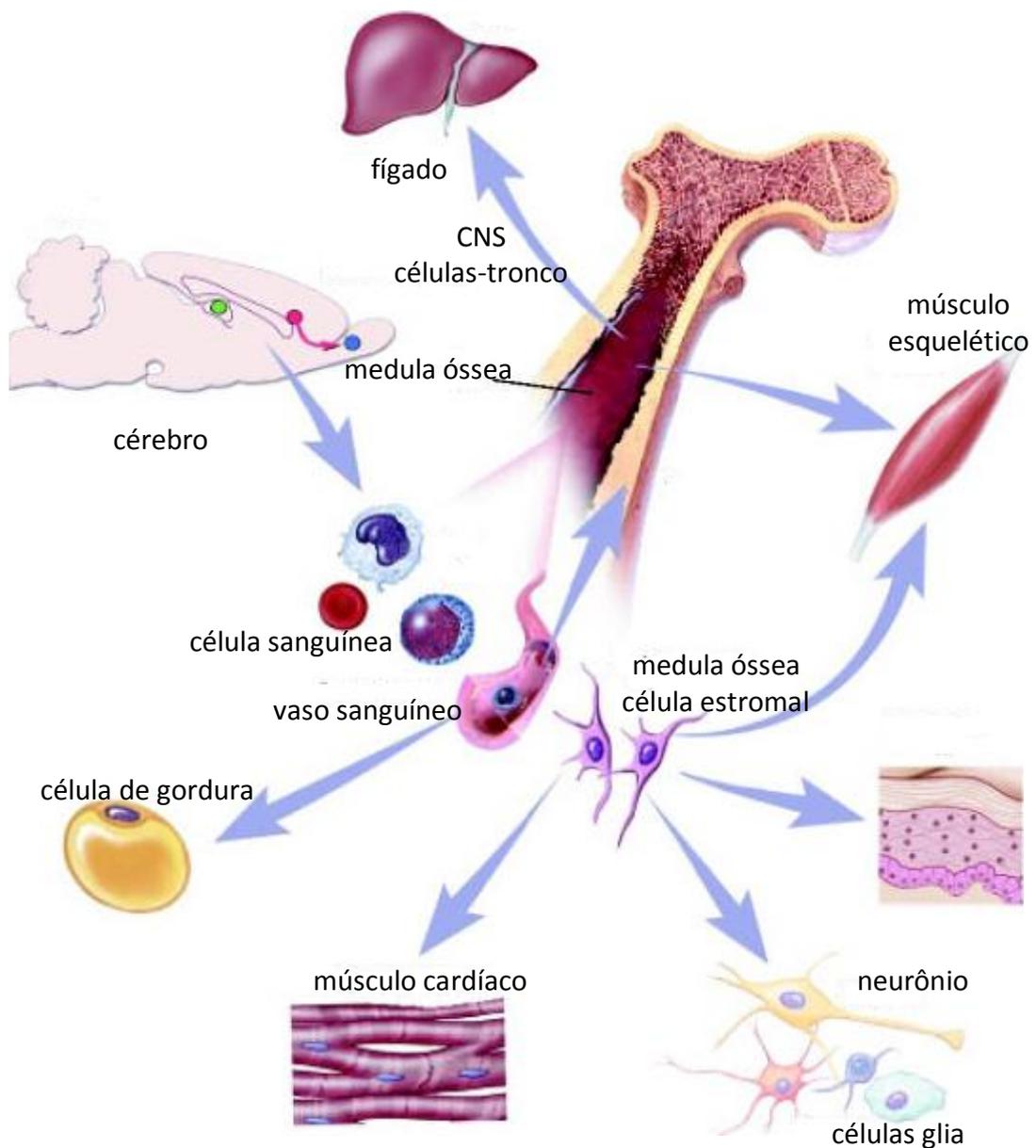


Figura 2: Plasticidade das células-tronco da medula óssea.

Fonte: Adaptado do *Stem Cell Information*, The National Institutes of Health resource for stem cell research.

2.4.3 Células-tronco da medula óssea

A medula óssea (MO) é uma fonte permanente de CT (KORBLING e ESTROV, 2003). Uma das populações de células da MO, as células-tronco hematopoiéticas, são responsáveis pela formação de todos os tipos de células

sangüíneas do corpo. A população de células estromais ou mesenquimais da MO podem gerar, entre outros, ossos e cartilagem (KORBLING e ESTROV, 2003). As células-tronco mesenquimais encontram-se imersas no estroma medular. Uma população que se diferencia em células endoteliais foi identificada, mais recentemente, com sendo originária da medula óssea (SHI *et al.*, 1998). Assim, a MO parece conter três tipos de populações de células-tronco: hematopoiéticas, estromais (mesenquimais) e possivelmente progenitoras endoteliais.

Em doenças neurológicas, os danos são freqüentemente irreversíveis. Mesmo que o SNC adulto abrigue inúmeras células com potencial de regeneração, ele não consegue recrutá-las de maneira efetiva. Desta forma, estratégias que busquem promover acréscimo de número e função de células regenerativas endógenas, ou ainda introduzir células com potencial regenerativo no SNC através de transplante, podem representar novas alternativas terapêuticas (CARRION *et al.*, 2010).

Estudos recentes demonstram que o transplante de CT melhora a função cerebral fisiológica em modelos de isquemia cerebral e traumatismo raquimedular (BANG *et al.*, 2005; HAAS *et al.*, 2005; KODA *et al.*, 2005).

Outros trabalhos referem melhora dos sintomas parkinsonianos em ratos que receberam células-tronco embrionárias neurais, com a geração de neurônios dopaminérgicos que detinham propriedades eletrofisiológicas e bioquímicas semelhantes às células mesencefálicas não transplantadas (KIM *et al.*, 2003; CARRION *et al.*, 2010).

Da mesma maneira, o potencial terapêutico das CTMO também tem sido estudado em modelos de esclerose lateral amiotrófica, lesão da medula espinhal, doença de Parkinson, doença de Alzheimer e doença de Huntington (CARRION *et al.*, 2010).

Em estudos com modelos animais de anóxia neonatal, isquemia cerebral, epilepsia, doença de Parkinson e lesão de nervo periférico o transplante de CT mostrou melhora funcional nos animais tratados. Os autores referem, ainda, que a regeneração e a reconstrução do circuito neuronal é possível através da terapia celular (DE PAULA *et al.*, 2005).

Em uma série de estudos animais, pesquisadores de diferentes grupos mostraram que células da MO injetadas na corrente sangüínea melhoraram significativamente a resposta comportamental de animais submetidos a isquemia cerebral focal. Estas células migram da corrente sangüínea para a área isquêmica e

uma percentagem pequena delas expressaram marcadores neurais (AZIZI *et al.*, 1998; EGLITIS *et al.*, 1999; SILANI e CORBO, 2004). Células-tronco adultas podem ser convertidas em neurônios e/ou células gliais *in vivo* (SILANI e CORBO, 2004).

Kopen e colaboradores (1999) foram os primeiros a demonstrar que células-tronco mesenquimais injetadas no SNC de camundongos neonatos podem adotar características fenotípicas e morfológicas de astrócitos e neurônios. Além disso, foi demonstrado *in vitro* que células-tronco mesenquimais humanas e de ratos podem diferenciar-se em neurônios (KOPEN *et al.*, 1999 apud; DA SILVA, 2011).

A neurogênese induzida por crises epilépticas e também por outros insultos como isquemia cerebral já foi amplamente demonstrada (PARENT *et al.*, 1997; PARENT, 2003). Estudos já demonstraram que a terapia celular em modelos experimentais de epilepsia aguda e crônica resulta em efeitos anticonvulsivantes, talvez antiepiléptogênicos e neuroprotetores/neuroreparadores (LÖSCHER *et al.*, 2008; COSTA-FERRO *et al.*, 2010).

Carrion (2010) elaborou um quadro apresentando algumas evidências experimentais do potencial terapêutico das CT em modelos animais de doenças neurológicas. Alguns estudos relatam que células-tronco adultas podem ser convertidas em neurônios e/ou células gliais *in vivo* (KOPEN *et al.*, 1999; MEZEY *et al.*, 2000; CHEN *et al.*, 2002). O quadro adaptado é apresentado a seguir, com resultados promissores (CARRION *et al.*, 2010).

Tabela 2 - Doenças neurológicas, efeitos em modelos animais

ESPÉCIE	TIPO CELULAR OU EFEITO OBTIDO	FONTE
Camundongo	Neurônio e Glia	(KOPEN <i>et al.</i> , 1999)
Camundongo/ELA	Neurônios e Glia	(CORTI <i>et al.</i> , 2004)
Ratos/lesão	Neurônio e Glia	(MAHMOOD <i>et al.</i> , 2004 apud ; CARRION <i>et al.</i> , 2010)
Ratos/AVC	Glia	(CHEN <i>et al.</i> , 2002)
Ratos/Parkinson	Glia	(DEZAWA <i>et al.</i> , 2004)

Fonte: Adaptado de (CARRION *et al.*, 2010). ELA: esclerose lateral amiotrófica, AVC: acidente vascular cerebral.

Quanto a ELT, não temos conhecimento de estudos em humanos avaliando o potencial terapêutico do transplante de CTMO no desempenho das funções de memória. Cabe ressaltar que na ELT é comum haver déficit cognitivo, seja em pacientes ou em modelos experimentais (HOLMES, 1997; PORTUGUEZ, 1998a). Animais tratados com pilocarpina sabidamente apresentam déficit de memória espacial, associado com a grande morte de células hipocâmpais induzida pelo modelo. Estudos mostram que as células injetadas reverteram esse déficit, promovendo não só redução da frequência de crises espontâneas recorrentes, mas também melhora cognitiva na tarefa do labirinto aquático de Morris (VENTURIN, 2008). Outros trabalhos realizados com células-tronco neurais em camundongos com danos cerebrais já mostraram a possibilidade de restabelecimento da memória em níveis semelhantes aos encontrados em animais saudáveis, depois de tratamento com CT por três meses (YAMASAKI *et al.*, 2007).

Sem dúvida, os excelentes resultados obtidos com os modelos experimentais incentivaram o desenvolvimento de pesquisas clínicas.

Evidências científicas mostram que a terapia celular pode tornar-se uma ferramenta terapêutica em vários distúrbios do sistema nervoso (DE PAULA *et al.*, 2005). Em um estudo com mulheres que haviam recebido transplantes de indivíduos do sexo masculino para tratar doenças hematológicas percebeu-se que células da medula óssea podem penetrar no sistema nervoso e se diferenciar em neurônios (GOH *et al.*, 2003; MEZEY, 2005).

O primeiro estudo clínico com terapia celular em humanos com acidente vascular cerebral (AVC) incluiu 12 pacientes tratados com implante de neurônios derivados de um teratocarcinoma (BJORKLUND e LINDVALL, 2000). Estudos já realizados em pacientes com AVC e conduzidos por nosso grupo evidenciaram a segurança do procedimento (ARAUJO, 2008).

Em suma, muito se tem discutido sobre a plasticidade de células-tronco adultas, incluindo as células-tronco da medula óssea e sobre sua capacidade em derivar-se em microglia (EGLITIS *et al.*, 1999) e neurônios *in vivo* (BRAZELTON *et al.*, 2000; MEZEY *et al.*, 2000). Porém, ainda não se sabe qual subpopulação da MO foi capaz de expressar este desenvolvimento neuronal.

A transdiferenciação de células da MO em neurônios no SNC foi também relatada em seres humanos (COGLE *et al.*, 2004). Parece que a incorporação destas células no tecido nervoso é intensificada frente a um dano tecidual. Mesmo

que estas células não regeneram o tecido lesado por transdiferenciarem-se em determinado tipo celular, é provável que a recuperação de funções cerebrais ou estabilização da doença neurológica ocorra por outros mecanismos biológicos tais como a fusão celular, a liberação de fatores tróficos, citocinas ou ativação de células endógenas (TERADA *et al.*, 2002).

2.5 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA TERAPIA CELULAR

Muitos progressos têm sido feitos em isolar células-tronco e demonstrar a exeqüibilidade do transplante celular na melhora dos quadros neurológicos.

Vários mecanismos dão suporte a esta ação, tais como: A fusão celular, a transdiferenciação em linhagens neurais e o suporte trófico para neuroproteção.

2.5.1 Fusão celular

A fusão celular é um processo natural envolvido no desenvolvimento normal, na resposta imune, na formação de tecidos e com papel importante na plasticidade das CT (ALVAREZ-DOLADO *et al.*, 2003).

Conforme este mecanismo, a célula transplantada forma uma quimera com a célula residente. O grupo de Alvarez-Dolado (2003) descreveu o mecanismo pelo qual células derivadas da MO eram capazes de fundir-se com neurônios, hepatócitos e músculo cardíaco no começo desta década (ALVAREZ-DOLADO *et al.*, 2003). Este mecanismo tem importantes implicações genéticas e terapêuticas uma vez que a célula fusionada tem material genético novo capaz de regenerar uma célula “doente”. No entanto, este processo ocorre com uma frequência muito baixa, tendo sido inicialmente considerado ineficiente (WAGERS *et al.*, 2002).

Uma publicação mais recente, entretanto, mostrou que sob certas circunstâncias o processo de fusão pode ocorrer mais frequentemente, considerando o mesmo terapeuticamente eficiente (JOHANSSON *et al.*, 2008).

De fato, as células-tronco mesenquimais derivadas da medula óssea foram capazes de melhorar os sintomas de ataxia cerebelar pela recuperação das células de *purkinje* de sua morte inevitável através da fusão celular e da liberação de fatores neurotróficos (JONES *et al.*, 2010).

A fusão celular pode ser considerada uma possibilidade terapêutica

promissora. No entanto, é importante um maior conhecimento sobre os mecanismos que governam este processo, a fim de torná-lo uma possibilidade terapêuticamente eficiente e segura (ALVAREZ-DOLADO e MARTINEZ-LOSA, 2011).

2.5.2 Transdiferenciação

O termo transdiferenciação tem sido utilizado para descrever a capacidade das células-tronco adultas de originarem células de tecidos onde elas não residem, até mesmo células de outros folhetos embrionários (KRABBE *et al.*, 2005).

Em relação aos neurônios, sabe-se que eles não se regeneram facilmente, mesmo após injúria. Estudos recentes com o uso de CT têm investigado o papel dessas células no reparo de lesões do sistema nervoso. De fato, existem evidências de que estas células tem um bom potencial de transdiferenciação. Isto significa que mesmo células que tenham sido programadas para um determinado tecido ou função podem ser induzidas a dar origem a outra linhagem de células através da manipulação *in vitro* (GRECO *et al.*, 2007). De fato, diferentes estudos tem demonstrado que o uso de compostos como β -mercaptoetanol (LEI *et al.*, 2007), ácido retinóico (ABOUELFETOUH *et al.*, 2004) e fatores de crescimento como fator de crescimento de fibroblasto (FGF) e o fator de crescimento epidérmico (EGF) (BOSSOLASCO *et al.*, 2005), tem sido utilizados *in vitro* para a diferenciação de células-tronco mesenquimais em células neurais. De acordo com essa proposta, já se evidenciou a formação de neuroesferas que potencialmente podem gerar neurônios, o que de fato foi confirmado pela utilização de marcadores específicos em imunohistoquímica (DEZAWA *et al.*, 2004).

O uso da terapia celular tem sido ampliado para o uso em várias doenças do sistema nervoso. Em epilepsia, existem dados obtidos em modelos experimentais. De fato, como apresentado anteriormente, animais tratados com pilocarpina que apresentavam déficit de memória espacial (associado com a grande morte de células hipocámpais) reverteram esse déficit com a injeção de células-tronco, promovendo não só redução da frequência de crises espontâneas recorrentes, mas também melhora cognitiva na tarefa do labirinto aquático de Morris (VENTURIN, 2008). Protocolos experimentais de nosso grupo usando o mesmo modelo mostraram que imediatamente após a aplicação de pilocarpina, as células transplantadas migraram até o cérebro epiléptico e sobreviveram 1, 3, 5, 10 e 120

dias após o transplante. Algumas das células expressavam marcadores para microglia e neurônios jovens (CARRION *et al.*, 2010).

Existe ainda muita discussão sobre a real transdiferenciação das células-tronco em neurônios, uma vez que é preciso marcar as mesmas antes de injetar e então acompanhá-las após o transplante. Os estudos não são conclusivos, até porque os indutores de diferenciação usados *in vitro* podem ser considerados estressantes e, portanto, poderiam ser considerados artefatos de técnica.

Em humanos, esse é um desafio ainda não enfrentado, pois não existe um marcador de eleição definitivo para CT, indicando que esse é um problema a ser solucionado.

2.5.3 Fatores parácrinos

A neurogênese é uma resposta natural do tecido neural que sofre uma lesão, criada pela natureza e na busca da regeneração de tal tecido. No entanto, a regeneração de células nervosas e a neurogênese parecem não ser suficientes no adulto para regenerar grandes lesões ou para evitar a perda de neurônios que ocorre nas doenças crônicas degenerativas do sistema nervoso (GOTZ, 2003; MENDEZ-OTERO *et al.*, 2009).

Essa idéia mais a constatação de que as células transplantadas parecem ter um pequeno potencial de se diferenciar, abriu a possibilidade de que outros mecanismos pudessem estar envolvidos na resposta terapêutica ao transplante celular (TERADA *et al.*, 2002). Entre esses mecanismos estaria a liberação por essas células de fatores tróficos na região lesada, ou mesmo de fatores moduladores de processos inflamatórios que poderiam estimular a capacidade de regeneração do tecido atingido. De fato, em modelos pré-clínicos de isquemia cerebral, a melhora funcional observada nos animais de experimentação sugeriu que a administração de células-tronco mesenquimais estimulou a neurogênese endógena (CHOPP e LI, 2002). Corroborando com essa idéia, sabe-se que essas células são capazes de secretar fatores como o fator neurotrófico derivado da linhagem glial (GDNF), o fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF), o fator de crescimento de nervos (NGF), o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) entre outros (MARANGONI *et al.*, 1990; CHEN *et al.*, 2002). A maior atenção com esses fatores deve-se a fato de que os mesmos podem induzir a formação de

tumores, como ocorrido em alguns animais infartados em que a melhora funcional do coração isquêmico foi acompanhada da formação de fibrosarcomas (FAZEL *et al.*, 2008).

Outro aspecto a se considerar é a resposta inflamatória, normalmente presente em algumas doenças degenerativas do sistema nervoso. Acredita-se que parte da neuroproteção induzida pelo transplante celular, deve-se ao efeito parácrino exercido pelas células-tronco de liberar citocinas, quando chegam ao local da lesão (RUSCHENSCHMIDT *et al.*, 2005). Além disso, células endógenas podem proliferar e migrar para o local da lesão e lá exercer seus efeitos parácrinos. De fato, células da MO podem ser capazes de bloquear convulsões: o transplante de células precursoras apenas 30 minutos antes da estimulação convulsiva em camundongos e ratos, alterou a susceptibilidade convulsiva, tornando o desencadeamento das crises mais difícil nesses animais. Esta proteção deveu-se provavelmente aos efeitos parácrinos das células injetadas (LONGO *et al.*, 2010).

Finalmente, as perspectivas para estabelecer terapias celulares para tratar lesões neurais em tecidos com capacidade de regeneração modesta são promissoras, graças aos estudos já realizados ou em andamentos que apostam em diferentes mecanismos de ação dessas células para o reparo do sítio prejudicado.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do transplante autólogo de células-tronco da medula óssea nas funções de memória de pacientes com epilepsia refratária do lobo temporal mesial.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Avaliar funções de memória antes e após o transplante autólogo de células-tronco da medula óssea em pacientes com epilepsia do lobo temporal.
- 2) Verificar se existe melhora das funções de memória após o transplante autólogo de células-tronco da medula óssea em pacientes com epilepsia do lobo temporal.
- 3) Verificar o impacto dos sintomas depressivos e ansiosos sobre as funções de memória no período pré e pós transplante, a fim de gerar hipóteses para trabalhos futuros.
- 4) Verificar o impacto das variáveis clínicas (frequência das crises e lateralização hemisférica da esclerose hipocampal) e demográficas (idade, sexo, escolaridade) sobre as funções de memória no período pré e pós transplante, a fim de gerar hipóteses para trabalhos futuros.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO

Estudo clínico não controlado a partir de casos selecionados de uma população de pacientes com ELTM que se apresentaram como candidatos ao estudo.

O fator em estudo foi o efeito do transplante autólogo de células-tronco mononucleares de medula óssea (intervenção) tendo como desfecho o desempenho da memória.

4.2 VARIÁVEIS

Alguns fatores potencialmente modificadores da resposta também foram avaliados (sexo, idade, escolaridade, frequência de crises epiléticas, lateralização da EH, depressão e ansiedade), a fim de gerar hipóteses para estudos subsequentes.

4.3 PACIENTES

A partir de uma população de 150 pacientes com epilepsia, encaminhados para o ambulatório de pesquisa clínica do Hospital São Lucas da PUCRS por profissionais da área da saúde, principalmente neurologistas, ou avaliados após anúncio pela imprensa, foram selecionados os 13 pacientes submetidos ao protocolo completo, estando adequado a estudos clínicos de fase I (HAYNES *et al.*, 2008).

Os indivíduos selecionados preencheram os critérios diagnósticos de ELT com EH unilateral, refratários ao tratamento medicamentoso (segundo os critérios da ILAE (*International League Against Epilepsy*): permanência de crises epiléticas em pacientes usando pelo menos duas DAE em dose plena há pelo menos 1 ano).

Cada paciente preencheu os critérios de lateralização da doença: foco epiléptico e maior grau de atrofia hipocampal do mesmo lado, não havendo divergências quanto à lateralidade em nenhum dos exames realizados.

4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- 1) Idade acima de 18 anos.
- 2) Epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM) refratária ao tratamento medicamentoso.
- 3) Exame de neuroimagem com sinais de esclerose hipocampal (EH).

4.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- 1) Impossibilidade de obter acesso vascular para procedimento percutâneo;
- 2) Portadores de neoplasias malignas;
- 3) Portadores de doenças auto-imunes;
- 4) Portadores de outras doenças neurológicas ou psiquiátricas (exceto sintomas de depressão e ansiedade);
- 5) Com insuficiência cardíaca aguda ou descompensada;
- 6) Com doenças hematológicas primárias;
- 7) Osteopatias que traduzam aumento de risco à punção medular;
- 8) Coagulopatias;
- 9) Insuficiência hepática;
- 10) Insuficiência renal moderada (creatinina acima de 2 mg/dl);
- 11) Gravidez;
- 12) Participação em outro ensaio clínico.

4.6 ASPECTOS ÉTICOS

Esse estudo integra o projeto “*Transplante Autólogo de Células-Tronco da Medula Óssea em Pacientes com Epilepsia*” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da PUCRS em 12 de junho de 2007 (Ofício 0931/07) e pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (parecer nº 947/2007, CAAE 0194.0.002.000-07) em 11 de dezembro de 2007.

Todos os pacientes que preencham os critérios de inclusão, sem critérios de exclusão de participar neste protocolo, receberam informações sobre o estudo, esclarecendo riscos e benefícios. Além de receberem informações verbais, eles receberam duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), onde consentiram na participação do estudo (Anexo A). Uma das vias do TCLE ficou com o paciente e a outra com o investigador.

Foram analisados os dados iniciais referentes aos primeiros 6 meses de seguimento, no entanto os pacientes serão acompanhados por tempo indeterminado no Ambulatório de Neurologia do Hospital São Lucas da PUCRS. Em caso de complicações secundárias ao procedimento realizado, estando os pacientes vinculados ao Hospital São Lucas da PUCRS, serão atendidos pela equipe de neurologia do referido hospital e também por outras especialidades se houver necessidade. Todos os custos foram cobertos pelo projeto FINEP e pelo Hospital São Lucas da PUCRS.

Este estudo foi totalmente financiado pelo FINEP - Projeto número 146 - UBEA – PUCRS - CTEP Ref: 5244/06.

4.7 FASES DO ESTUDO

O estudo seguiu o roteiro apresentado abaixo, (Figura 3).

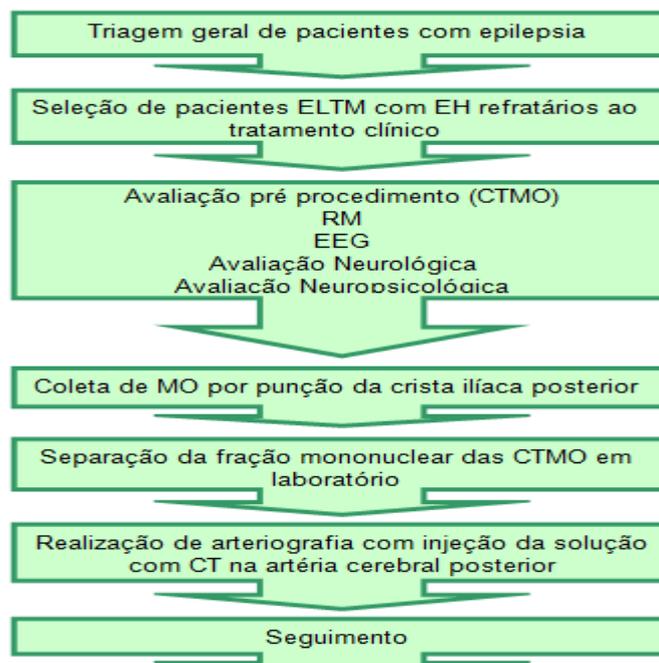


Figura 3: Desenho do estudo.

Fonte: Autor (2012)

4.7.1 Fase de seleção

a) *Clínica*

Foi utilizado o “diário de crises” e a escala de *Engel* para quantificação da frequência de crises. Responsáveis: neurologistas do grupo de pesquisa em células-tronco.

b) *Exames pré-procedimento*

- Eletrocardiograma;
- Coleta de sangue para dosagem de glicose, sódio, potássio, creatinina, hemograma, plaquetometria, transaminase oxalacética (TGO), transaminase pirúvica (TGP), tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina (KTTP).

c) *Exames adicionais*

Foram realizados imediatamente após a inclusão no estudo:

- Avaliação neurológica;
- Avaliação neuropsicológica;
- Ressonância magnética nuclear do cérebro com estudo hipocampal;
- Vídeo-eletroencefalograma (EEG) durante 24-72hs;

4.7.2 Fase do transplante celular

- Coleta de CT/aspiração da MO – Responsável, Dr. Bernardo Garicocheae;
- Separação da fração mononuclear - Responsável, Dra Denise Cantarelli Machado e/ou Técn. Daniel Marinovic;
- Arteriografia;
- Cateterismo vascular - Responsável, Dr. Eduardo Raupp;
- Transplante celular.

4.7.3 Fase de acompanhamento clínico e laboratorial (trimestral)

- Avaliação neurológica.
- Avaliação neuropsicológica
- RM
- EEG

4.8 EXAMES COMPLEMENTARES E PROCEDIMENTOS REALIZADOS

Após a inclusão no estudo, todos os pacientes foram submetidos aos seguintes exames pré-procedimento:

4.8.1 Eletrocardiograma

Foi realizado para detectar e registrar a atividade elétrica do coração e identificar possíveis anormalidades cardíacas.

4.8.2 Coleta de sangue

Foi coletado uma fração de sangue para dosagem de glicose, sódio, potássio, creatinina, hemograma, plaquetometria, TGO, TGP, TP e KTTTP.

4.8.3 Vídeo-eletroencefalograma (EEG durante 24-72hs e EEG de 30minutos)

Os EEG foram realizados no aparelho *EMSA BNT* de 36 canais utilizando montagens conforme sistema internacional 10-20 tanto para registro de crises epiléticas (monitorizadas também por vídeo) quanto para análise do padrão eletroencefalográfico interictal (na internação e nos controles de 3 e 6 meses). A análise permitiu a localização do foco epilético (temporal esquerdo ou direito). Foram selecionadas amostras de 5 minutos de EEG em vigília tanto da monitorização por vídeo-EEG, quanto dos EEG de controle. Dessas amostras foram selecionados períodos aleatórios de registro em vigília para cada paciente nos quais se quantificou a quantidade de segundos em que apareceram ondas *theta* (Densidade de Theta) e a quantidade de ondas agudas e pontas (Densidade de Pontas).

Foi utilizado registro das crises epiléticas com a finalidade de definir a origem no lobo temporal, durante o cateterismo e no seguimento.

4.8.4 Ressonância magnética do cérebro com estudo hipocampal

4.8.4.1 Seqüências de aquisição

Todos os pacientes foram examinados em um aparelho *Siemens Magnéton Vision Plus* de 1,5 T com bobinas de gradiente de 25mT/m (amplitude máxima de gradiente). As seqüências utilizadas, bem como os valores de referência para os volumes hipocampais foram determinadas por um protocolo previamente utilizado no serviço (PAGLIOLI *et al.*, 2004). O volume hipocampal foi calculado com o auxílio do *software Image Pro Plus*, versão 4.5.1.

Aquisição T1: Foi obtida com aquisição volumétrica no plano sagital com uma seqüência *Echo Gradiente* 3D com 160 partições e espessura de corte de 0,9mm. Estes parâmetros permitiram um voxel isotrópico.

Aquisição T2: Foi realizada nos planos axiais e coronais com espessura de corte de 5mm e espaçamento de 3,5. As aquisições foram feitas com e sem supressão de gordura para identificar alterações de sinal nas estruturas encefálicas e aumento de sinal nos hipocampos.

Aquisição Flair: Seqüência desenvolvida a partir do T2 com supressão do sinal da água. Realizada com espessura de corte 5mm e espaçamento de 1,5mm. Nessa aquisição as alterações de sinal são consideradas como decorrentes à lesão atual ou à seqüela de lesão (gliose). Foi obtida nos planos axial com a mesma orientação do T2.

Aquisição IR ou *Inversion Recovery* ponderada em T1: Foi realizada com espessura de corte 3mm e espaçamento de 0,9mm. Avaliou a forma e espessura da camada cortical e a interdigitação da substância branca. Foi utilizada também para avaliação volumétrica quantitativa do hipocampo através do pós processamento dos dados.

Aquisição STIR ou *Supression T2 Inversion Recovery*: Foi realizada a espessura de corte de 3mm de espaçamento 0,9mm. Obtida no plano coronal desde o pólo temporal até a cruz dos fórnices. Identificando a alteração de sinal T2 dos hipocampos e estruturas para-hipocampais.

4.8.5 Avaliação neurológica

Foi realizada em diferentes momentos do estudo para classificação da epilepsia parcial, caracterização da epilepsia, frequência das crises e efeitos colaterais de medicação antiepiléptica.

4.8.6 Avaliação neuropsicológica

Os pacientes foram avaliados antes e após o tratamento com CT (três e seis meses após), para estudarmos o efeito desta terapia inovadora sobre as funções de memória de pacientes com ELT.

4.8.6.1 Avaliação da memória

Os testes utilizados para avaliação neuropsicológica da memória no período pré e pós-terapia com CT, incluíram a Escala de Memória Wechsler revisada WMS-R (do inglês *Wechsler Memory Scale-Revised*), (ANEXO B e C), o teste de aprendizado de Rey (do inglês *Rey Auditory Learning Test - RAVLT*) (ANEXO D) e o teste de recordação da figura Complexa de Taylor (ANEXO E), seguindo o mesmo protocolo de avaliação neuropsicológica do Programa de Cirurgia da Epilepsia do Hospital São Lucas da PUCRS.

O WMS-R é uma bateria de testes de memória, constituída por testes de memória verbal (denominada de memória lógica) e visual (denominada reprodução visual). Esta escala abrange de 16 a 74 anos, sendo utilizada desde sua primeira edição em pesquisas com pacientes epiléticos. O teste de aprendizado de Rey (ANEXO D) consiste em uma lista de 15 palavras lidas para o paciente com um intervalo de 1 segundo a cada palavra durante 5 vezes consecutivas, visando avaliar seu desempenho com aprendizado. O teste de recordação da figura complexa de Taylor (ANEXO E) consiste na cópia e recordação (após 30 minutos) de material visual complexo (SPREEN e STRAUSS, 1998).

4.8.6.2 Avaliação dos sintomas de depressão

Originalmente criado por Beck e colaboradores em 1961 e revisado em 1979 e 1982, o BDI (Inventário de Depressão de Beck - do inglês *Beck Depression Inventory*) (ANEXO F) é um instrumento para medida da intensidade de sintomas da depressão, não sendo utilizado para diagnóstico de quadros específicos, e sim como uma medida escalar, com itens descritivos de atitudes e sintomas que podem ser encontrados em diferentes categorias nosológicas. Do ponto de vista clínico, pode oferecer importantes subsídios, não só pelo nível em que recai o escore total, mas em relação ao conteúdo específico da configuração assumida pelos itens assinalados, que revela o padrão sintomático descrito pelo paciente (CUNHA, 2001).

O BDI é uma das escalas de auto-avaliação mais usadas para identificação de intensidade de sintomas de depressão, na pesquisa e prática clínica (MARDER, 1999).

Pacientes com altos escores passaram por uma avaliação clínica extensa e detalhada. Portanto, o BDI pode ser o instrumento de diagnóstico útil para o rastreamento e a identificação de pacientes sintomáticos (KANNER e PALAC, 2000).

4.8.6.3 Avaliação dos sintomas de ansiedade

O BAI (Inventário de Ansiedade de Beck - do inglês *Beck Anxiety Inventory*) (ANEXO G) é uma escala de auto-relato que mede a intensidade dos sintomas de ansiedade, composta por 21 itens. Cada sintoma se apresenta numa escala de 0 (nada) a 3 (muito, quase não posso suportar) (CUNHA, 2001).

Cada item se apresenta numa escala de 4 pontos com graus de gravidade crescente de sintomas de ansiedade. Treze itens estão relacionados aos sintomas fisiológicos, cinco itens aos sintomas cognitivos, e três itens representam sintomas somáticos e cognitivos. A pontuação foi a seguinte: 0-10 pontos, grau mínimo de ansiedade; 11-19, grau leve; 20-30, grau moderado; 31-63, grau grave.

4.8.7 Coleta de medula óssea

As células-tronco foram coletadas diretamente por punção única da crista ilíaca posterior, sob anestesia local, após antissepsia. O material foi coletado através

de repetidas aspirações através do redirecionamento/reposicionamento da agulha própria para coleta de medula óssea em outras angulações, não sendo de forma alguma necessárias outras incisões de pele e punções do osso do quadril. Foram utilizadas 10 seringas (contendo 0,5mL de heparina cada a fim de evitar a coagulação das amostras) de 20mL para a coleta de um volume total almejado de pelo menos 50mL (Figura 4).

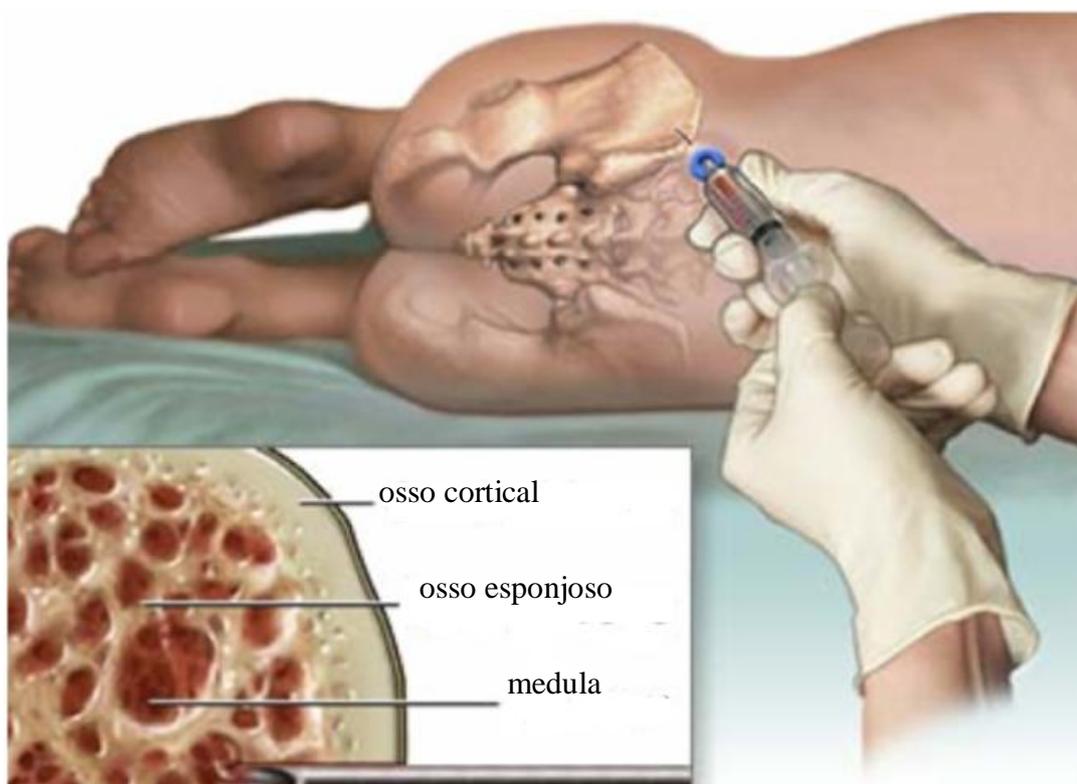


Figura 4: Ilustração representativa da punção na crista ílica posterior.

Fonte: Traduzido do site <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/1129.htm>.

4.8.7.1 Processamento das células mononucleares

As células mononucleares foram separadas por gradiente de densidade com Ficoll-Paque. A meta mínima a ser coletada foi de ao menos 4×10^7 células mononucleares. As células foram lavadas com soro fisiológico heparinizado contendo 5% de albumina humana e passadas em filtro de nylon de $100\mu\text{m}$. As células foram finalmente ressuspensas em soro fisiológico 0,9% com 5% de albumina para infusão em uma solução final contendo cerca de 5mL. Cerca de $500\mu\text{l}$ da solução foi separada por citometria de fluxo (técnica utilizada para contar,

examinar e classificar partículas microscópicas suspensas em meio líquido em fluxo) imunofenotipagem (processo de classificação de células do sistema imune - linfócitos T - em subgrupos baseados em antígenos CD). As células em questão foram as seguintes: CD34 que são células precursoras hematopoiéticas, células do endotélio vascular; CD45 células hematopoiéticas; CD105 células endoteliais da medula óssea; CD117 células progenitoras hematopoiéticas. Outros 500µl foram separados para congelamento em nitrogênio líquido, visando eventual necessidade de nova fenotipagem ou reavaliação de viabilidade celular. Todo o processo foi realizado pela Dra. Denise Cantarelli Machado e pelo Técnico Daniel Marinovic do Instituto de Pesquisas Biomédicas.

4.8.7.2 *Transplante de células-tronco de medula óssea*

Entre $1,51$ e $5,59 \times 10^8$ das células foram injetadas via cateterismo seletivo da artéria cerebral posterior, no mesmo dia do isolamento das células, após arteriografia, utilizando técnica semelhante à utilizada para realização do Teste do Amobarbital Sódico e habitualmente realizada no nosso Serviço (PAGLIOLI *et al.*, 2004). Inicialmente foi realizada uma arteriografia dos 4 principais vasos cerebrais via punção femoral (Figura 5), utilizando um cateter 5F. Posteriormente, foi escolhida a artéria vertebral menos tortuosa e mais calibrosa para a colocação de um cateter guia 6F e a seguir foi introduzido um microcateter tipo *Tracker* 18. Com o paciente sob heparinização de pelo menos 5000 UI o cateter foi conduzido com a ajuda de um fio guia até a porção peduncular da artéria cerebral posterior do lado a ser injetado. Esta porção arterial é a principal responsável pela vascularização das estruturas mesiais temporais (CARRION *et al.*, 2010).

O volume de infusão foi de aproximadamente 30mL em infusão contínua durante 30 minutos. A solução consistia de células dissolvidas em plasma. Durante a infusão de CTMO os pacientes foram monitorizados clinicamente e com eletroencefalograma durante todo o procedimento, para observação imediata de possíveis efeitos adversos.

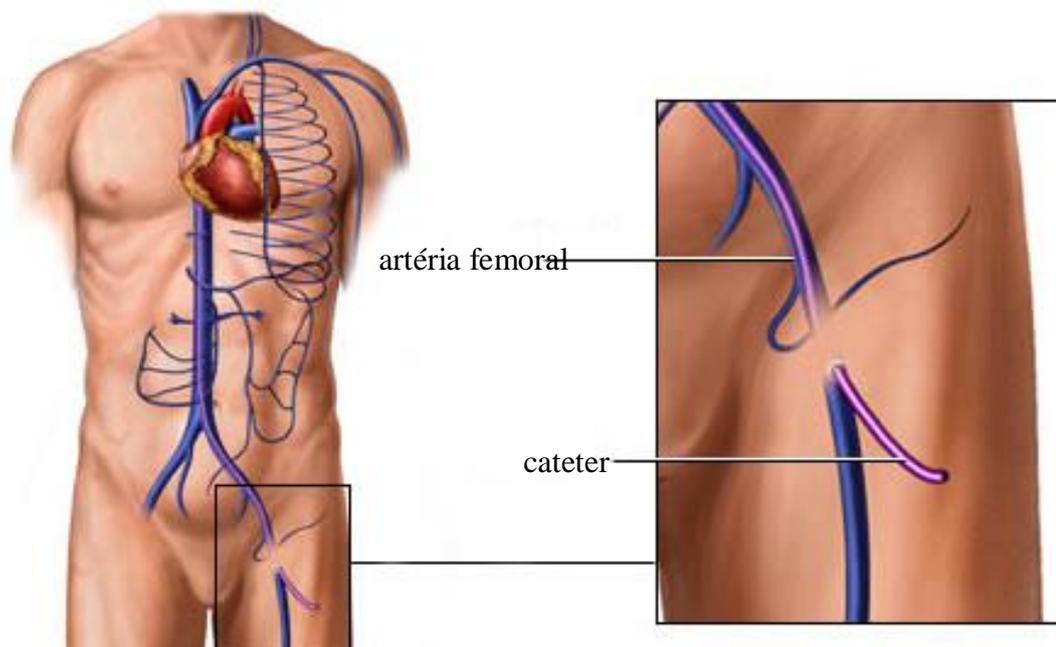


Figura 5: Punção femoral.

Fonte: Adaptado de Nucleus Medical Media (*Nucleus Communications, Inc. All rights reserved.* <http://www.nucleusinc.com>).

4.9 SEQÜÊNCIA DO PROTOCOLO DE PESQUISA (RESUMO)

A seleção dos pacientes seguiu os critérios mencionados anteriormente, utilizando o diário de crises dos pacientes (os quais trouxeram agendas, cadernos ou folhas avulsas contendo a marcação dos dias em que apresentavam crises) como parâmetro para definir a frequência de crises (no seguimento foi utilizada também a classificação de crises de *Engel* (ENGEL, 2001), RM prévias ao estudo para análise visual das estruturas visuais temporais (o estudo volumétrico do hipocampo foi realizado somente após a internação), história clínica e exame neurológico e assinatura do TCLE.

A internação dos pacientes durante um período de 7 dias seguiu o protocolo apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Seqüência do protocolo de pesquisa

1º dia	Internação, Ressonância Magnética, realização de exames laboratoriais, avaliação neurológica e neuropsicológica, eletrocardiograma, retirada das medicações anticonvulsivantes, início da monitorização videoeletroencefalográfica
2º dia	Vídeo EEG
3º dia	Vídeo EEG
4º dia	Reintrodução das drogas anticonvulsivantes
5º dia	Coleta de medula óssea, processamento das células mononucleares de medula, transplante de células-tronco por arteriografia, monitorização por vídeo EEG. O transplante é realizado no lado onde se observou menor volume hipocampal, predomínio de atividade epileptogênica interictal e início ictal registrados pelo vídeo EEG
6º dia	Termino da monitorização por vídeo EEG
7º dia	Alta hospitalar mantendo DAE em dose plena
3º mês	Reavaliação neurológica e neuropsicológica, avaliação dos diários de crises, EEG de 30 minutos e manutenção das DAE
6º mês	Reavaliação neurológica e neuropsicológica, EEG de 30 minutos, avaliação dos diários de crises, realização de RM

Fonte: Autor (2012).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis categóricas foram descritas por contagens e percentuais e as variáveis quantitativas por média e desvio padrão ou mediana e mínimo e máximo no caso de assimetria.

A avaliação do efeito da intervenção sobre as medidas seqüências (basal, 3 e 6 meses) das funções de memória foi realizada através de modelos lineares mistos (do inglês *mixed models*). A técnica de modelos lineares mistos (MLM) permite realizar a análise de observações repetidas com uma flexibilidade maior do que a técnica tradicionalmente usada (ANOVA de medidas repetidas). A técnica MLM leva em consideração que as observações de um mesmo paciente são mais semelhantes entre si do que as observações de pacientes diferentes e incorpora isso na análise. Na MLM observações faltantes (p.ex. um paciente que não tenha dados no

momento) não levam a exclusão do caso (como acontecia com a ANOVA). Além disso, os efeitos de fatores externos podem ser incorporados no modelo analítico e seu impacto estatisticamente avaliado.

Os dados foram processados e analisados com o auxílio do software SPSS 17.0.

5 RESULTADOS

Os resultados serão apresentados de acordo com os objetivos do estudo.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

A partir de uma população de 150 pacientes com epilepsia, encaminhados diretamente por profissionais da área da saúde, principalmente neurologistas, ou avaliados após anúncio pela imprensa, foram selecionados os 13 pacientes submetidos ao protocolo completo.

Na Tabela 4 sumarizam-se os dados clínicos e demográficos da amostra em questão.

Tabela 4 - Dados clínicos e demográficos da amostra

Característica	n = 13
Sexo, n ^o (%)	
Feminino	5 (38,5%)
Masculino	8 (61,5%)
Idade, anos	
média±desvio-padrão	38,9±10,2
[mínimo a máximo]	[23 a 58]
Escolaridade, anos	
média±desvio-padrão	9,8±3,5
[mínimo a máximo]	[5 a 15]
Lateralização da EH	
Direita, n ^o (%)	5 (38,5%)
Esquerda, n ^o (%)	8 (61,5%)
Número de crises/mês	
mediana [mínimo a máximo]	
Basal	10 [1 a 200]
3 meses	1,6 [0 a 13]
6 meses	2 [0 a 9]

Fonte: Autor (2012). EH: Esclerose hipocampal.

O sexo masculino foi predominante (61,5%) e a escolaridade da maioria dos pacientes foi de 9,8 anos, o que corresponderia a ensino médio incompleto.

A idade média foi de 38,9 anos e a EH da maioria dos sujeitos foi à esquerda (61,5%).

A freqüência das crises ao longo do tempo foi diminuindo, com mediana no basal de 10 e após seis meses do transplante de células-tronco a mediana passou a ser 2.

5.2 EFEITO DO TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS-TRONCO DA MEDULA ÓSSEA NAS FUNÇÕES DE MEMÓRIA DE PACIENTES COM EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL MESIAL

Os resultados da amostra estudada, apresentados na Tabela 5, indicam um aumento significativo nos escores neuropsicológicos ao longo do tempo. Em seis dos sete testes utilizados, o acréscimo no escore médio obtido foi significativo e, em apenas um teste (WMS R visual imediato), o acréscimo apresentou significância estatística limítrofe (entre 5% e 10%).

Tabela 5 - Desempenho dos pacientes com ELT submetidos ao tratamento com células-tronco em testes de memória

Teste	Média global	Momento (meses)			P
		basal	3	6	
RAVLT imediato	-0,18±0,29	-0,89±0,35 ^a	-0,22±0,24 ^b	0,58±0,35 ^c	0,001
RAVLT tardio	-0,37±0,29	-0,73±0,34 ^a	-0,47±0,28 ^{a,b}	0,10±0,32 ^b	0,013
WMSR verbal imediata	-0,15±0,23	-0,45±0,25 ^a	-0,05±0,25 ^b	0,05±0,26 ^{a,b}	0,020
WMSR verbal tardia	-0,23±0,20	-0,68±0,21 ^a	-0,09±0,18 ^b	0,08±0,28 ^b	0,006
WMSR visual imediata	0,69±0,22	0,43±0,32	0,79±0,21	0,85±0,21	0,084
WMSR visual tardia	0,54±0,28	0,34±0,33 ^a	0,49±0,31 ^{a,b}	0,78±0,25 ^b	0,027
Figura de Taylor	0,62±0,31	0,09±0,31 ^a	0,77±0,35 ^b	1,00±0,32 ^b	0,008

Dados apresentados como média±erro-padrão. ELT: epilepsia de lobo temporal; RAVLT: Aprendizado de memória verbal de Rey/*Rey Auditory verbal learning test*; WMSR: Escala de memória Wechsler revisada; P: significância estatística obtida em modelo misto para medidas repetidas. Letras-índice não coincidentes representam diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) teste *post-hoc* de Bonferroni.

Fonte: Autor (2012).

Os mesmos resultados também são apresentados graficamente na Figura 6, a fim de especificar o sentido da mudança.

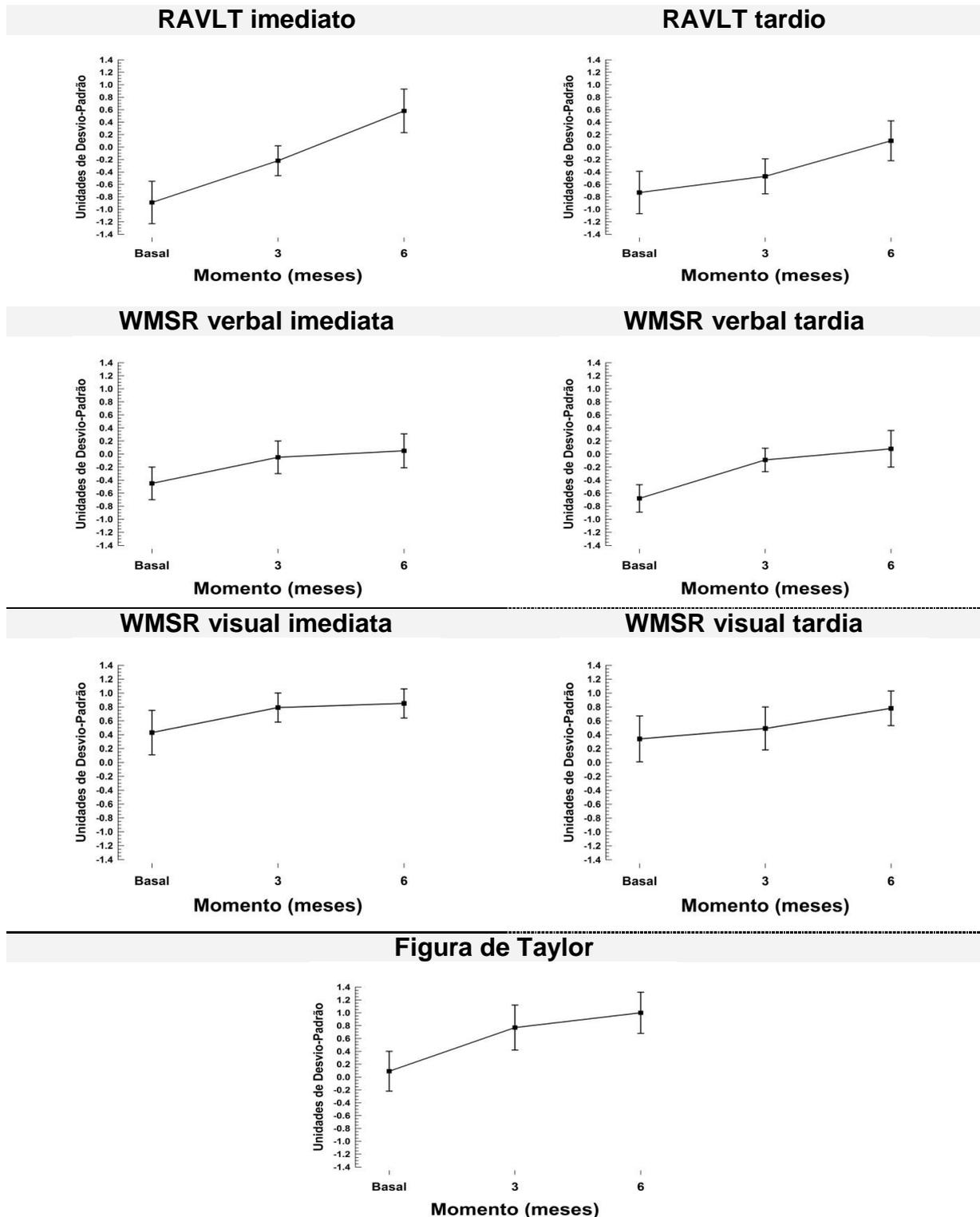


Figura 6: Desempenho dos pacientes com ELT e submetidos ao tratamento com células-tronco em testes de memória (n=13).
Fonte: Autor (2012).

5.3 IMPACTO DE VARIÁVEIS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS SOBRE AS FUNÇÕES DE MEMÓRIA

Com finalidade de gerar hipóteses, considerando a limitação de se avaliar inúmeras variáveis em uma amostra reduzida de pacientes (HAYNES *et al.*, 2008), decidimos fazer alguns cruzamentos para avaliar o impacto de variáveis importantes sobre as funções de memória dos pacientes com ELT submetidos ao transplante de células-tronco.

Os resultados dos testes neuropsicológicos foram correlacionados com variáveis clínicas e demográficas para gerar hipóteses a serem confirmadas em um grupo amostral maior e nortear estudos futuros.

5.3.1 Impacto do momento (basal, 3 e 6 meses) e freqüência das crises sobre o desempenho em testes de memória (variáveis selecionadas)

Em relação ao momento do estudo (basal, 3 meses e seis meses), foi verificado que quanto maior o tempo pós transplante de CTMO, maior é o desempenho nos testes de memória. Neste sentido, pode-se verificar significância estatística em seis dos sete testes utilizados (Tabela 6).

Quanto à freqüência de crises, obtivemos significância estatística em três dos sete testes utilizados. No RAVLT tardio, verificou-se que quanto maior o número de crises, maior o desempenho cognitivo. Contrastando com este achado, no WMS-R visual imediato e tardio, verificou-se que quanto maior o número de crises menor o desempenho com funções de memória (Tabela 6).

Tabela 6 - Impacto de duas variáveis selecionadas sobre o desempenho em testes de memória dos pacientes submetidos ao tratamento da ELT com células-tronco

	Momento	Frequência de crises
RAVLT imediato	b = 1,33 P = 0,003	b = -0,01 P = 0,154
RAVLT tardio	b = 1,0 P = 0,003	b = 0,01 P = 0,030
WMSR verbal imediata	b = 0,65 P = 0,005	b = 0,01 P = 0,319
WMSR verbal tardia	b = 0,84 P = 0,011	b = 0,01 P = 0,656
WMSR visual imediata	b = 0,03 P = 0,839	b = -0,01 P < 0,001
WMSR visual tardia	b = 0,16 P = 0,047	b = -0,01 P < 0,001
Figura de Taylor	b = 0,03 P = 0,002	b = 0,01 P = 0,795

(n=13). ELT: epilepsia de lobo temporal; RAVLT: Aprendizado de memória verbal de Rey/Rey *Auditory verbal learning test*; WMSR: Escala de memória Wechsler revisada; b: coeficiente angular obtido em modelo linear misto para medidas repetidas; P: significância estatística.

Fonte: Autor (2012).

5.3.2 Impacto das variáveis sobre o desempenho em testes de memória

Os resultados expostos na Tabela 7 revelam os seguintes achados com significância estatística (em relação a cada teste):

RAVLT imediato

- Quanto maior o tempo pós transplante de CTMO, maior é o desempenho nos testes de memória;
- Sexo feminino apresentou menor desempenho nos testes de memória (significância estatística limítrofe).
 - Quanto maior a idade, maior o desempenho de memória;
 - Quanto maior a ansiedade (mais sintomas de ansiedade/maior gravidade), menor o desempenho de memória;

- Quanto maior a frequência de crises, menor o desempenho de memória.

WMS-R verbal imediata:

- Quanto maior o tempo pós transplante de CTMO, maior é o desempenho nos testes de memória;
- Sexo feminino apresentou menor desempenho nos testes de memória;
- Pacientes com EH direita apresentaram maior desempenho nos testes de memória;
- Quanto maior a idade, maior o desempenho de memória;
- Quanto maior o tempo de estudo (anos de estudo), maior o desempenho de memória.

WMS-R visual imediata:

- Quanto maior a depressão (mais sintomas de depressão/maior gravidade); menor o desempenho de memória;
- Quanto maior a frequência de crises, menor o desempenho de memória.

WMS- R visual tardia:

- Quanto maior a depressão (mais sintomas de depressão/maior gravidade); menor o desempenho de memória (significância estatística limítrofe);
- Quanto maior a frequência de crises, menor o desempenho de memória.

Figura de Taylor:

- Quanto maior o tempo pós transplante de CTMO, maior é o desempenho nos testes de memória;
- Pacientes com EH direita apresentaram menor desempenho nos testes de memória - significância limítrofe;
- Quanto maior a depressão (mais sintomas de depressão/maior gravidade) menor o desempenho de memória.

Tabela 7 - Impacto de variáveis sobre o desempenho em testes de memória dos pacientes submetidos ao tratamento da ELT com células-tronco (n=13)

TESTES		MOMENTO	SEXO MASC.	LADO ESQ. (EH)	IDADE	BDI	BAI	ANOS DE ESTUDO	FREQÜÊNCIA DE CRISES
RAVLT imediato	b	1,32	1,04	-0,45	0,11	0,01	-0,01	0,01	-0,01
	P	0,001	0,076	0,102	<0,001	0,549	0,029	0,742	0,002
RAVLT tardio	b	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC
	P								
WMSR verbal imediata	b	0,57	1,87	-1,06	0,07	-0,01	-0,01	0,23	0,01
	P	0,008	0,010	0,037	0,027	0,347	0,629	0,008	0,227
WMSR verbal tardia	b	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC	MSC
	P								
WMSR visual imediata	b	-0,06	-0,31	0,41	-0,01	-0,21	-0,01	0,06	-0,01
	P	0,673	0,601	0,370	0,978	0,022	0,979	0,368	0,001
WMSR visual tardia	b	0,01	-0,63	0,95	-0,03	-0,02	-0,01	-0,08	-0,01
	P	0,592	0,410	0,114	0,499	0,061	0,560	0,330	0,004
Figura de Taylor	b	1,01	-0,05	1,51	0,01	-0,04	0,03	0,01	0,01
	P	0,004	0,909	0,094	0,699	0,014	0,136	0,776	0,172

ELT: Epilepsia de lobo temporal; RAVLT: Aprendizado de memória verbal de Rey/*Rey Auditory verbal learning test*; WMSR: Escala de memória Wechsler revisada; b: coeficiente angular obtido em modelo linear misto para medidas repetidas; P: significância estatística; MSC: modelo sem convergência.

Fonte: Autor (2012).

6 DISCUSSÃO

Porque estudar novas terapêuticas?

O século XXI acompanha um desdobramento impressionante e promissor para o tratamento de doenças até então incuráveis pelos métodos disponíveis na medicina clínica e cirúrgica: *o uso de células-tronco para regenerar órgãos e tecidos antes considerados irreparáveis*. Sua relevância é indiscutível visto que renova as expectativas e esperanças daqueles que tem sua qualidade de vida comprometida ou sua vida em risco pela presença de uma doença com terapêutica limitada.

Em relação à epilepsia, muitos avanços foram alcançados nas últimas décadas no desenvolvimento de DAEs. No entanto, um número significativo de pessoas não tem obtido a resposta almejada com o uso destas medicações. Salienta-se, ainda, o fato de pacientes com epilepsias crônicas, particularmente aqueles com ELT, apresentarem deterioro da memória e das habilidades cognitivas e a relação existente entre estas alterações e a duração da patologia (HELMSTAEDTER e KURTHEN, 2001; HELMSTAEDTER *et al.*, 2003). Também é importante ressaltar o alto risco de morte súbita e a restrição do tratamento cirúrgico à pacientes com epilepsia refratária, considerando que algumas formas de epilepsia, mesmo sendo refratárias, não são passíveis de tratamento cirúrgico. Estes aspectos reafirmam a importância de um estudo como este, que busca estratégias terapêuticas menos invasivas e que possibilitem o tratamento da epilepsia a um número maior de pessoas.

Inúmeros estudos com animais de experimentação impulsionaram grupos de diversos centros a iniciar estudos clínicos com transplante de CT em várias doenças, particularmente as doenças cardiovasculares e neurológicas (BANG *et al.*, 2005; DE PAULA *et al.*, 2005; HAAS *et al.*, 2005; KODA *et al.*, 2005; VENTURIN, 2008). Em neurologia, evidências sobre a capacidade das células da medula óssea diferenciarem-se em células neurais e gliais *in vitro* e *in vivo* (MEZEY *et al.*, 2000;

CORTI *et al.*, 2004), levaram ao desenvolvimento de terapias autólogas em humanos tendo a medula como fonte de CT (MIMEAULT e BATRA, 2006).

A escolha da MO como fonte de células-tronco em nosso estudo evita duas grandes controvérsias relativas ao uso de células-tronco embrionárias: a questão ética envolvendo o uso das células derivadas de embrião e o potencial tumorigênico das mesmas (CARRION *et al.*, 2010). Além disso, evidências indicam que células-tronco, possivelmente originadas da medula óssea, circulam no sangue periférico e se dirigem para tecidos lesados tanto no contexto de doenças hematológicas quanto não hematológicas (MOTA *et al.*, 2005).

Além de todos estes atributos, as CTMO são obtidas de maneira relativamente fácil e propiciam a realização de transplante autólogo, evitando o risco de rejeição presente no transplante alogênico.

Quanto à forma de acesso para o transplante, este foi realizado via cateter a partir de arteriografia seletiva de artéria cerebral posterior e mostrou-se adequado para o alcance da área desejada. Nenhum efeito adverso significativo foi registrado durante o transplante e nas horas subseqüentes. Salienta-se que este procedimento é realizado desde 1993 no Programa de Cirurgia da Epilepsia, contabilizando anos de experiência e aperfeiçoamento da equipe, propiciando maior segurança.

Este é o primeiro estudo, que se tem conhecimento, a avaliar o transplante autólogo de células-tronco mononucleares de medula óssea em pacientes com epilepsia refratária ao tratamento medicamentoso. Trata-se de um estudo em “fase 1”, isto é, posterior àqueles realizados em laboratórios com animais de experimentação (fase pré-clínica). O objetivo principal deste tipo de estudo foi avaliar a segurança do procedimento investigado, mas buscou-se conhecer, também, os efeitos sobre as funções de memória. A exequibilidade do método em um grupo reduzido de pacientes foi alcançada com segurança (CARRION *et al.*, 2010).

A seguir, discutiremos os dados referentes às funções de memória.

Efeito do transplante autólogo de células-tronco da medula óssea nas funções de memória de pacientes com epilepsia do lobo temporal mesial

Nesta série de pacientes evidenciou-se melhora das funções de memória verbal e visual no período pós-transplante de células-tronco (Tabela 5). Trata-se de uma prova de conceito, sendo necessária a continuidade do estudo (fase II e III)

para que se possa separar efeitos não específicos (efeito de Hawthorne, placebo e aprendizado), dos efeitos do tratamento.

No entanto, os resultados obtidos neste momento são bastante favoráveis, principalmente quando comparados à literatura neuropsicológica sobre o desempenho de pacientes submetidos à cirurgia para tratamento da epilepsia. De fato, Azambuja (2005) ao estudar a variação no desempenho de memória antes e após o procedimento cirúrgico (lobectomia temporal e amigdalohipocampectomia seletiva) em indivíduos com ELT, evidenciou que o desempenho nos testes de memória verbal sofreu uma pequena redução após a realização de cirurgia com as duas técnicas cirúrgicas (AZAMBUJA, 2005).

Azambuja (2005) revela, por outro lado, que o desempenho nos testes de memória visual apresentou um acréscimo no período pós-operatório independentemente do lado operado (AZAMBUJA, 2005). Em nosso estudo, observamos um acréscimo nas funções de memória tanto verbal quanto visual, sugerindo que o tratamento com células-tronco é menos impactante no funcionamento cognitivo que o tratamento cirúrgico.

No procedimento cirúrgico, síndromes de amnésia global são raras, mas perdas não tão graves são bastante comuns, principalmente para material verbal, onde se estima que 45% dos pacientes submetidos à ressecção do hemisfério dominante mostram decréscimos em suas funções de memória (PORTUGUEZ, 1998b).

Salienta-se, no entanto, que isto não é regra, visto que estudos (WACHI *et al.*, 2001) relatam que as funções cognitivas permanecem estáveis ou podem melhorar após a cirurgia. De fato, a literatura não esgotou esta questão, e mesmo que a maioria dos estudos relate perdas significativas de memória (HELMSTAEDTER *et al.*, 2004), os mesmos autores salientam que os ganhos e benefícios são também numerosos e devem ser considerados.

Se pensarmos que em um procedimento cirúrgico a base é a “cura” pela ressecção e que a terapia celular busca a regeneração, parece lógico, em um primeiro momento, pensarmos que a ablação, mesmo de uma estrutura “doente”, acarrete em maior prejuízo funcional que uma técnica que busque a regeneração.

Este aspecto encontra respaldo em outro estudo realizado em nosso centro que compara duas técnicas cirúrgicas em relação ao controle das crises e a memória verbal tardia. Os autores sugerem que a técnica que preserva as estruturas

neocorticais poderia estar relacionada à um declínio menor da memória no período pós-operatório, em comparação a técnica que retira estas estruturas (PAGLIOLI-NETO, 2005), isto é, “poupar” a estrutura é importante para a função.

Existe concordância geral de que os hipocampos e os lobos temporais são centrais na determinação das funções de memória (PORTUGUEZ, 1998b; HELMSTAEDTER *et al.*, 2004; DA COSTA, 2006; IZQUIERDO, 2011). Porém, existem atualmente duas correntes de pensamento em relação à riscos no decréscimo das capacidades de memória, após lobectomia temporal. O modelo tradicional sugere que os déficits de memória pós-cirúrgicos dependem da capacidade ou reserva funcional do lobo temporal contralateral para manter as funções de memória (modelo da reserva funcional do hipocampo). O outro modelo de funcionamento da memória no hipocampo é mais novo e menos estudado, podendo ser descrito como um modelo de “adequação” ou capacidade funcional do hipocampo ipsilateral ao procedimento cirúrgico. Nesse modelo, os déficits de memória pós cirúrgicos são dependentes da capacidade funcional de memória de parte do tecido ressecado (PORTUGUEZ, 1998b; PAGLIOLI-NETO, 2005). Neste sentido, ressecar, mesmo que o mínimo, parece trazer mais riscos funcionais (memória) que outras técnicas menos invasivas, como o uso de CT.

Nossa intenção, não é, em hipótese alguma, comparar neste momento do estudo, técnicas diferentes. No entanto, a escassez de bibliografia em humanos utilizando células-tronco, nos oferece esta alternativa.

Uma maior investigação é necessária para que se possa esclarecer se estes aspectos (melhora da memória) se mantêm em um grupo maior de pacientes submetidos ao transplante de CT.

Outro questionamento pode ser feito para determinar o quanto as mudanças cognitivas produzem impacto na qualidade de vida desses pacientes e o quanto são impactadas por variáveis clínicas e demográficos, bem como por aspectos psicossociais.

Os pacientes com epilepsia refratária ao tratamento medicamentoso são, em geral, dependentes dos familiares e têm uma baixa qualidade de vida. São muitas as conseqüências cognitivas, emocionais, físicas e sociais das crises epiléticas refratárias. Além disso, o uso de medicação em doses máximas acarreta efeitos colaterais consideráveis.

Em nosso estudo, algumas variáveis foram consideradas a fim de gerar

hipóteses para futuros estudos, conforme descrito a seguir.

Impacto de variáveis selecionadas sobre as funções de memória

Certamente, há a interferência de vários componentes que, de forma direta ou indireta, podem influenciar o desempenho cognitivo dos pacientes com ELT submetidos ao transplante de CT, como freqüência das crises, medicações em uso, condições sócio-educacionais e atividade profissional. A dinâmica desses elementos torna extremamente complexa a tentativa de isolamento de qualquer uma dessas variáveis, principalmente em um estudo clínico “fase I”. Desta forma, selecionamos duas variáveis consideradas mais relevantes (momento e freqüência das crises – Tabela 6) para serem analisadas nesta etapa da pesquisa, como descrito a seguir.

Momento

Em relação ao momento do estudo (basal, 3 e 6 meses), foi verificado que quanto maior o tempo após o transplante de CTMO, maior é o desempenho nos testes de memória. Neste sentido, pode-se verificar significância estatística ($p < 0,05$) em seis dos sete testes utilizados (Tabela 6).

No entanto, é importante ressaltar que não existem evidências suficientes para se discutir a melhora observada nas funções de memória associada ao passar do tempo (período de observação). Embora os resultados sugiram essa interpretação não se sabe, entretanto, se essa melhora irá se manter estável, se irá aumentar ou se haverá um retorno à condição anterior. Isso reforça a necessidade de se estenderem esses estudos, permitindo a continuidade das observações em períodos mais longos após a intervenção, como apresentado no item “perspectivas futuras”. Este aspecto é reforçado por resultados obtidos em estudos utilizando terapia gênica em pacientes com angina refratária onde a melhora foi transitória (entre 3 e 6 meses após a intervenção) (EIBELI *et al.*, 2011) retornando à condição basal de prejuízo funcional nos meses subseqüentes. Da mesma forma, uma revisão recente sobre transplante celular em AVC isquêmico, sugere que não existem estudos suficientes sobre transplante de CT e que é muito cedo para saber se essa intervenção pode melhorar o desempenho funcional dos pacientes envolvidos

(BONCORAGLIO *et al.*, 2010). Estes autores salientam, também, que estudos maiores e bem desenhados são necessários.

Freqüência das crises

Quanto à freqüência de crises, obtivemos significância estatística em três dos sete testes utilizados, conforme descrito a seguir. Postulamos que a freqüência das crises é relevante não só pelos efeitos diretos da atividade epileptogênica, mas também pelos efeitos indiretos, como impacto psicossocial associado à epilepsia, em especial nos pacientes refratários.

No WMS-R visual imediato e tardio verificou-se que quanto maior o número de crises menor o desempenho com funções de memória.

Os dados obtidos sugerem que as crises epiléticas exercem algum tipo de comprometimento no processamento da memória dos pacientes, estando de acordo com a literatura sobre epilepsia e memória. Neste sentido, é importante retomar algumas contribuições das epilepsias para a neuropsicologia.

Em estudos realizados ao longo dos últimos anos, pacientes com epilepsia responderam a testes neuropsicológicos antes e depois de utilizarem novas drogas ou se submeterem a procedimentos cirúrgicos. Revelaram, assim, que as funções cognitivas, principalmente memória e atenção, sofrem com as drogas antiepiléticas (THOMPSON, 1992) e com a alta freqüência de crises (MADER, 2001).

Especificamente sobre as crises epiléticas, a literatura refere que quanto maior a freqüência de crises maior é a probabilidade de comprometimento do funcionamento intelectual (MADER, 2001). As descargas epileptiformes, mesmo que sub-clínicas, interferem no funcionamento cognitivo.

Uma das explicações para tal relação leva em consideração a questão anatômica, referindo que memória e crises epiléticas “são processadas”, pelo menos parcialmente, pela mesma área cerebral - o lobo temporal. Cabe lembrar que esta estrutura abrange o hipocampo, responsável pelo processamento da memória.

No RAVLT tardio, no entanto, verificou-se que quanto maior o número de crises, maior o desempenho cognitivo. Contrastando com a literatura, este dado não apresenta explicações no momento. De fato, achados incongruentes podem ser

obtidos, devido ao elevado número de variáveis neuropsicológicas analisadas em relação ao tamanho da amostra. Apesar da dificuldade de se isolar variáveis em uma amostra pequena, é importante salientar que o esforço para se compreender as possíveis relações entre condição epiléptica e atividade mnemônica é bastante pertinente, no momento em que se busca gerar hipóteses e aperfeiçoar protocolos de avaliação para futuros estudos, como fizemos nesta pesquisa.

Embora o estudo consista da avaliação de um processo psíquico específico (memória) a atividade mental configura-se como uma totalidade indivisível. A partir de uma visão compreensiva do paciente epiléptico, admite-se que os processos psíquicos relacionam-se reciprocamente. Assim, a qualidade da memória, por um lado, depende particularmente da capacidade de concentração e de atenção. E, por outro, ela oferece elementos para o conteúdo do pensamento lógico. Vários estudos têm mostrado a interação destes processos psíquicos com a memória em pacientes com ELT, e são perspectivas do estudo em questão.

Variáveis potencialmente modificadoras de resposta

Embora nenhuma destas variáveis (Tabela 7) tenha impactado em todos os testes aplicados, elas foram discutidas para embasar estudos futuros e especificado, ao lado da variável, o teste onde se observou significância estatística.

Ansiedade

Quanto maior a ansiedade (mais sintomas de ansiedade/maior gravidade), menor o desempenho de memória – Observado no teste RAVLT;

Como referido anteriormente, a ansiedade é definida como um estado em que ocorrem sentimentos de temor associados a sinais somáticos de hiperatividade do sistema nervoso autônomo. Os efeitos desta em termos cognitivos têm sido descritos por estudiosos que são referência no estudo da memória. Izquierdo (2004), por exemplo, refere que as doenças acompanhadas de alterações emocionais podem, em princípio, alterar a memória. Neste sentido, os dados obtidos neste estudo, são condizentes com a literatura da área.

Focalizando nos processos cognitivos que estão “por trás” deste baixo rendimento na presença de ansiedade, pode-se pensar que esta manifesta-se

através de pensamentos intrusivos que afetam e desestabilizam a capacidade do sujeito de se concentrar numa tarefa. Na clínica psicológica, não faltam evidências de pensamentos suscitados em momentos de ansiedade que tornam o sujeito vulnerável ao insucesso. Segundo esta abordagem, a ansiedade absorve parte do potencial cognitivo, levando o indivíduo a resolver uma tarefa privado de parte dos seus recursos.

Em suma, é possível que pessoas mais ansiosas se esqueçam com maior frequência. Também é plausível que pessoas que esqueçam com maior frequência desenvolvam sintomas de ansiedade associados ao temor de desenvolver alguma incapacidade cognitiva. O desenho deste estudo não permite conclusões sobre a direção de causalidade dessa relação, que poderá ser investigada em estudos longitudinais futuros.

Depressão

Quanto maior a depressão (mais sintomas de depressão/maior gravidade) menor o desempenho de memória - Observado no teste WMS-R visual imediato e tardio e figura de Taylor.

Como fundamentado nas seções anteriores deste estudo, dificuldades para concentrar-se, pensamentos negativos, falta de esperança, auto-acusação, auto-depreciação, visão pessimista do mundo, baixa auto-estima, alterações da memória e de aprendizagem, diminuição da atenção e pensamentos suicidas estão entre as alterações cognitivas mais comuns associadas à depressão (ZORZETTO FILHO, 2009).

Pesquisadores têm documentado que pacientes diagnosticados com depressão maior podem apresentar comprometimento em várias habilidades cognitivas, o que está de acordo com o evidenciado no presente trabalho. A incidência de transtornos psiquiátricos, e de forma mais marcante de ansiedade e depressão, nos pacientes com epilepsia é significativamente mais alta que na população geral. Depressão e epilepsia podem compartilhar mecanismos patogénéticos que facilitarão a ocorrência de um na presença do outro. É freqüentemente possível encontrar uma concordância cronológica na ocorrência de episódio depressivo e a primeira crise epiléptica, sendo quatro vezes mais provável

encontrar depressão em pacientes com epilepsia em comparação com pessoas sem história de epilepsia. Apesar da associação dessas duas entidades clínicas ser já bastante documentada, vê-se na prática clínica uma demora injustificável em se tratar os transtornos de humor nos indivíduos com epilepsia. Sabendo-se do efeito negativo da sintomatologia depressiva sobre o funcionamento cognitivo de pessoas com epilepsia refratária (que freqüentemente já apresentam queixas de memória), fica evidenciada a importância do tratamento concomitante da depressão nesses pacientes para minimizar o impacto desta sobre o funcionamento cognitivo e psicossocial.

Anos de estudo

Quanto maior o tempo de estudo (anos de estudo), maior o desempenho de memória – Observado no WMS-R verbal imediata.

Não há estudos na literatura internacional sobre esta relação entre escolaridade e funções de memória, provavelmente devido à baixa variação do nível de escolaridade nos países desenvolvidos, onde se concentram o maior número dos centros de epilepsia.

Nosso achado pode ser comparado e corroborado com uma pesquisa prévia (PORTUGUEZ, 1998b) que investigou as funções de memória após a lobectomia temporal em 31 pacientes e observou que apenas 9% dos pacientes com prejuízo nas funções de memória verbal atingiram nível de escolaridade superior, em contraste com 83% dos pacientes sem prejuízo nas funções de memória verbal. Isso poderia sugerir que alterações nas funções de memória verbal se relacionam com nível mais baixo de escolaridade, isto é, comprometem o aprendizado.

Outra hipótese reside na possibilidade do desempenho acadêmico estar sofrendo a interferência de outros componentes que, de forma direta ou indireta, podem influenciar o rendimento dos pacientes, como tempo de duração e freqüência das crises, medicações em uso, gravidade das crises, bem como aspectos sócio-educacionais. A baixa expectativa dos professores e dos pais que estimam como pobres as chances da criança na escola, a baixa auto-estima, a rejeição de colegas e professores, mitos e preconceitos associados à epilepsia são fortes determinantes de baixo rendimento escolar, e levam, muitas vezes, ao abandono da escola.

Lateralização hemisférica da Esclerose hipocampal

Pacientes com EH direita apresentaram maior desempenho nos testes de memória - Observado no WMS-R verbal imediata.

Quando as crises têm origem no lobo temporal esquerdo, a perturbação atinge o armazenamento de informações verbais; e quando o acometimento origina-se no lobo temporal direito, o distúrbio reflete-se na retenção de informações visuais, sugerindo que a manifestação de déficit de memória em indivíduos com epilepsia refratária, está associada ao comprometimento estrutural. No caso de pacientes com EH à esquerda, a lesão está neste hemisfério, portanto não surpreende o fato destes obterem menor desempenho em testes verbais, isto é, que avaliam funções do hemisfério esquerdo ou, dizendo de outra forma, que ao pacientes com EH direita apresentem maior desempenho nestes testes. Estes resultados corroboram com a teoria da simples concordância postulada por Fuentes *et al.*, (2006), na qual o processamento de informações de cunho verbal é estritamente dependente das porções de lobo temporal esquerdo, enquanto que as capacidades visuais são menos dependentes dessas regiões, mas não necessariamente atreladas ao lobo temporal direito (FUENTES *et al.*, 2006; FUENTES *et al.*, 2008).

Este raciocínio nos mostra a inter-relação entre prejuízo funcional e dano estrutural, importante objeto de estudo da neuropsicologia convencional. Se a lesão é à direita, o prejuízo é também à direita, isto é, com memória visual, pois as funções verbais estão, a priori, preservadas. Da mesma forma, se o prejuízo é à esquerda, o déficit é com funções verbais, estando preservadas as funções visuais.

Resultados funcionais após ressecção cirúrgica para controle de crises epilépticas reforçam a relação acima. Azambuja (2005), em um estudo sobre funções de memória após cirurgia da epilepsia, coloca que quando a ressecção foi realizada no hemisfério cerebral esquerdo ocorreu um impacto negativo maior no desempenho de memória verbal imediata e tardia (AZAMBUJA, 2005). Salienta-se, que pelo fato de o hemisfério esquerdo ser o dominante para as funções de linguagem e, portanto, o hemisfério mais especializado, os prejuízos cognitivos são maiores do que os observados em pacientes com ressecção à direita (PORTUGUEZ, 1998b; HELMSTAEDTER *et al.*, 2004).

Neste sentido, nossos achados estão de acordo com estudos prévios, os quais freqüentemente associam ressecções no lobo temporal esquerdo com o declínio no aprendizado verbal e na habilidade de recordar tais conteúdos.

Da mesma forma, pacientes com EH direita apresentaram menor desempenho nos testes de memória (significância limítrofe) visual (Figura de Taylor); Embora os dois hemisférios cerebrais trabalhem de maneira conjunta e complementar, existem diferenças no que se refere ao processamento dos vários tipos de estímulos. O hemisfério esquerdo é responsável pelo pensamento analítico e racional, funções verbais e matemáticas, além da compreensão dos sentidos das palavras (semântica). Já o hemisfério direito é responsável pela memória visual capacidade visuo-espacial, padrões sintéticos e intuitivos de pensamento, capacidade artística, entre outros (DA COSTA, 2006). Assim, qualquer dano no hemisfério direito pode, a princípio, prejudicar o funcionamento da memória visual. Estes dados não nos causam surpresa, visto que embasam toda a interpretação dos achados neuropsicológicos na determinação da lateralidade da disfunção cerebral.

Idade

Quanto maior a idade, maior o desempenho de memória - *Observado no RAVLT imediato e WMS-R verbal imediata.*

A maioria dos estudos disponíveis na literatura neuropsicológica referente à epilepsia aborda a influência da “*idade de início das crises*” e não “*a idade cronológica atual*” no desempenho de pacientes com ELT.

Se espera que com o passar dos anos haja um declínio funcional associado ao envelhecimento. Nossas capacidades cognitivas já começam a declinar por volta dos 45 anos (SINGH-MANOUX *et al.*, 2012), no entanto, um cérebro com epilepsia refratária provavelmente envelhece diferente, considerando-se os aspectos da epilepsia ligados ao desenvolvimento e envelhecimento cerebral (embriogênese, aspectos eletroencefalográficos e desequilíbrio entre mecanismos excitatórios e inibitórios).

A literatura traz que a epilepsia crônica pode resultar em declínio cognitivo devido ao não controle das crises, à existência de anormalidade neurobiológica e aos efeitos adversos das DAEs. O uso crônico de DAEs constitui causa bem documentada (DE ALMEIDA *et al.*, 2009) de declínio cognitivo em pacientes com

epilepsia, no entanto, são escassos os estudos longitudinais que investiguem detalhadamente estes aspectos.

Algumas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de caracterizar a extensão e a natureza do comprometimento cognitivo decorrente da epilepsia crônica e referem que o declínio é evidente em múltiplos domínios cognitivos (GRIFFITH *et al.*, 2006). No entanto, as conclusões até o momento referem que a duração da epilepsia parece ser o maior fator preditivo do comprometimento cognitivo (GRIFFITH *et al.*, 2006; SEIDENBERG *et al.*, 2007), por isto a preocupação com a idade de início e não com a idade cronológica ou envelhecimento.

Neste sentido, nossos resultados não encontram respaldo ao que já está documentado, visto que sugerem que quanto mais maduro o sujeito melhor seu desempenho de memória. No entanto, não é descartada a possibilidade de que indivíduos mais velhos possam ter desenvolvido mecanismos de enfrentamento e adaptação ao quadro clínico (epilepsia) e cognitivo e que isto possa ser importante para o desempenho em testes de memória. Alguns desses processos são inconscientes, outros são comportamentos aprendidos ou habilidades que dominamos conscientemente, a fim de reduzir o estresse, ou outras vivências intensas como a depressão. Talvez a experiência nos prepare para as dificuldades ou adversidades, isto é, aprendemos os mecanismos de adaptação à medida que avançamos na vida. Salienta-se, que nem todos os mecanismos de enfrentamento são igualmente benéficos, e alguns realmente podem ser prejudiciais ou insalubres.

Sexo

Sexo feminino apresentou menor desempenho nos testes de memória - Observado no RAVLT imediato e WMS-R verbal imediata.

Verifica-se na literatura sobre diferenças cognitivas entre os sexos, que o sexo masculino apresenta resultados inferiores ao sexo feminino na maioria das provas de memória, anulando-se esta diferença quando as provas usadas controlam os efeitos do componente verbal (KIMURA, 2000), o que não foi observado neste estudo.

As produções científicas em neuropsicologia parecem indicar que os homens apresentam maior facilidade em operar informações que envolvem habilidades visoespaciais, de raciocínio matemático e de raciocínio mecânico; enquanto que as

mulheres parecem mostrar maior facilidade em tarefas relacionadas a habilidades verbais e velocidade perceptual. No entanto, mesmo nos testes verbais, as mulheres do estudo em questão apresentaram pior *performance* quando comparadas aos homens.

Uma das explicações para este achado reside no fato de clinicamente (frequência de crises) as mulheres serem mais comprometidas que os homens. Isto é, no início fizemos um levantamento dos 3 sujeitos com maior número de crises (basal) e se verificou que destes três, duas eram mulheres e que a frequência de crises era bastante superior (sujeito 1: masculino, 30 crises/mês; sujeito 2: feminino, 150 crises/mês; sujeito 3: feminino, 200 crises/mês). Se considerarmos que as crises ocorrem na mesma estrutura responsável pela memória, este fato justificaria o baixo desempenho das mulheres. Outro aspecto interessante é em relação à amostra.

Como nossa amostra é pequena, e a maioria dos sujeitos são homens, estas diferenças provocam impacto no resultado estatístico final. Além disso, trata-se de uma amostra por conveniência, que embora seja vantajosa em termos de seleção e coleta de dados (relativamente fácil), é menos precisa em termos de representatividade da população. Desta forma, devemos ser cuidadosos ao interpretar os resultados obtidos para fazer inferências sobre populações. Pretendemos, assim, aumentar o tamanho da amostra e com isto aumentar a precisão desta estimativa, como já descrito em “perspectivas futuras”.

A melhora alcançada: Mecanismos envolvidos

O estudo de terapias com células-tronco no reparo de tecidos ou órgãos lesados em pacientes portadores de doenças crônico-degenerativas é bastante recente. Vários grupos publicaram evidências de diferenciação de células-tronco de medula óssea de animais adultos em cardiomiócitos, células neurais, hepatócitos dentre outras (BRAZELTON *et al.*, 2000; MEZEY *et al.*, 2000).

Estes achados apontam para uma mudança de paradigma visto que tecidos considerados pós-mitóticos (ou seja, sem capacidade regenerativa) poderiam ser reparados por células precursoras provenientes possivelmente da MO.

Seria pretensioso de nossa parte tentar definir os mecanismos envolvidos na melhora cognitiva de pacientes com ELT na primeira fase clínica do estudo. Além disso, os trabalhos envolvendo seres humanos publicados até o presente são

consideravelmente heterogêneos do ponto de vista metodológico, quando comparado aos estudos em animais. Por exemplo, as CT nestes trabalhos têm sido obtidas de fontes variadas, os protocolos de separação e manipulação das células pós-coleta e os métodos de implantação das CT também têm sido bastante diferentes, o que dificulta a comparação entre os achados.

As evidências preliminares sugerem que esta nova modalidade terapêutica poderá ser usada em uma vasta gama de doenças crônico-degenerativas, muitas das quais com opções terapêuticas limitadas, como as epilepsias refratárias.

Considerando que aproximadamente 1/3 dos pacientes com epilepsia são refratários ao tratamento medicamentoso e, portanto existe necessidade de desenvolver terapêuticas alternativas surgiu o interesse no potencial terapêutico das células-tronco no tratamento das epilepsias refratárias, principalmente para aquelas que têm um curso progressivo pela freqüência de crises associada a politerapia.

Os primeiros dados obtidos pelo nosso grupo indicam que o transplante de células-tronco pode reduzir a freqüência de crises epilêpticas (CARRION *et al.*, 2010). De fato, existe a possibilidade de que as CT transplantadas possam ter reduzido a hiperexcitabilidade e as crises epilêpticas recorrentes. Confirmando essa idéia a epilepsia crônica induzida pelo modelo do lítiopilocarpina em ratos *wistar* adultos, mostrou que após o transplante de CTMO ocorreu uma redução do número de crises de cerca de 70% em relação aos animais que não receberam nenhum tipo de tratamento (VENTURIN, 2008). Quais os possíveis mecanismos envolvidos nessa melhora?

Embora tenha sido descrito que a fusão das células transplantadas com células situadas no sitio de lesão ou a transdiferenciação dessas CT em linhagens de tecido neural possam estar associadas às melhoras funcionais observadas, acredita-se que essa contribuição seja muito pequena. E que mais do que isso, as alterações do ambiente celular induzidas pelas células transplantadas e a secreção de fatores de crescimento ou mobilização de outras células endógenas também com capacidade de produzir citocinas, possam sim, ter contribuído para a melhora funcional observada nos pacientes transplantados. Sugere-se, desta forma, que as células mononucleares da medula óssea têm efeito neuroprotetor.

Embora ainda estejamos distantes de entender o mecanismo preciso pelo qual as células-tronco recuperam funções e estruturas lesadas, os estudos

publicados até o momento, vários destes envolvendo seres humanos, sugerem haver um benefício funcional real com esta terapia inovadora.

CONCLUSÕES

Com base nos objetivos do presente estudo, abaixo estão listadas as conclusões obtidas:

Objetivo 1) Avaliar funções de memória antes e após o transplante autólogo de células-tronco da medula óssea em pacientes com epilepsia do lobo temporal.

Conclusão: As funções de memória *antes e após* o transplante autólogo de células-tronco da medula óssea em pacientes com epilepsia do lobo temporal apresentaram-se diferentes em seis dos sete testes utilizados (com significância estatística – $p < 0,05$).

Objetivo 2) Verificar se existe melhora das funções de memória após o transplante autólogo de células-tronco da medula óssea em pacientes com epilepsia do lobo temporal

Conclusão: Observou-se melhora das funções de memória após o transplante autólogo de células-tronco da medula óssea em pacientes com epilepsia refratária do lobo temporal. Houve aumento significativo nos escores de memória ao longo do tempo, observado em seis dos sete testes utilizados.

Objetivo 3) Verificar o impacto dos sintomas depressivos e ansiosos sobre as funções de memória no período pré e pós transplante, a fim de gerar hipóteses para trabalhos futuros.?

Conclusão: Os sintomas depressivos e ansiosos no período pré e pós transplante de CT não impactaram, de maneira sistemática, no desempenho mnêmico dos pacientes. Evidenciou-se influência da ansiedade no teste RAVLT imediato e da depressão no WMS R visual imediato e tardio e na figura de Taylor.

Objetivo 4) Verificar o impacto das variáveis clínicas (frequência das crises e lateralização hemisférica da esclerose hipocampal) e demográficas (idade, sexo,

escolaridade) sobre as funções de memória no período pré e pós transplante, a fim de gerar hipóteses para trabalhos futuros.

Conclusão: Não se observou influência de grande magnitude (sistemática) de variáveis clínicas (frequência das crises e lateralização hemisférica da esclerose hipocampal) e sócio-demográficas (idade, sexo, anos de estudo/escolaridade) sobre as funções neuropsicológicas (memória).

A análise simultânea de todas essas variáveis revelou que os fatores que mais influenciaram a memória foram a frequência de crises e os sintomas de depressão.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A amostra de sujeitos deste trabalho foi adequada ao tipo de estudo realizado (Estudo clínico não controlado; Estudo antes e depois; Estudo clínico Intragrupo – Fase I) e, portanto, obtivemos resultados que se inserem na literatura da área, procurando manter um grau de exigência presente em pesquisas realizadas em centros de referência mundiais.

É importante destacar que um estudo como este, mesmo pretendendo estudar um número modesto de operações mentais, gera uma grande quantidade de dados, envolve um número considerável de profissionais (equipe de pesquisa), aspectos técnicos, físicos e operacionais, com os quais foi preciso lidar para que o mesmo pudesse ser executado.

Além disso, foi preciso adequar nosso cronograma à “rotina hospitalar”, o que nos trouxe alguns prejuízos de tempo na finalização do protocolo. Enfim, todo o estudo foi desenvolvido com grande persistência por parte da equipe.

É importante salientar, uma vez mais, que apesar de toda a experiência clínica e experimental de nosso grupo de pesquisa no estudo da epilepsia, é necessária certa cautela na interpretação de alguns resultados. O transplante de células-tronco não configura, neste momento, um tratamento que garante a cura. Os resultados trazidos pela literatura são promissores, mas variáveis na dependência de diversos fatores relacionados ao tipo de doença, estado do paciente, grau de compatibilidade, entre outros. Por isso, é preciso desenvolver mais pesquisas que estudem e avaliem todos estes aspectos.

Apesar de todas essas considerações, gostaríamos de finalizar lembrando que este estudo permitiu identificar, nesta amostra de pacientes com ELT, melhora na frequência das crises epilépticas (CARRION *et al.*, 2010) e melhora das funções de memória. Além disso, a vivência adquirida durante o desenvolvimento desta pesquisa, considerando “as condições que tínhamos e as que aprendemos a criar”, propiciou maior conhecimento deste método e incentivou o grupo de pesquisa em células-tronco a seguir se aperfeiçoando.

Dessa forma, a evolução científica, aliada ao desenvolvimento de novos paradigmas e a situações experimentais mais controladas bem como o refinamento dos métodos estatísticos de análise, permite prever que os resultados obtidos no presente estudo não se esgotam em si mesmos, mas “abrem caminho” para testar novas hipóteses de trabalho.

PESPECTIVAS FUTURAS

Nesse estudo apresentamos os resultados referentes ao desempenho cognitivo, em especial das funções de memória, dos pacientes com ELT submetidos ao transplante de células-tronco. Anteriormente, já haviam sido apresentados os resultados referentes aos critérios de segurança e factibilidade do método de transplante autólogo de células-tronco mononucleares de medula óssea em pacientes com ELT (CARRION *et al.*, 2010). De fato, nenhuma intercorrência ocorreu durante o procedimento e tempo de seguimento. Entretanto, estudos adicionais são necessários; assim, definimos algumas perspectivas:

- I. Analisar os resultados de todo o seguimento do estudo (fase I), isto é, com os 20 pacientes propostos, para a publicação dos resultados.
- II. Analisar os resultados de outras funções corticais superiores avaliadas durante o seguimento;
- III. Estender o tempo de seguimento para um ano (já aprovado pela FINEP);
- IV. Relacionar possíveis modificações do volume hipocampal (imagens estão sendo avaliadas), com as funções de memória;
- V. Ampliar o estudo (fase II) a fim de ajustar procedimentos e confirmar técnicas e efeitos;
- VI. Realizar um estudo clínico completo de fase III, com tamanho de amostra e poder suficientes para estabelecer ou refutar o benefício previsto pelo transplante de CT.
- VII. Investigar, em trabalhos futuros, o melhor momento para iniciar a terapia com CT em pacientes com ELT.
- VIII. Comparar o desempenho neuropsicológico de pacientes submetidos ao Transplante CTMO com o de pacientes que realizaram cirurgia da epilepsia.
- IX. Propor um protocolo semelhante utilizando CT do tecido adiposo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOUELFETOUH, A., KONDOH, T., EHARA, K. and KOHMURA, E. Morphological differentiation of bone marrow stromal cells into neuron-like cells after co-culture with hippocampal slice. *Brain Res*, v.1029, n.1, p.114-9, 2004.

ALESSIO, A., DAMASCENO, B.P., CAMARGO, C.H., KOBAYASHI, E., GUERREIRO, C.A., *et al.* Differences in memory performance and other clinical characteristics in patients with mesial temporal lobe epilepsy with and without hippocampal atrophy. *Epilepsy Behav*, v.5, n.1, p.22-7, 2004.

ALVAREZ-DOLADO, M. and MARTINEZ-LOSA, M. Cell fusion and tissue regeneration. *Adv Exp Med Biol*, v.713, p.161-75, 2011.

ALVAREZ-DOLADO, M., PARDAL, R., GARCIA-VERDUGO, J.M., FIKE, J.R., LEE, H.O., *et al.* Fusion of bone-marrow-derived cells with purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature*, v.425, n.6961, p.968-73, 2003.

ARAUJO, M.D. *Transplante autólogo de células tronco de medula óssea em pacientes com acidente vascular cerebral extenso.* (Dissertação). Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Pontifícia Universidade Católica do rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

AZAMBUJA, L.S. *Funções de memória após lobectomia temporal a terior e amigdalohipocampectomia seletiva: Um estudo comparativo.* (Dissertação). Programa de Pós-graduação em Neurociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

AZIZI, S.A., STOKES, D., AUGELLI, B.J., DIGIROLAMO, C. and PROCKOP, D.J. Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats--similarities to astrocyte grafts. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.95, n.7, p.3908-13, 1998.

BAKER, G.A., TAYLOR, J. and HERMANN, B. How can cognitive status predispose to psychological impairment? *Epilepsy Behav*, v.15 Suppl 1, p.S31-5, 2009.

BANG, O.Y., LEE, J.S., LEE, P.H. and LEE, G. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol*, v.57, n.6, p.874-82, 2005.

BJORKLUND, A. and LINDVALL, O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nat Neurosci*, v.3, n.6, p.537-44, 2000.

BLUME, W.T. Diagnosis and management of epilepsy. *CMAJ*, v.168, n.4, p.441-8, 2003.

BONCORAGLIO, G.B., BERSANO, A., CANDELISE, L., REYNOLDS, B.A. and PARATI, E.A. Stem cell transplantation for ischemic stroke. *Cochrane Database Syst Rev*, n.9, p.CD007231, 2010.

BOSSOLASCO, P., COVA, L., CALZAROSSA, C., RIMOLDI, S.G., BORSOTTI, C., *et al.* Neuro-glial differentiation of human bone marrow stem cells in vitro. *Exp Neurol*, v.193, n.2, p.312-25, 2005.

BRAZELTON, T.R., ROSSI, F.M., KESHET, G.I. and BLAU, H.M. From marrow to brain: Expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science*, v.290, n.5497, p.1775-9, 2000.

BUENO, O.F.A. and OLIVEIRA, M.G.M. Memória e amnésia. In: ANDRADE, V.M., SANTOS, F.H. and BUENO, O.F.A. (Ed.). *Neuropsicologia hoje*. São Paulo: Artes Médicas, v.1, 2004. p.474.

CAMPOS-CASTELLO, J. and CAMPOS-SOLER, S. [neuropsychology and epilepsy]. *Rev Neurol*, v.39, n.2, p.166-77, 2004.

CARRION, M.J., NUNES, M.L., MARTINEZ, J.V., PORTUGUEZ, M.W. and DA COSTA, J.C. Evaluation of sleep quality in patients with refractory seizures who undergo epilepsy surgery. *Epilepsy Behav*, v.17, n.1, p.120-3, 2010.

CENDES, F., KAHANE, P., BRODIE, M. and ANDERMANN, F. The mesio-temporal lobe epilepsy syndrome. In: ROGER, J., BUREAU, M., DRAVET, C., GENTON, P. and TASSINARI, C.A. (Ed.). *Epileptic syndrome in infancy, childhood and adolescence*. França: John Libbey Eurotext, 2005. p.604.

CHEN, X., LI, Y., WANG, L., KATAKOWSKI, M., ZHANG, L., *et al.* Ischemic rat brain extracts induce human marrow stromal cell growth factor production. *Neuropathology*, v.22, n.4, p.275-9, 2002.

CHOPP, M. and LI, Y. Treatment of neural injury with marrow stromal cells. *Lancet Neurol*, v.1, n.2, p.92-100, 2002.

COGLE, C.R., YACHNIS, A.T., LAYWELL, E.D., ZANDER, D.S., WINGARD, J.R., *et al.* Bone marrow transdifferentiation in brain after transplantation: A retrospective study. *Lancet*, v.363, n.9419, p.1432-7, 2004.

CORTI, S., LOCATELLI, F., PAPADIMITRIOU, D., STRAZZER, S. and COMI, G.P. Somatic stem cell research for neural repair: Current evidence and emerging perspectives. *J Cell Mol Med*, v.8, n.3, p.329-37, 2004.

COSTA-FERRO, Z.S., VITOLA, A.S., PEDROSO, M.F., CUNHA, F.B., XAVIER, L.L., *et al.* Prevention of seizures and reorganization of hippocampal functions by transplantation of bone marrow cells in the acute phase of experimental epilepsy. *Seizure*, v.19, n.2, p.84-92, 2010.

CUNHA, J.A. *Manual da versão em português das escalas beck*. São Paulo, SP: Casa do Psicólogo, 2001

DA COSTA, D.I. *Estudo da memória visual, em indivíduos saudáveis, pela ressonância magnética funcional*. (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Rio do Sul, PUCRS, Porto Alegre, RS, 2006.

DA SILVA, C.C. *Transplante de células mononucleares de medula óssea em modelo lesional da doença de parkinson*. (Dissertação de mestrado). Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, PUCRS, Porto Alegre, RS, 2011.

DE ALMEIDA, M.A., FONSECA, S.R., SANTOS, A.P.B., GUIMARÃES, H.C., CORRÊA, T.A.F., *et al*. Epilepsia e demência em uma amostra de pacientes idosos acompanhados em serviço terciário. *J Epilepsy Clin Neurophysiol*, v.15, n.2, p.61-64, 2009.

DE PAULA, S., PEDROSO, M.F., DALBEM, A., COSTA, Z.S.M., VITOLA, A., *et al*. The therapeutic potential of stem cells for nervous system disease. *Scientia Medica*, v.15, p.263-269, 2005.

DE SOUZA, V.F., LIMA, L.M.C., REIS, S.R.A., RAMALHO, L.M.P. and SANTOS, J.N. Stem cell: A brief review. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v.2, p.251-256, 2003.

DEZAWA, M., KANNO, H., HOSHINO, M., CHO, H., MATSUMOTO, N., *et al*. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest*, v.113, n.12, p.1701-10, 2004.

DODSON, W.E., KINSBOURNE, M. and HILTBRUNNER, B. *The assessment of cognitive function in epilepsy*. New York: Demos Publishing, 1991

EGLITIS, M.A., DAWSON, D., PARK, K.W. and MOURADIAN, M.M. Targeting of marrow-derived astrocytes to the ischemic brain. *Neuroreport*, v.10, n.6, p.1289-92, 1999.

EIBELI, B., RODRIGUES, C.G., GIUSTI, I.I., NESRALLA, I.A., PRATES, P.R., *et al*. Gene therapy for ischemic heart disease: Review of clinical trials. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, v.26, n.4, p.635-646, 2011.

EICHENBAUM, H. The hippocampus and declarative memory: Cognitive mechanisms and neural codes. *Behav Brain Res*, v.127, n.1-2, p.199-207, 2001.

ENGEL, J., JR. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: Report of the ilae task force on classification and terminology. *Epilepsia*, v.42, n.6, p.796-803, 2001.

FAZEL, S.S., ANGOULVANT, D., BUTANY, J., WEISEL, R.D. and LI, R.K. Mesenchymal stem cells engineered to overexpress stem cell factor improve cardiac function but have malignant potential. *J Thorac Cardiovasc Surg*, v.136, n.5, p.1388-9, 2008.

FERNANDES, J.G. *Epidemiologia das crises epilépticas em porto alegre: Um estudo populacional*. (Tese de Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS, 1993.

FUENTES, D., BRAKHA, T.A., GÓIS, J.O. and RZEZAK, P. Avaliação neuropsicológica aplicada às epilepsias. In: FUENTES, D., MALLOY-DINIZ, L.F. and CONZENZA, R. (Ed.). *Neuropsicologia: Teoria e prática*. Porto Alegre: Artmed, 2008. p.312-323.

FUENTES, D., SANTIAGO, F., CHRISTE, B., MALLOY-DINIZ, L.F. and VALENTE, K. Organização dos sistemas de aprendizagem e memória: Hipóteses da dupla e simples concordância com a lateralização do foco epileptogênico em pacientes com epilepsia do lobo temporal. *J Epilepsy Clin Neurophysiol*, v.12, p.44-45, 2006.

GAGE, F.H. Mammalian neural stem cells. *Science*, v.287, n.5457, p.1433-8, 2000.

GASTAUT, H. Letter: 'epileptic seizures'. *Dev Med Child Neurol*, v.15, n.5, p.688-9, 1973.

GIL, R. *Neuropsicologia*. São Paulo: Santos, 2002

GOH, E.L., MA, D., MING, G.L. and SONG, H. Adult neural stem cells and repair of the adult central nervous system. *J Hematother Stem Cell Res*, v.12, n.6, p.671-9, 2003.

GÓIS, J.O. *Epilepsia de lobo temporal com atrofia hipocampal : Funções neuropsicológicas, qualidade de vida e adequação social*. (Dissertação de mestrado). Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria, Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria, Universidade de São Paulo, USP, Ribeirão Preto, SP, 2010.

GOTZ, M. Glial cells generate neurons--master control within cns regions: Developmental perspectives on neural stem cells. *Neuroscientist*, v.9, n.5, p.379-97, 2003.

GRECO, S.J., ZHOU, C., YE, J.H. and RAMESHWAR, P. An interdisciplinary approach and characterization of neuronal cells transdifferentiated from human mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, v.16, n.5, p.811-26, 2007.

GRIFFITH, H.R., MARTIN, R.C., BAMBARA, J.K., MARSON, D.C. and FAUGHT, E. Older adults with epilepsy demonstrate cognitive impairments compared with patients with amnesic mild cognitive impairment. *Epilepsy Behav*, v.8, n.1, p.161-8, 2006.

- GROSS, C.G. Neurogenesis in the adult brain: Death of a dogma. *Nat Rev Neurosci*, v.1, n.1, p.67-73, 2000.
- HAAS, S., WEIDNER, N. and WINKLER, J. Adult stem cell therapy in stroke. *Curr Opin Neurol*, v.18, n.1, p.59-64, 2005.
- HAYNES, R.B., SACKETT, D.L. and GUYATT, G.H. *Epidemiologia clínica. Como realizar pesquisa clínica na prática*. Porto Alegre: Artmed, 2008
- HELMSTAEDTER, C. and KURTHEN, M. Memory and epilepsy: Characteristics, course, and influence of drugs and surgery. *Curr Opin Neurol*, v.14, n.2, p.211-6, 2001.
- HELMSTAEDTER, C., KURTHEN, M., LUX, S., REUBER, M. and ELGER, C.E. Chronic epilepsy and cognition: A longitudinal study in temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol*, v.54, n.4, p.425-32, 2003.
- HELMSTAEDTER, C., VAN ROOST, D., CLUSMANN, H., URBACH, H., ELGER, C.E., *et al.* Collateral brain damage, a potential source of cognitive impairment after selective surgery for control of mesial temporal lobe epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v.75, n.2, p.323-6, 2004.
- HOLMES, G.L. Epilepsy in the developing brain: Lessons from the laboratory and clinic. *Epilepsia*, v.38, n.1, p.12-30, 1997.
- HOMMET, C., SAUERWEIN, H.C., DE TOFFOL, B. and LASSONDE, M. Idiopathic epileptic syndromes and cognition. *Neurosci Biobehav Rev*, v.30, n.1, p.85-96, 2006.
- ILAE. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on classification and terminology of the international league against epilepsy. *Epilepsia*, v.30, n.4, p.389-399, 1989.
- IZQUIERDO, I. *Memória*. Porto Alegre, RS: Artmed, 2002
- IZQUIERDO, I. *Questões sobre memória*. São Leopoldo, RS: Unisinos, 2004
- IZQUIERDO, I. *Memória*. Porto Alegre, RS: Artmed, 2011
- JOHANSSON, C.B., YOUSSEF, S., KOLECKAR, K., HOLBROOK, C., DOYONNAS, R., *et al.* Extensive fusion of haematopoietic cells with purkinje neurons in response to chronic inflammation. *Nat Cell Biol*, v.10, n.5, p.575-83, 2008.
- JONES, J., JARAMILLO-MERCHAN, J., BUENO, C., PASTOR, D., VISO-LEON, M., *et al.* Mesenchymal stem cells rescue purkinje cells and improve motor functions in a mouse model of cerebellar ataxia. *Neurobiol Dis*, v.40, n.2, p.415-23, 2010.
- KANDEL, E.R., SCHWATZ, J.H. and JESSEL, T.M. *Mecanismos celulares do aprendizado e da memória: Fundamentos da neurociência e do comportamento*. New York: Mcgraw-Hill, 2000

KANDRATAVICIUS, L., HALLAK, J.E.C. and LEITE, J.P. Psicose e depressão na epilepsia do lobo temporal. *J Epilepsy Clin Neurophysiol*, v.13, n.4, p.163-167, 2007.

KANNER, A.M. Depression in epilepsy: A neurobiologic perspective. *Epilepsy Curr*, v.5, n.1, p.21-7, 2005.

KANNER, A.M. and PALAC, S. Depression in epilepsy: A common but often unrecognized comorbid malady. *Epilepsy Behav*, v.1, n.1, p.37-51, 2000.

KIM, S.W., KIM, H.J., KIM, S.B., SUH, C., SHIN, J.S., *et al.* Murine bone marrow stromal cells: Implications for their use in gene modified cell therapy. *Leuk Lymphoma*, v.44, n.11, p.1973-8, 2003.

KIMURA, D. *Sex and cognition*. Cambridge: The MIT Press, 2000

KODA, M., OKADA, S., NAKAYAMA, T., KOSHIZUKA, S., KAMADA, T., *et al.* Hematopoietic stem cell and marrow stromal cell for spinal cord injury in mice. *Neuroreport*, v.16, n.16, p.1763-7, 2005.

KOPEN, G.C., PROCKOP, D.J. and PHINNEY, D.G. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.96, n.19, p.10711-6, 1999.

KORBLING, M. and ESTROV, Z. Adult stem cells for tissue repair - a new therapeutic concept? *N Engl J Med*, v.349, n.6, p.570-82, 2003.

KRABBE, C., ZIMMER, J. and MEYER, M. Neural transdifferentiation of mesenchymal stem cells--a critical review. *Apmis*, v.113, n.11-12, p.831-44, 2005.

LEI, Z., YONGDA, L., JUN, M., YINGYU, S., SHAOJU, Z., *et al.* Culture and neural differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells in vitro. *Cell Biol Int*, v.31, n.9, p.916-23, 2007.

LEZAK, M.D. *Neuropsychological assessment*. New York: Oxford University Press, 2005

LONGO, B., ROMARIZ, S., BLANCO, M.M., VASCONCELOS, J.F., BAHIA, L., *et al.* Distribution and proliferation of bone marrow cells in the brain after pilocarpine-induced status epilepticus in mice. *Epilepsia*, v.51, n.8, p.1628-32, 2010.

LÖSCHER, W., GERNERT, M. and HEINEMANN, U. Cell and gene therapies in epilepsy promising avenues or blind alleys? *Trends in neurosciences*, v.31, n.2, p.62-73, 2008.

LUDERS, H.O. Mesial temporal sclerosis. In: LUDERS, H.O. (Ed.). *Textbook of epilepsy surgery*. London: Informa Healthcare, 2008.

LUNDY-EKMAN, L. *Neurociência: Fundamentos para reabilitação*. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2004

MADER, M.J. Avaliação neuropsicológica nas epilepsias: Importância para o conhecimento do cérebro. *J Subst Abuse Treat*, v.21, n.1, p.54-67, 2001.

MAGILA, M.C. Epilepsia. In: ANDRADE, V.M., SANTOS, F.H. and BUENO, O.F.A. (Ed.). *Neuropsicologia hoje*. São Paulo, SP: Artes Médicas, 2004.

MAHMOOD, A., LU, D. and CHOPP, M. Marrow stromal cell transplantation after traumatic brain injury promotes cellular proliferation within the brain. *Neurosurgery*, v.55, n.5, p.1185-93, 2004.

MARANGONI, E., ODDONE, A., SURIAN, M., PANCIROLI, C., GALLONI, G., *et al.* Effect of high-dose furosemide in refractory congestive heart failure. *Angiology*, v.41, n.10, p.862-8, 1990.

MARDER, S.R. Escalas de avaliação psiquiátrica. In: KAPLAN, H.I. and SADOCK, B.J. (Ed.). *Tratado de psiquiatria*. Porto Alegre, RS: Artes Médicas, v.1, 1999.

MARRONI, S.P. *Qualidade de vida em pacientes com epilepsia refratária ao tratamento medicamentoso: Perspectiva imediata e remota do procedimento cirúrgico*. (Dissertação). Programa de Pós-Graduação em Medicina - Neurociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, PUCRS, Porto Alegre, RS, 2006.

MARTIN, R.C., KRETZMER, T., PALMER, C., SAWRIE, S., KNOWLTON, R., *et al.* Risk to verbal memory following anterior temporal lobectomy in patients with severe left-sided hippocampal sclerosis. *Arch Neurol*, v.59, n.12, p.1895-901, 2002.

MENDEZ-OTERO, R., GIRALDI-GUIMARÃES, A., PIMENTEL-COELHO, P.M. and DE FREITAS, G.R. Terapia celular no acidente vascular cerebral. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v.31, p.99-103, 2009.

MENSAH, S.A., BEAVIS, J.M., THAPAR, A.K. and KERR, M.P. A community study of the presence of anxiety disorder in people with epilepsy. *Epilepsy Behav*, v.11, n.1, p.118-24, 2007.

MEZEY, E. Bone marrow and brain: Unexpected allies or accidental acquaintances? *Stem Cell Rev*, v.1, n.1, p.15-9, 2005.

MEZEY, E., CHANDROSS, K.J., HARTA, G., MAKI, R.A. and MCKERCHER, S.R. Turning blood into brain: Cells bearing neuronal antigens generated in vivo from bone marrow. *Science*, v.290, n.5497, p.1779-82, 2000.

MILNER, B., CORKIN, S. and TEUBER, H.L. Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14-year follow-up study of h.M. *Neuropsychologia*, v.6, n.3, p.215-234, 1968.

MIMEAULT, M. and BATRA, S.K. Concise review: Recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. *Stem Cells*, v.24, n.11, p.2319-45, 2006.

MOTA, A.C.A., SOARES, M.B.P. and SANTOS, R.R. Uso de terapia regenerativa com células-tronco da medula óssea em doenças cardiovasculares: Perspectiva do hematologista. *Rev Bras Hematol Hemoter*, v.27, n.2, p.126-132, 2005.

PAGLIOLI-NETO, E. *Resultados do tratamento cirúrgico da epilepsia do lobo temporal mesial secundária à esclerose hipocampal: O controle das crises epilépticas ao longo do tempo, e a comparação do nível de controle das crises e das funções de memória após ressecções seletivas versus ressecções não-seletivas*. (Tese). Programa de Pós-Graduação em Neurociências Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

PAGLIOLI, E. and CENDES, F. Tratamento cirúrgico. In: GUERREIRO, C.A.M., GUERREIRO, M.M., CENDES, F. and LOPES-CENDES, I. (Ed.). *Epilepsia*. São Paulo, SP: Lemos, 2000.

PAGLIOLI, E., PALMINI, A., DA COSTA, J.C., PORTUGUEZ, M., MARTINEZ, J.V., et al. Survival analysis of the surgical outcome of temporal lobe epilepsy due to hippocampal sclerosis. *Epilepsia*, v.45, n.11, p.1383-91, 2004.

PALMINI, A.L.F., DA COSTA, J.C. and PAGLIOLI, E. How to select the best surgical procedure for patients with temporal lobe epilepsy. In: LUDERS, H.O. and COMAIR, Y.G. (Ed.). *Epilepsy surgery*. Philadelphia, USA: Lippincott Wilians & Wilkins, 2001. p.1060.

PARENT, J.M. Injury-induced neurogenesis in the adult mammalian brain. *Neuroscientist*, v.9, n.4, p.261-72, 2003.

PARENT, J.M., YU, T.W., LEIBOWITZ, R.T., GESCHWIND, D.H., SLOVITER, R.S., et al. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci*, v.17, n.10, p.3727-38, 1997.

PEREIRA, L.V. The importance of the use of stem cells for public health. *Ciência & Saúde Coletiva*, v.13, n.1, p.7-14, 2008.

PHINNEY, D.G. and PROCKOP, D.J. Concise review: Mesenchymal stem/multipotent stromal cells: The state of transdifferentiation and modes of tissue repair--current views. *Stem Cells*, v.25, n.11, p.2896-902, 2007.

PORTUGUEZ, M. Avaliação neuropsicológica do lobo temporal: Linguagem e memória. In: COSTA DA COSTA, J., PALMINI, A.L.F. and YACUBIAN, E.M.T. (Ed.). *Fundamentos neurobiológicos das epilepsias - aspectos clínicos e cirúrgicos*. São Paulo, SP: Lemos Editorial, 1998a. p.1439.

PORTUGUEZ, M. *Memória, epilepsia e lobectomia temporal: Um estudo neuropsicológico*. (Tese). Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1998b. 89 p.

PURVES, D. *Neurociências*. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005. 728 p.

QUARANTINI, L.C., ALMEIDA, A.C.G.O., MORIYAMA, T.S., MELEIRO, A. and MARINHO, V. Depressão e doenças físicas. In: LACERDA, A.L.T., QUARANTINI, L.C., MIRANDA-SCIPPA, A. and DEL PORTO, J.A. (Ed.). *Depressão: Do neurônio ao funcionamento social*. Porto Alegre: Artmed, 2009.

ROBEY, P.G. Stem cells near the century mark. *J Clin Invest*, v.105, n.11, p.1489-91, 2000.

ROGAWSKI, M.A. and PORTER, R.J. Antiepileptic drugs: Pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. *Pharmacol Rev*, v.42, n.3, p.223-86, 1990.

RUSCHENSCHMIDT, C., KOCH, P.G., BRUSTLE, O. and BECK, H. Functional properties of es cell-derived neurons engrafted into the hippocampus of adult normal and chronically epileptic rats. *Epilepsia*, v.46 Suppl 5, p.174-83, 2005.

SANDER, J.W. and HART, Y.M. *Epilepsia: Um guia pratico*. Publishing International: Merit, 1999

SCOVILLE, W.B. and MILNER, B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, v.20, n.1, p.11-21, 1957.

SEIDENBERG, M., PULSIPHER, D.T. and HERMANN, B. Cognitive progression in epilepsy. *Neuropsychol Rev*, v.17, n.4, p.445-54, 2007.

SHI, Q., RAFII, S., WU, M.H., WIJELATH, E.S., YU, C., *et al*. Evidence for circulating bone marrow-derived endothelial cells. *Blood*, v.92, n.2, p.362-7, 1998.

SILANI, V. and CORBO, M. Cell-replacement therapy with stem cells in neurodegenerative diseases. *Curr Neurovasc Res*, v.1, n.3, p.283-9, 2004.

SINGH-MANOUX, A., KIVIMAKI, M., GLYMOUR, M.M., ELBAZ, A., BERR, C., *et al*. Timing of onset of cognitive decline: Results from whitehall ii prospective cohort study. *Bmj*, v.344, p.d7622, 2012.

SPREEN, O. and STRAUSS, E. *A compendium of neuropsychological tests: Administration, norms, and commentary*. New York: Oxford Univ Press, 1998

SQUIRE, L.R. and KANDEL, E.R. Memória não-consciente. *Viver Mente e Cérebro*, v.2, p.50-55, 2005.

STASFROM, C.E. Epilepsy: A review of selected clinical syndromes and advances in basic science. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, v.26, p.983-1004, 2006.

TERADA, N., HAMAZAKI, T., OKA, M., HOKI, M., MASTALERZ, D.M., *et al*. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*, v.416, n.6880, p.542-5, 2002.

THOMPSON, P.J. Antiepileptic drugs and memory. *Epilepsia*, v.33 Suppl 6, p.S37-40, 1992.

THOMSON, J.A., ITSKOVITZ-ELDOR, J., SHAPIRO, S.S., WAKNITZ, M.A., SWIERGIEL, J.J., *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, v.282, n.5391, p.1145-7, 1998.

TORRES, C.M. *Fatores de risco para transtornos de ansiedade na epilepsia do lobo temporal.* (Dissertação). Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2010.

VALÉRIO, R.M.F., YACUBIAN, S., JORGE, C.L., CUKIERT, A. and DE ASSIS, L.M. Anatomopathology in 33 patients with temporal lobe epilepsy. *Brazilian Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, v.2, p.67-74, 1995.

VENTURIN, G.T. *Efeito do transplante de células mononucleares da medula óssea na freqüência de crises e no desempenho cognitivo de ratos com epilepsia induzida por lítio pilocarpina.* (Dissertação de mestrado). Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Programa de Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS, 2008.

WACHI, M., TOMIKAWA, M., FUKUDA, M., KAMEYAMA, S., KASAHARA, K., *et al.* Neuropsychological changes after surgical treatment for temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, v.42 Suppl 6, p.4-8, 2001.

WAGERS, A.J., SHERWOOD, R.I., CHRISTENSEN, J.L. and WEISSMAN, I.L. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science*, v.297, n.5590, p.2256-9, 2002.

WATSON, C. and CENDES, F. Estudos volumétricos por ressonância nuclear magnética: Aplicações clínicas e contribuições para a compreensão da epilepsia do lobo temporal. In: DA COSTA, J.C., PALMINI, A.L.F. and YACUBIAN, E.M.T. (Ed.). *Fundamentos neurobiológicos das epilepsias: Aspectos clínicos e neurocirúrgicos.* São Paulo, SP: Lemos, 1998.

WIESER, H.G. Ilae commission report. Mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsia*, v.45, n.6, p.695-714, 2004.

YACUBIAN, E.M.T. *Epilepsia: Da antiguidade ao segundo milênio - saindo das sombras.* São Paulo, SP: Lemos, 2000

YAMASAKI, T.R., BLURTON-JONES, M., MORRISSETTE, D.A., KITAZAWA, M., ODDO, S., *et al.* Neural stem cells improve memory in an inducible mouse model of neuronal loss. *J Neurosci*, v.27, n.44, p.11925-33, 2007.

ZORZETTO FILHO, D. Neuropsicologia da depressão. In: LACERDA, A.L.T., QUARANTINI, L.C., MIRANDA-SCIPPA, A. and DEL PORTO, J.A. (Ed.). *Depressão: Do neurônio ao funcionamento social.* Porto Alegre, RS: Artmed, 2009. p.360.

ANEXOS

ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
TÍTULO DO PROJETO: TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS TRONCO DA
MEDULA ÓSSEA NA EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL**

Estamos convidando o Sr. (a) a participar de um novo estudo sobre epilepsia. Nesse estudo, será realizada injeção de células tronco da medula óssea no cérebro. Este será o primeiro estudo em humanos que avaliará o uso de células tronco em epilepsia. Estudos em animais realizados no nosso serviço já testaram este procedimento.

O(a) Sr (a) apresenta um quadro chamado Epilepsia de Lobo Temporal. Nessa situação, o paciente apresenta crises epilépticas recorrentes ("ataques"), que podem se caracterizar por uma sensação ruim no abdome, pensamentos estranhos ou de medo, seguidos de um "desligamento" do ambiente, movimentos involuntários com a boca – como se estivesse mastigando e, movimentos com as mãos. A origem destas sensações é no Lobo Temporal. Algumas vezes, esta crise se manifesta com "esticamento" do corpo seguido de contrações ("repuxo") rítmicas dos braços e das pernas, com perda de saliva e período de confusão. No seu caso, podemos identificar uma região no seu cérebro, como se fosse uma "cicatriz" chamada de atrofia hipocampal. Esta "cicatriz" torna-se irritável para o cérebro e passa a gerar crises epilépticas ("ataques"). Muitas vezes, o uso de um ou mais remédios anticonvulsivantes não é o suficiente para manter o paciente livre de crises. Nesses casos, chamamos o paciente de "refratário", ou seja, que os remédios não são totalmente eficazes. O Sr. (a) apresenta um quadro de Epilepsia de Lobo Temporal Refratário.

Este Termo de Consentimento diz respeito a uma pesquisa envolvendo um transplante de células tronco da medula óssea que está sendo realizada neste hospital. Este transplante utiliza células tronco que serão aspiradas do próprio paciente e injetadas na circulação cerebral do paciente. O método que utilizamos para levar as células até o cérebro é através de uma angiografia cerebral digital. A angiografia cerebral é como se fosse um cateterismo cardíaco, só que realizado nos vãos da circulação cerebral. Este método consiste em uma punção da artéria femoral (artéria da virilha) onde será introduzido um cateter que alcançará a artéria do cérebro. Uma vez que o cateter chegue até lá, se injetará 30 milhões de células da medula óssea na circulação cerebral. A hipótese é que estas células possam se transformar em neurônios podendo levar a melhora da região de "cicatriz" cerebral e com isso a melhora das crises epilépticas. Esta hipótese já foi confirmada em estudos com animais.

Comitê de Ética em Pesquisa de PUCRS
CEP - PUCRS
RECEBIDO EM 28/01/11

Continua...

...continuação

Para realização deste trabalho, precisaremos coletar células de dentro do osso do quadril. Este procedimento será realizado com anestesia local e é de baixo risco à saúde. Contudo, a colocação da agulha pode ser muito dolorida, mesmo com uso de anestésico, e poderá ficar um hematoma no local da punção. Tanto as dores, como a marca na pele, são passageiros, mas podem ser desconfortáveis nas primeiras horas. Também será necessário realizar uma punção na artéria femoral (da virilha) e cateterização da artéria cerebral posterior (no cérebro). Este procedimento tem um risco de complicações neurológicas e clínicas menor que 1%. Estes riscos são: hematoma no local da punção, reação alérgica ao contraste, déficits isquêmicos transitórios e dor de cabeça.

Neste estudo, o sr(a) é convidado a realizar os seguintes passos:

- 1) Internação hospitalar por um período de aproximadamente 07 dias. Nessa hospitalização, será realizado um exame de Ressonância Nuclear Magnética do Crânio, exames clínicos de coleta de dados, entrevistas com neuropsicólogas para aplicação de testes, coletas de sangue por punção venosa. Também será realizado o exame de Video monitorização eletrencefalográfica (eletrencefalograma com filmagem contínua por vídeo) com duração aproximada de 24 -48 hs.
- 2) Se a avaliação confirmar que o sr (a) tem realmente uma "cicatriz" cerebral que determina as crises de epilepsia e que suas crises começam sempre nessa cicatriz, será convidado a receber a injeção de células tronco (que serão coletadas do seu próprio osso do quadril e injetadas na sua circulação cerebral).
- 3) O Sr. (a) será observado em regime de internação hospitalar ainda por mais 24 a 48 hs e será liberado para retornar para casa.
- 4) Seguirá em acompanhamento com a equipe do estudo em nosso ambulatório, com revisões a cada 3 e 6 meses, momento em que o Sr (a) nos informará sobre a sua saúde geral e neurológica. Realizará um novo exame de Ressonância Nuclear Magnética do Crânio e uma nova avaliação clínica e neuropsicológica.
- 5) Em caso de qualquer agravo a sua saúde no período da pesquisa, ou após a pesquisa, o Sr (a) será acompanhado pelos médicos da nossa equipe e receberá atendimento no Hospital São Lucas da PUCRS.
- 6) O Sr (a) será informado sobre os resultados da presente pesquisa pelo Coordenador do estudo, Dr. Jaderson Costa da Costa, ou pelos médicos, Dra. Carolina Machado Torres e Dr. Lucas Porcello Schilling.

Ressaltamos que a concordância em participar deste estudo e realizar a coleta das células tronco e os exames adicionais não implica necessariamente em qualquer modificação no tratamento que já está sendo feito. A não concordância em participar do estudo não irá alterar de nenhuma maneira o tratamento já estabelecido.

...continuação

Eu, _____ fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada. Recebi informação a respeito dos exames a serem realizados e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão se assim eu desejar.

O Dr. Jaderson Costa da Costa certificou-me, que todos os resultados dos exames serão confidenciais, bem como o tratamento não será modificado em razão desta pesquisa e terei liberdade de retirar o consentimento de participação na pesquisa, face a estas informações.

Fui informado que caso existam danos à saúde causados diretamente pela pesquisa, terei direito a tratamento médico. Também sei que existem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, posso contatar os médicos da equipe, através dos seguintes contatos:

Dr. Jaderson Costa da Costa (51) 3320 3302 ou 3320 2760; Dra. Carolina M. Torres (51) 9958 4257; Dr. Lucas Schilling (51) 9953 1080, ou também através do Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS, telefone (51) 3320 3345.

Declaro que recebi cópia do presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Assinatura do Responsável

Nome: _____

Data: _____

Assinatura do Pesquisador

Nome: _____

Data: _____

Conforme solicitado no exame de qualificação, o nome e telefone da autora desta tese e de sua orientadora foram incluídos no TCLE. A solicitação já foi feita, no entanto, é preciso nova aprovação do comitê de ética em pesquisa (CEP). Desta forma, neste anexo consta o último TCLE aprovado pelo CEP, ainda sem estas modificações.

ANEXO B - WMS-R Memória Lógica I e II**WMS-R - MEMÓRIA LÓGICA I E II****Paciente:** _____ **Idade:** _____**ESTÓRIA A**

Ana/ Soares/ do Sul/ do Paraná/ empregada/ como faxineira/ num prédio/ de escritórios,/ contou/ na delegacia/ de polícia/ que tinha sido assaltada,/ na noite anterior/ na rua Tiradentes/ e roubada/ em 150 reais./ Ela disse que tinha 4/ filhinhos,/ o aluguel/ não tinha sido pago/ e eles não comiam/ há 2 dias./ Os policiais/ com pena da história da mulher,/ deram dinheiro/ para ela/.

Pontos: _____**ESTÓRIA B**

Roberto/ Mota/ estava dirigindo/ um caminhão/ Mercedes/ numa estrada/ à noite/ no Vale/ do Paraíba/ levando ovos/ para São Paulo,/ quando o eixo do caminhão/ quebrou./ O caminhão derrapou/ caindo num buraco/ fora da estrada./ Ele foi jogado/ contra o painel/ e se assustou muito./ Não tinha trânsito/ e ele duvidou que pudesse ser socorrido./ Naquele instante o seu rádio amador/ tocou./ Ele respondeu imediatamente/ “Aqui fala tubarão”/.

Pontos: _____**ESTÓRIA A - RECORDAÇÃO**

Ana/ Soares/ do Sul/ do Paraná/ empregada/ como faxineira/ num prédio/ de escritórios,/ contou/ na delegacia/ de polícia/ que tinha sido assaltada,/ na noite anterior/ na rua Tiradentes/ e roubada/ em 150 reais./ Ela disse que tinha 4/ filhinhos,/ o aluguel/ não tinha sido pago/ e eles não comiam/ há 2 dias./ Os policiais/ com pena da história da mulher,/ deram dinheiro/ para ela/.

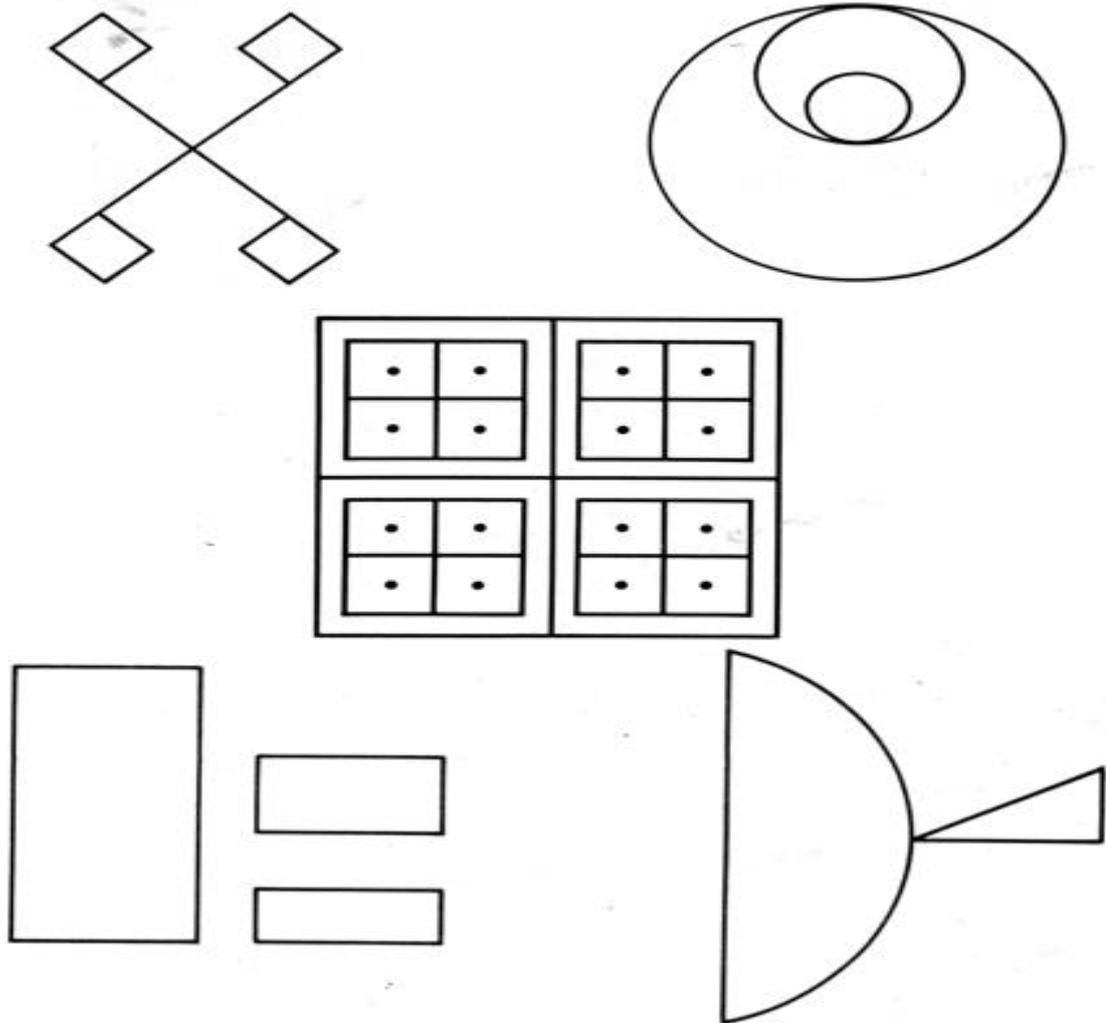
Pista: sobre uma mulher que foi roubada.**Pontos:** _____**ESTÓRIA B - RECORDAÇÃO**

Roberto/ Mota/ estava dirigindo/ um caminhão/ Mercedes/ numa estrada/ à noite/ no Vale/ do Paraíba/ levando ovos/ para São Paulo,/ quando o eixo do caminhão/ quebrou./ O caminhão derrapou/ caindo num buraco/ fora da estrada./ Ele foi jogado/ contra o painel/ e se assustou muito./ Não tinha trânsito/ e ele duvidou que pudesse ser socorrido./ Naquele instante o seu rádio amador/ tocou./ Ele respondeu imediatamente/ “Aqui fala tubarão”/.

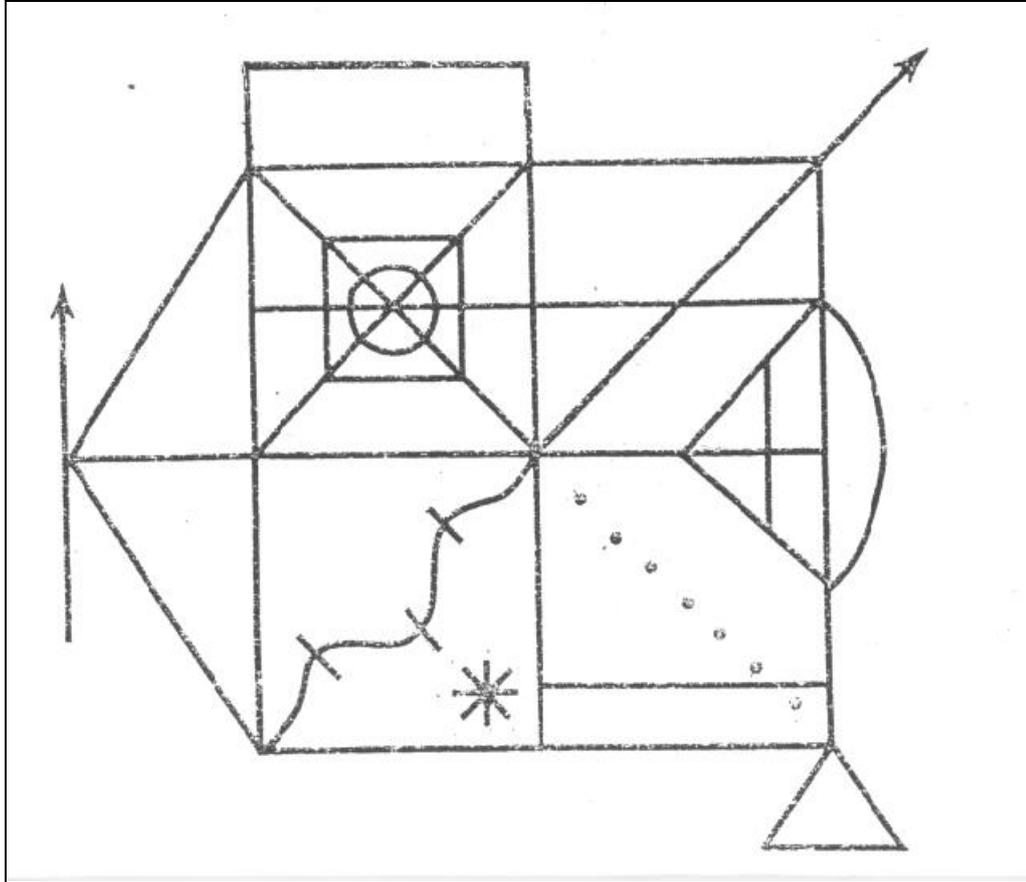
Pista: sobre um homem que teve problemas na estrada.**Pontos:** _____

ANEXO C - WMS-R Reprodução Visual I e II

WMS-R – REPRODUÇÃO VISUAL I E II



ANEXO E - Figura Complexa de Taylor



ANEXO F - Inventário de depressão de Beck



Data: _____

Nome: _____ Estado Civil: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Ocupação: _____ Escolaridade: _____

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve **melhor** a maneira que você tem se sentido na **última semana, incluindo hoje**. Se várias afirmações num grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. **Tome o cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer a sua escolha.**

<p>1 0 Não me sinto triste. 1 Eu me sinto triste. 2 Estou sempre triste e não consigo sair disto. 3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.</p> <p>2 0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro. 1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro. 2 Acho que nada tenho a esperar. 3 Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.</p> <p>3 0 Não me sinto um fracasso. 1 Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum. 2 Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos. 3 Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.</p> <p>4 0 Tenho tanto prazer em tudo como antes. 1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes. 2 Não encontro um prazer real em mais nada. 3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.</p> <p>5 0 Não me sinto especialmente culpado. 1 Eu me sinto culpado grande parte do tempo. 2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo. 3 Eu me sinto sempre culpado.</p> <p>6 0 Não acho que esteja sendo punido. 1 Acho que posso ser punido. 2 Creio que vou ser punido. 3 Acho que estou sendo punido.</p> <p>7 0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo. 1 Estou decepcionado comigo mesmo. 2 Estou enojado de mim. 3 Eu me odeio.</p>	<p>8 0 Não me sinto de qualquer modo pior que os outros. 1 Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros. 2 Eu me culpo sempre por minhas falhas. 3 Eu me culpo por tudo de mal que acontece.</p> <p>9 0 Não tenho quaisquer idéias de me matar. 1 Tenho idéias de me matar, mas não as executaria. 2 Gostaria de me matar. 3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.</p> <p>10 0 Não choro mais que o habitual. 1 Choro mais agora do que costumava. 2 Agora, choro o tempo todo. 3 Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que o queira.</p> <p>11 0 Não sou mais irritado agora do que já fui. 1 Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava. 2 Agora, eu me sinto irritado o tempo todo. 3 Não me irrita mais com coisas que costumavam me irritar.</p> <p>12 0 Não perdi o interesse pelas outras pessoas. 1 Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar. 2 Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas. 3 Perdi todo o interesse pelas outras pessoas.</p> <p>13 0 Tomo decisões tão bem quanto antes. 1 Adio as tomadas de decisões mais do que costumava. 2 Tenho mais dificuldades de tomar decisões do que antes. 3 Absolutamente não consigo mais tomar decisões.</p>
---	---

Subtotal da Página 1 CONTINUAÇÃO NO VERSO

<p>14 0 Não acho que de qualquer modo pareço pior do que antes. 1 Estou preocupado em estar parecendo velho ou sem atrativo. 2 Acho que há mudanças permanentes na minha aparência, que me fazem parecer sem atrativo. 3 Acredito que pareço feio.</p> <p>15 0 Posso trabalhar tão bem quanto antes. 1 É preciso algum esforço extra para fazer alguma coisa. 2 Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa. 3 Não consigo mais fazer qualquer trabalho.</p> <p>16 0 Consigo dormir tão bem como o habitual. 1 Não durmo tão bem como costumava. 2 Acordo 1 a 2 horas mais cedo do que habitualmente e acho difícil voltar a dormir. 3 Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.</p> <p>17 0 Não fico mais cansado do que o habitual. 1 Fico cansado mais facilmente do que costumava. 2 Fico cansado em fazer qualquer coisa. 3 Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.</p> <p>18 0 O meu apetite não está pior do que o habitual. 1 Meu apetite não é tão bom como costumava ser. 2 Meu apetite é muito pior agora. 3 Absolutamente não tenho mais apetite.</p>	<p>19 0 Não tenho perdido muito peso se é que perdi algum recentemente. 1 Perdi mais do que 2 quilos e meio. 2 Perdi mais do que 5 quilos. 3 Perdi mais do que 7 quilos.</p> <p>Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: Sim _____ Não _____</p> <p>20 0 Não estou mais preocupado com a minha saúde do que o habitual. 1 Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição do estômago ou constipação. 2 Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa. 3 Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.</p> <p>21 0 Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo. 1 Estou menos interessado por sexo do que costumava. 2 Estou muito menos interessado por sexo agora. 3 Perdi completamente o interesse por sexo.</p>
--	--

Subtotal da Página 2

Subtotal da Página 1

Escore Total.

ANEXO G - Inventário de ansiedade de Beck



Data: _____

Nome: _____ Estado Civil: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Ocupação: _____ Escolaridade: _____

Abaixo está uma lista de sintomas comuns de ansiedade. Por favor, leia cuidadosamente cada item da lista. Identifique o quanto você tem sido incomodado por cada sintoma durante a **última semana, incluindo hoje**, colocando um "x" no espaço correspondente, na mesma linha de cada sintoma.

	Absoluta- mente não	Levemente Não me inco- modou muito	Moderada- mente Foi muito desagra- dável mas pode suportar	Gravemente Difícilmente pode suportar
1. Dormência ou formigamento.				
2. Sensação de calor.				
3. Tremores nas pernas.				
4. Incapaz de relaxar.				
5. Medo que aconteça o pior.				
6. Atordoado ou tonto.				
7. Palpitação ou aceleração do coração.				
8. Sem equilíbrio.				
9. Aterrorizado.				
10. Nervoso.				
11. Sensação de sufocação.				
12. Tremores nas mãos.				
13. Trêmulo.				
14. Medo de perder o controle.				
15. Dificuldade de respirar.				
16. Medo de morrer.				
17. Assustado.				
18. Indigestão ou desconforto no abdômen.				
19. Sensação de desmaio.				
20. Rosto afogueado.				
21. Suor (não devido ao calor).				

"Traduzido e adaptado por permissão de The Psychological Corporation, U.S.A. Direitos reservados ©1991, a Aaron T. Beck. Tradução para a língua portuguesa. Direitos reservados ©1993 a Aaron T. Beck. Todos os direitos reservados."

Tradução e adaptação brasileira, 2001, Casa do Psicólogo® Livraria e Editora Ltda. BAI é um logotipo da Psychological Corporation.

ANEXO H - Divulgação da pesquisa

saúde

FOLHA DE S. PAULO
TERÇA-FEIRA, 14 DE JULHO DE 2010 às 10h

SEM RESCITA

Melhorando a vida com a doença

O melhoramento de uma célula de proteção no cérebro que diminui a atividade elétrica anormal em epilepsia, que fortalece o sistema imune.

REDAÇÃO: AV. PAULISTA, 1.591 - JARDIM PAULISTA - SÃO PAULO - SP

Pesquisa da PUC-RS testa célula-tronco em epiléptico

Estado será apresentado no congresso mundial sobre terapia celular em julho

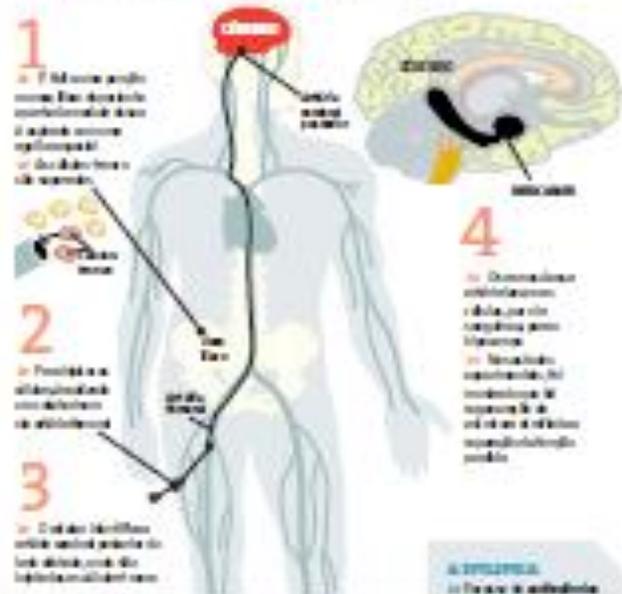
Pacientes de epilepsia sofrem de ataques de quantidade de células e células na memória, que condizem com a doença da epilepsia de longa duração.

DEPARTAMENTO

DEPARTAMENTO DE NEUROLOGIA

O NOVO PROCEDIMENTO

Como funciona o método desenvolvido por pesquisadores da PUC-RS.



1 - Foi feita uma ponte entre o cérebro e o tronco da coluna vertebral...
2 - Foram feitas células-tronco...
3 - Células-tronco...
4 - Desenvolver...

5 - Desenvolver...
6 - Desenvolver...
7 - Desenvolver...
8 - Desenvolver...
9 - Desenvolver...
10 - Desenvolver...

70%
de 60% a 70%

Maneiras de agir
Segundo Carrara, ainda há muitas maneiras de agir...

20 anos
de 1% a 2%

de 1% a 2%
de 1% a 2%

ANEXO I - Resumo enviado à congresso internacional**ABSTRACT SUBMETIDO AO CONGRESSO DA INTERNATIONAL SOCIETY FOR
STEM CELL RESEARCH****The experience of two patients with temporal lobe epilepsy transplanted with
autologous bone marrow mononuclear cells.**

Maria Julia Machline Carrion, Danielle Irigoyen da Costa, Lucas P. Schilling, Carolina Torres, Daniel Marinovic, Mirna Wetters Portuguez, Eduardo Raupp, Bernardo Garicochea, Denise Cantarelli Machado, Jaderson Costa Da Costa

Temporal lobe epilepsy (TLE) is a highly prevalent syndrome in patients with seizures and it is usually refractory to drug treatment. Anatomical and physiological changes are often present in patients with TLE such as mesial temporal sclerosis (MTS) characterized by extensive cell loss, reactive gliosis, mossy fiber sprouting and neurogenesis in the hippocampus and para-hippocampal structures. Hippocampal Sclerosis (HS) can be verified by Magnetic Resonance Imaging (MRI). Stem cells are proven to have the ability to regenerate neuronal tissues including hippocampal structures in experimental models. Here we present the first documented research using autologous bone marrow stem cells for the treatment of epilepsy in humans. The aim of this study is to verify the feasibility of such procedure and the therapeutic potential of bone marrow mononuclear cells (BMMC) transplantation on seizure control in patients with medically refractory TLE. The patients enrolled in this study are diagnosed TLE following International League Against Epilepsy (ILAE) criteria which includes clinical, imaging, and electroencephalographic aspects. After fulfilling clinical and radiological criteria patients undergo BMMSC transplant by posterior cerebral artery (PCA) catheterization. Two patients have already undergone this procedure. Patient 1: MRG, 43 years old, female, history refractory of partial complex seizure and HS since 35, 4 to 12 seizures a month. She received $3,2 \times 10^8$ cells. No adverse effects occurred during the procedure or during a 6 month follow-up period. After 6 months she presented a single seizure, no abnormal structural changes were visualized in the control MRI. Patient 2: NMA, 53 years old, female, history of clinical TLE documented by electroencephalogram (EEG) and MRI, 4 to six partial complex seizures a month. She received $1,9 \times 10^8$ cells. No abnormal events were documented during the procedure as in the 3 month follow-up period. No seizures were presented since the transplant. Given these data we believe that BMMSC autologous transplant for the treatment of TLE is indeed feasible and seems to be safe so far. Seizure control achieved in this first experience gives us a very promising path in therapeutic potential of stem cells transplant in this population. Another 18 patients are already enrolled for this research which we hope to show the results in the following months.

Keywords: Temporal Lobe Epilepsy, Bone Marrow mononuclear cells

ANEXO J - Resumo enviado à congresso nacional**REVISTA ELETRÔNICA DO CBCCE – RESUMOS APROVADOS - 2009****Transplante autólogo de células-tronco de medula óssea em dois pacientes com epilepsia do lobo temporal refratária**

Maria Julia Machline Carrion (HSL/PUCRS); Danielle Irigoyen da Costa (HSL/PUCRS); Lucas Porcello Schilling (PUCRS); Carolina Machado Torres (PUCRS); Daniel Marinovic (PUCRS); Denise Cantarelli Machado (PUCRS); Bernardo Garicochea (PUCRS); Eduardo Raupp (PUCRS); Mirna Wetters Portuguez (HSL/PUCRS); Jaderson Costa DaCosta ((HSL/PUCRS e INSCER).

A Epilepsia do Lobo Temporal (ELT), com sinais de Esclerose Hipocampal (EH) evidenciada por Ressonância Magnética (RM), é uma síndrome prevalente em pacientes com crises epilépticas e é usualmente refratária ao tratamento medicamentoso. Em modelos experimentais, as células-tronco comprovam habilidade de diferenciação e regeneração em tecidos neuronais incluindo estruturas hipocâmpais. Aqui apresentamos a primeira pesquisa documentada com transplante autólogo de células-tronco de medula óssea (CTMO) para tratar epilepsia em humanos. O objetivo deste estudo é verificar se é factível tal procedimento e o potencial terapêutico do transplante de CTMO no controle de crises e desempenho da memória de pacientes com ELT. Os pacientes são diagnosticados com ELT seguindo os critérios da International League Against Epilepsy. Preenchendo todos os critérios são submetidos ao transplante de CTMO via cateterismo seletivo da artéria cerebral posterior. Dois pacientes realizaram procedimento: 1: MG, 43 anos, F, história de crises parciais complexas e EH desde os 35 anos, 4 a 12 crises p/mês. Recebeu $3,2 \times 10^8$ células. Nenhum evento adverso foi verificado durante ou após o procedimento. Após 10 meses apresentou apenas 01 crise e nenhuma alteração estrutural foi verificada na RM de controle. Quanto à memória, verificou-se aumento em seus escores brutos e desvio padrões (mais de um DP em alguns testes). 2: NA, 53 anos, F, ELT documentada pelo eletroencefalograma e RM, 4 a 6 crises parciais complexas p/mês. Recebeu $1,9 \times 10^8$ cells. Nenhum evento anormal documentado durante o procedimento ou durante os 6 meses de seguimento. Nenhuma crise foi verificada desde o transplante e observou-se melhora da memória (com variação dos resultados em alguns testes de mais de um DP). Dada a evolução favorável desses pacientes, o transplante de CTMO parece ser factível e seguro até então. O controle de crises alcançado traz perspectivas promissoras no tratamento da ELT e reabilitação das funções corticais superiores em humanos.

ANEXO K - Prêmios**PRÊMIO INSTITUTO LUNDBECK DE INCENTIVO À PESQUISA -
NEUROLOGIA**

O trabalho intitulado: **“Transplante autólogo de células-tronco de medula óssea em dois pacientes com epilepsia do lobo temporal refratária”** recebeu o **prêmio Instituto Lundbeck de Incentivo à Pesquisa**, na categoria Neurologia, durante o 5º Congresso Brasileiro de Cérebro, Comportamento e Emoções, Simpósio de Atualização em Doenças do SN, Jornada Nacional de Neuropsiquiatria Geriátrica, Sono, Epilepsia e Comportamento e Encontro Nacional de Neuropsicologia, realizados nos dias 11 a 13 de junho de 2009 na ExpoGramado, em Gramado/RS.