

AVALIAÇÃO DAS FUNÇÕES EXECUTIVAS EM RATOS EXPOSTOS AO STATUS EPILEPTICUS NEONATAL

Samuel Pereira Batista, Roberta Monterazzo Cysneiros

Apoio: PIBIC Mackenzie

RESUMO

O *status epilepticus* (SE) neonatal em ratos produz prejuízos na sociabilidade, na emocionalidade, mas sem alterações cognitivas. Contudo é sabido de alterações em estruturais referentes ao autismo, logo o presente trabalho possui o objetivo de analisar as funções executivas mediante tarefas com alta demanda cognitiva como labirinto de Barnes (LB) e o labirinto octogonal (LO). Utilizamos 17 ratos Wistar machos, sendo 8 do grupo controle e 9 experimentais, recebendo indução de salina 0,9% e pilocarpina 380 mg / kg respectivamente. No LO, o animal deve coletar 4 recompensas dentro de um tempo limite sem adentrar em braços sem recompensa em um segundo momento de apresentação do estímulo e sem adentrar novamente no braço com recompensa. No LB a tarefa consiste no animal encontrar a toca alvo dentro de um tempo limite. O tempo gasto para completar a tarefa em LO não diferiu entre os grupos em nenhuma das fases (fase de treinamento (FTR, $U = 33$, $p = 0,81$), fase teste (FT, $t = 1,160$, $p = 0,26$), fase reteste (FR, $U = 23$, $p = 0,22$). Contudo, o grupo experimental exibiu menos erros na memória de trabalho na FT ($U = 16,50$, $p = 0,045$), sem diferença nos erros de memória de referência na FT ($t = 1,62$, $p = 0,12$) ou na FR ($U = 25$, $p = 0,30$). No LB, o tempo gasto para encontrar o escape na FTR diminuiu ao longo das sessões ($F(11,165) = 5,25$, $p < 0,0001$), mas não diferiu entre os grupos ($F(1,165) = 0,11$, $p = 0,73$). Na FT, o tempo para encontrar o escape não diferiu entre os grupos ($t = 1,08$, $p = 0,31$), mas o grupo experimental utilizou uma estratégia diferente para encontrar o orifício de escape, despendeu tempo semelhante nas diferentes zonas, e os animais controle despenderam maior tempo próximo ao orifício alvo. Um único episódio do SE neonatal melhorou sutilmente a memória de trabalho e a flexibilidade comportamental.

Palavras-chave: *Status Epilepticus*, Funções executivas, Memória de trabalho.

ABSTRACT

The *status epilepticus* (SE) in rats produces impairment in sociability, emotionality, with no changes in cognition. However, structural changes in autism are known, so the present study aims at analyzing executive functions through tasks with high cognitive demand as Barnes maze (BM) and octagonal maze (OM). We used 17 male Wistar rats, being 8 of the control

group and 9 experimental, receiving induction of saline 0.9% and pilocarpine 380 mg / kg respectively. In OM, the animal must collect 4 rewards within a time limit without entering unrewarded arms at a second moment of stimulus presentation and without entering the reward arm again. In BM the task is for the animal to find the target burrow within a time limit. The time spent to complete the task in OM did not differ between groups in none of the phases (Training phase (TRP, $U=33$, $p=0.81$), test phase (TP, $t=1.160$, $p=0.26$), retest phase (RP, $U=23$, $p=0.22$). However, experimental group exhibited less working memory errors in the TP ($U=16.50$, $p=0.045$), with no difference in reference memory errors in TP ($t=1.62$, $p=0.12$) or in RP ($U=25$, $p=0.30$). In BM, the time spent to find the escape hole in TRP decreased across sessions ($F(11,165) = 5.25$, $p < 0.0001$), but not differ between groups ($F(1,165) = 0.11$, $p=0.73$). In TP, the time to reach the escape hole did not differ between groups ($t=1.08$, $p=0.31$), but experimental group used different strategy to find the escape hole, spent similar time in the different zones, and the control animals spent more time near the target hole. A single episode of neonatal SE slightly improved working memory and behavioral flexibility.

Keywords: status epilepticus, executive function, working memory.

1. INTRODUÇÃO

A convulsão neonatal pode causar sequelas permanentes no desenvolvimento cerebral, sem uma perda neuronal considerável. Em modelos animais, a convulsão neonatal gera comportamento ansioso e comportamento autista caracterizado por déficit de discriminação social e redução da preferência social, assim sugerindo que o modelo pode ser apropriado para o estudo dos transtornos do neurodesenvolvimento.

Prejuízos das funções executivas são frequentemente observados no transtorno do espectro autista (TEA), portanto o presente trabalho possui o objetivo de avaliar as funções executivas para validação do modelo *status epilepticus* (SE) neonatal para o estudo dos transtornos do neurodesenvolvimento, a fim de responder se a indução de SE gerará déficits nas funções executivas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A neurociência tem como estudo o sistema nervoso em suas funcionalidades, estruturas, mecanismos, desenvolvimento e comportamento. Tradicionalmente vista como um ramo da biologia, contudo atualmente é uma ciência interdisciplinar que se relaciona com outros campos como educação, qualidade de vida, patologias, química, psicologia, etc. (Diamond; Amso, 2008).

As patologias neurológicas afetam o sistema nervoso central e periférico, causando alterações na circuitaria, concentração e estrutural dos sistemas neuronais (Elias, 2004). O autismo é uma dessas patologias, que possui um grande espectro de sintomas e por essa razão há a necessidade de pesquisa na área (Posar; Visconti, 2016).

O autismo está presente no transtorno do espectro autista (TEA), um grupo de transtornos caracterizado, principalmente, pelo déficit de comunicação social e comportamentos frente a interesses restritos e repetitivos (Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais – 5ª edição - DSM-5, American Psychiatry Association, 2013).

A prevalência do TEA é de 1 em 68 crianças de oito anos nos Estados Unidos. Nota-se uma diferença entre sexo, sendo aproximadamente 4 vezes mais frequente no sexo masculino (Christensen et al., 2012). O TEA e a epilepsia estão intimamente associados, apresentando uma prevalência de 5-46% dos indivíduos com autismo apresentarem epilepsia. A extensa prevalência de indivíduos com autismo apresentarem epilepsia pode ser devido à heterogeneidade da população estudada, já que deve ser considerado quanto à coexistência de deficiência intelectual, idade, história familiar, atraso grave na linguagem, síndromes genéticas e a gravidade dos sintomas autísticos (Woolfendem et al. 2012).

A epilepsia é definida conceitualmente como uma doença cerebral caracterizada pela predisposição persistente do cérebro a gerar crises epiléticas e pelas consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais desta condição (Fisher et al., 2014). A relação entre epilepsia e autismo ainda não está clara, mas existem estudos que apontam que fatores genéticos, má formações e crises convulsivas no período do desenvolvimento podem contribuir, em indivíduos vulneráveis, para o desenvolvimento do TEA (Tuchman et al., 2009; Ben-ari; Holmes, 2006). Convulsões no início do desenvolvimento cerebral podem causar sequelas permanentes levando a comportamentos semelhantes ao TEA como evidenciado em estudos em animais. Estas crises convulsivas podem alterar o curso do desenvolvimento cerebral alterando o desenvolvimento de redes corticais por modificações epigenéticas, que consistem em alterações na expressão dos genes sem mudar a sequência do DNA (Ben-ari; Holmes, 2006).

É evidente a razão pelo qual essas convulsões acometem mais recém-nascidos. Pelo fato do cérebro em desenvolvimento ser mais excitável, tendo assim uma forte relação com a idade (Ben-ari; Holmes, 2006). A maior excitabilidade é dada em parte a ação excitatória do Ácido Gama Aminobutírico (GABA). Em modelo animal é evidenciado o efeito despolarizante do neurotransmissor em ratos jovens. Com o decorrer do desenvolvimento o GABA assume o papel de hiperpolarizante, adquirindo seu caráter inibitório (Khazipov et al., 2004).

Tais convulsões geralmente se apresentam de modo repetitivo no neonato, sem apresentar consciência entre elas. A essa condição damos o nome de *Status Epilético* (SE), que se caracteriza como condição resultante da falha de mecanismos cerebrais que levam a convulsões prolongadas e podem resultar em consequências em longo prazo, incluindo lesão ou morte neuronal e alteração das redes neuronais, dependendo do tipo e duração das crises convulsivas (Trinka et al., 2015).

O SE apresenta uma incidência estimada no período neonatal entre 1,1 a 8,6/1000 nascidos vivos (Fabbroni; Cysneiros, 2014). Estudos demonstraram que crises convulsivas neonatais em ratos produzem redução da preferência social e déficit de discriminação social, caracterizando comportamentos autistas (Catelhana et al., 2010a, 2010b, 2013 e 2015; Bernard; Benke, 2015; Lugo et al., 2014) e produção de alterações cognitivas (Holmes et al., 1998). Porém não apresentando prejuízos nas funções executivas (Barbosa, 2017).

Todavia regiões corticais e subcorticais estão alteradas no TEA, como córtex frontal (Carper; Courchesne, 2000) e hipocampo (Nicolson et al., 2006). Essas alterações podem ser histológicas ou associadas à concentração de neurotransmissores, receptores, transportadores e co-transportadores. Disfunções do córtex pré-frontal são notadas em vários distúrbios mentais e são atribuídas a um ou mais aspectos das funções executivas (Grissom

et al., 2014). Segundo Nicole Schmitz et al. (2006) alguns sintomas do TEA estão relacionados a prejuízos das funções executivas. Essas funções abarcam a atenção sustentada, controle da impulsividade, comportamento direcionado, resposta inibitória e entre outros (Johnson et al., 2007). Há evidências da relação entre funções executivas e alguns espectros do autismo como o autismo de alto funcionamento (Johnson et al., 2007).

3. METODOLOGIA

Os procedimentos foram devidamente submetidos e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Presbiteriana Mackenzie segundo o processo N° 150/12/2016.

Ratos Wistar machos recém-nascidos foram mantidos em condições controladas (ciclo claro / escuro de 12 horas, 25-26°C) com suas mães. As colônias foram aleatoriamente divididas em dois grupos: controle (CTR) e experimental (EXP). Para indução do *status epilepticus* (SE) o grupo experimental recebeu pilocarpina (380 mg/kg, i. p.) no nono dia após o nascimento (PN9), que corresponde um neonato a termo, já que se encontra no intervalo de PN8-PN10 (Holopainen, 2008). O grupo controle (CTR) recebeu em PN9 solução salina a 0,9% (0,1 mL/10 g). Os animais voltaram para suas gaiolas após 4 horas. Em PN21, os animais foram desmamados e agrupados segundo o tratamento formando 9 animais EXP e 8 CTR.

Os testes comportamentais foram iniciados após sessenta dias do nascimento (PN60) e foram realizados no mesmo horário para reduzir a interferência do ciclo circadiano sobre o comportamento, sendo os animais dos diferentes grupos observados alternadamente. Os equipamentos foram limpos com solução 5% de etanol no intervalo entre sessões, para evitar possíveis pistas olfativas ou rastros de odor deixados do indivíduo anterior.

1.1 Labirinto de Barnes

Adaptado de Attar A. et al. (2013), Rosenfeld C.S. et al. (2014) e Sunyer B. et al. (2007).

Consiste na avaliação de déficit cognitivo no aprendizado e memória com efeito de estímulos aversivos. O equipamento é constituído de madeira no formato de arena, cor branca, com aproximadamente 1,2 metros de diâmetro, contendo 18 orifícios vazados. Cada orifício com 9 cm de diâmetro dispostos radialmente com um metro de elevação do chão. Sob um dos orifícios foi colocado uma caixa escura com maravalha usada como escape, sendo chamada de toca verdadeira e as outras de tocas falsas. No perímetro da arena foi colocada hastes com formas geométricas em quatro direções, a fim de ser uma pista para a orientação espacial. A cada trial a arena foi rotacionada, no treinamento e teste, em sentido horário para

forçar que o animal se guiasse pelas formas geométricas e não por objetos do ambiente. Ao final de todo o Trial a arena e a toca verdadeira foram limpas com álcool 5%. O procedimento foi dividido em quatro fases: habituação (1dia), treinamento (12 dias), teste (1 dia) e reversão (12 dias). Sendo feito uma sessão por dia

Na habituação o animal foi inicialmente colocado na toca verdadeira por 2 minutos. Após isso o animal foi deixado no centro do labirinto dentro de uma caixa escura por 30 segundos permitindo que o rato estivesse encarando uma direção aleatória quando levantada a caixa. A caixa foi erguida, o rato foi liberado para explorar a arena por 3 minutos. Se o animal encontrasse a toca verdadeira o tempo era interrompido e registrado e o animal permanecia na toca por 1 minuto. Caso o animal excedesse o tempo máximo o pesquisador o conduzia gentilmente para toca, onde ele permanecia 1 minuto. Assim que todos os animais terminaram sua sessão foram colocados de volta em suas caixas originais.

Após uma hora de ambientação começa o treinamento em que o animal foi colocado no centro do labirinto dentro de uma caixa escura por 15 segundos. Quando a caixa foi levantada o animal era permitido de explorar o labirinto por 2 minutos. Se o animal encontrasse a toca ele permaneceria na mesma por 1 minuto. Caso não encontrasse a toca verdadeira o animal era guiado gentilmente até a mesma e permaneceria por 1 minuto. Durante o treinamento a latência primária e "*Holes searched*" (HS) primário foram medidas. Latência primária é o tempo para identificação do orifício alvo. HS primário é a quantidade de vezes que o animal aproxima seu focinho ao orifício.

O teste foi realizado após 24 horas do treinamento se dá a avaliação da memória de curto prazo e da aprendizagem. A caixa de escape foi removida e o animal foi colocado no centro do labirinto dentro da caixa escura, que era levantada após 15 segundos. O animal possuía 2 minutos para explorar. Durante a fase de exploração o tempo em cada quadrante e HS por quadrantes foram medidos. O labirinto foi dividido em centro e 6 quadrantes com 3 orifícios em cada, sendo chamados de: 0-60; 60-120; 120-180; 180-240; 240-300; 300-360 em ordem no sentido horário.

A reversão consiste na mudança da toca verdadeira para o quadrante oposto do quadrante alvo na fase de treinamento, a fim de avaliar a flexibilidade comportamental. A mesma metodologia do treinamento se aplica na reversão.

Labirinto radial de oito braços

O aparato consiste de uma plataforma central conectada a 8 braços dispostos radialmente (A x L x C, 230 x 430 x 430, Insight Ltda, Brasil).

Os ratos foram submetidos inicialmente a um jejum noturno e depois 3 dias de racionamento de comida. Os ratos devem ficar com 85% de seu peso corporal inicial e foram mantidos assim durante todo o experimento. A recompensa (nescau cereal) foi disponibilizada dentro das caixas moradia para os animais se habituarem com as mesmas em um ambiente familiar.

No aparato foi fixado painéis com figuras geométricas que servem de orientação espacial. Os animais, em pares da mesma caixa, foram colocados para habituação por 2 dias consecutivos por 10 minutos e a recompensa foi espalhada por todo o labirinto para estimular a exploração. Nos 2 dias subsequentes, os animais foram colocados individualmente no labirinto e a recompensa foi disponibilizada somente no final dos braços. Os animais ficaram confortáveis para a realização da tarefa somente quando estavam deambulando livremente no aparato, sem hesitação e sem defecar.

O protocolo permite a dissociação entre a memória de trabalho e de referência. O teste foi dividido em treino, teste e reteste. No treino, todos os braços foram abertos, mas em somente quatro foi disponibilizado a recompensa e foram sempre os mesmos. Os animais permaneceram no aparato por 10 minutos ou até acharem as recompensas. O procedimento foi repetido 30 minutos e 24 horas após o treino (fase teste e reteste) e os animais tiveram até 10 minutos para completarem a tarefa. Foram analisados: número de entradas nos braços iscas (acertos), número de entradas nos braços sem iscas (erro), número de reentradas nos braços iscas (erro), número total de erros e o tempo para obtenção de todas as recompensas. Entradas nos braços sem recompensa foram consideradas erros de memória de referência, exceto durante a fase de treino, pois como um primeiro estímulo não há referência para o animal possuir tal memória. Reentradas nos braços iscas, ou seja, quando o alimento já havia sido consumido, foram consideradas erros na memória de trabalho.

Análise Estatística

Para avaliar a distribuição Normal ou Gaussiana, as variáveis foram submetidas aos testes de D'Agostino & Pearson e Shapiro-Wilk. Aquelas que apresentaram distribuição normal foram expressas como média + desvio padrão e as demais, como mediana com percentil 25-75. Os dados com distribuição normal, conforme cada caso, foram analisados com teste t de Student ou ANOVA Mista seguido pelo pós-teste de Bonferroni. As variáveis com distribuição não paramétrica, conforme cada caso, foram analisadas com o teste exato de Fisher ou Mann Whitney. Diferenças foram consideradas significantes para valores de $p < 0.05$.

Ao término dos ensaios os animais foram mortos por decapitação sob anestesia profunda (Uretana 1500 mg / kg), os tecidos foram dissecados (hipotálamo, amígdala,

estriado, hipocampo e córtex pré-frontal) e armazenados em freezer -80°C até serem usados em estudos moleculares posteriores.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Labirinto Radial

Fase treino

Na fase de treino, não foram observadas diferenças entre os grupos, em nenhum dos parâmetros observados: tempo para coleta da recompensa (fig 1 A), número total de erros (fig 3B), número de erros na memória de trabalho (fig 1 C). A memória de referência não foi analisada nessa fase como citado anteriormente, exatamente por ser a primeira apresentação do estímulo, assim não possuindo memória de referência.

Fase treino

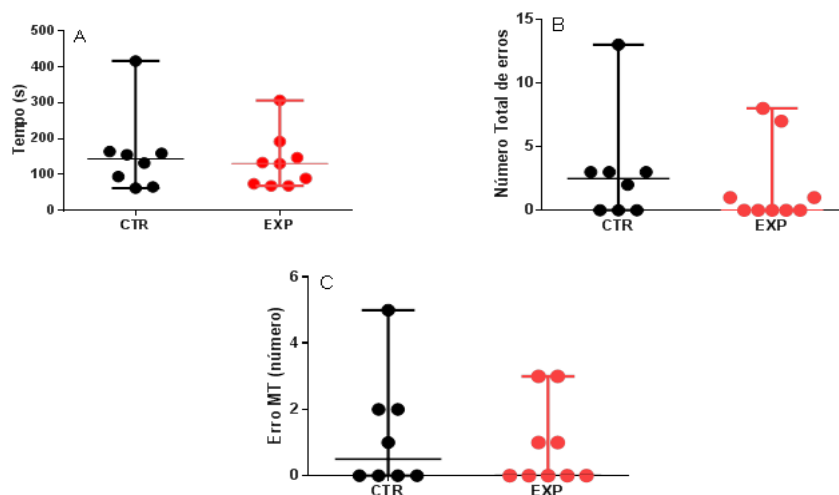


Figura 1. Fase de treinamento no labirinto radial. Tempo para coleta da recompensa (A), número total de erros (B) e número de erros na memória de trabalho (MT) estão representados com mediana com percentil 25-75 dos grupos controle (CTR, n=8) e experimental (EXP, n=9).

Fase teste

Na fase teste, os animais experimentais apresentaram menor número de erros na memória de trabalho (MT) ($U=16,5$, $p=0,045$) comparativamente aos controles, sem nenhuma alteração nos demais parâmetros observados (fig 2).

Fase teste

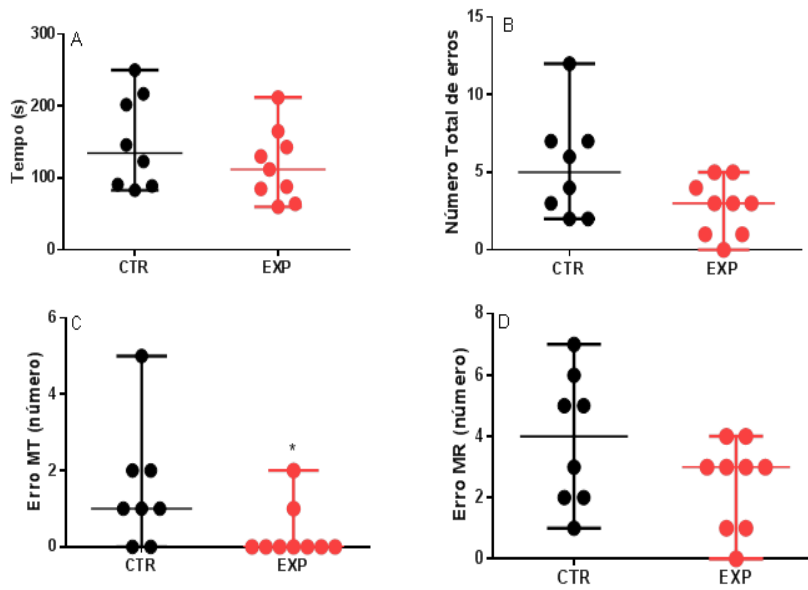


Figura 2. Fase de teste no labirinto radial. Tempo para coleta da recompensa (A), número total de erros (B) número de erros na memória de trabalho (MT) (C) e na memória de referência (MR) (D) estão representados com mediana com percentil 25-75 dos grupos controle (CTR, n=8) e experimental (EXP, n=9). Animais experimentais apresentaram menor número erros na memória de trabalho, * $p = 0,045$.

Fase reteste

Na fase reteste, realizada 24 horas após a fase de treino, não foram observadas diferenças entre os grupos em nenhum dos parâmetros. tempo gasto para completar a tarefa ($U = 23$, $p = 0,23$; fig. 3A), número total de erros ($U = 22$, $p = 0,19$; fig. 3B), erro na memória de trabalho ($U = 26,5$, $p = 0,28$; fig. 3C) e erro na memória de referência ($U = 25$, $p = 0,30$; fig. 3D).

Fase reteste

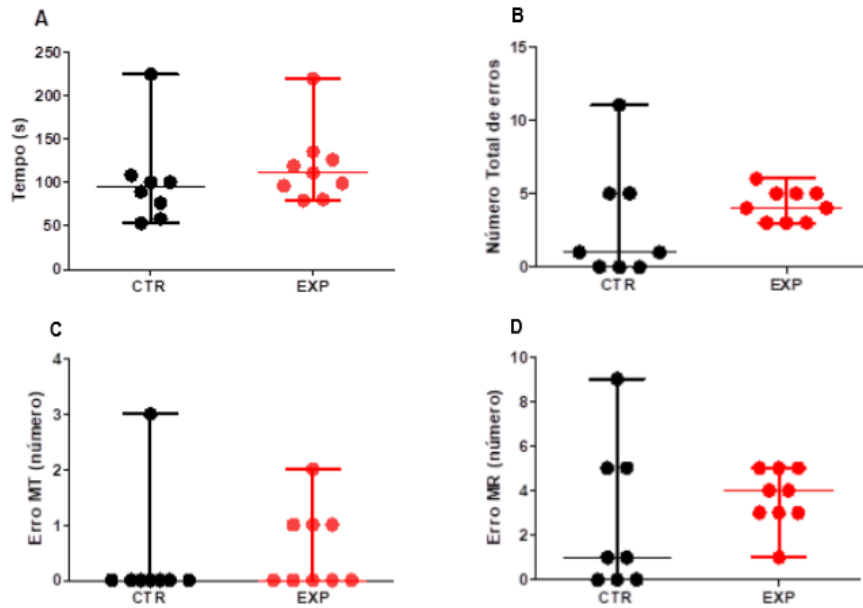


Figura 3: Fase reteste no labirinto radial. Tempo para coleta da recompensa (A), número total de erros (B) número de erros na memória de trabalho (MT) (C) e na memória de referência (MR) (D) estão representados em mediana com percentil 25-75 dos grupos controle (CTR, n=8) e experimental (EXP, n=9).

Labirinto de Barnes

Na fase de treino, o tempo para entrar na toca reduziu gradativamente em ambos os grupos no decorrer das sessões ($F(11,165) = 5,256$; $p < 0,0001$), mas não diferiu entre eles ($F(1,15) = 0,1183$; $p = 0,7357$), sugerindo que os animais experimentais não apresentam prejuízo na aprendizagem visuoespacial (fig 4).

Latência pelo número de sessões

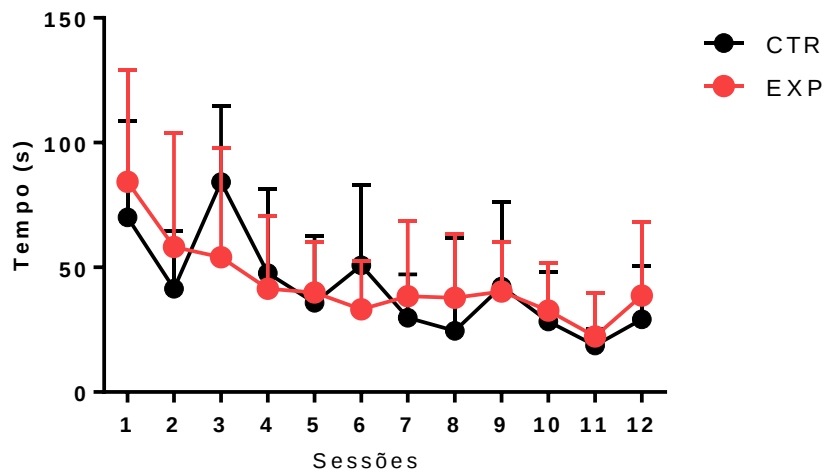


Figura 4. Tempo para entrar na toca verdadeira nas sessões de treinamento representado como média $\pm$ desvio padrão. Não foram observadas diferenças entre os grupos.

Na fase teste, quando a toca foi removida, o tempo para localização do orifício situado na zona 2 (figura 4C) não diferiu entre os grupos, sugerindo que os animais experimentais não apresentam prejuízo na memória de longo prazo visuoespacial (fig 4A). Animais do grupo controle gastaram mais tempo na zona adjacente (Z3, $p=0.022$) à zona 2 (Z2), e os experimentais exploraram de forma mais homogênea o labirinto (fig 4B). Considerando que os animais experimentais não apresentaram prejuízo na memória de longo prazo, a exploração mais homogênea do labirinto sugere que eles utilizaram uma estratégia mais eficiente para localizar a toca, sugerindo que pode ser reflexo de um ganho sutil na memória de trabalho e ou maior flexibilidade comportamental. A flexibilidade comportamental se refere a capacidade de adaptar-se frente as demandas do ambiente (Ghahremani et al., 2010).

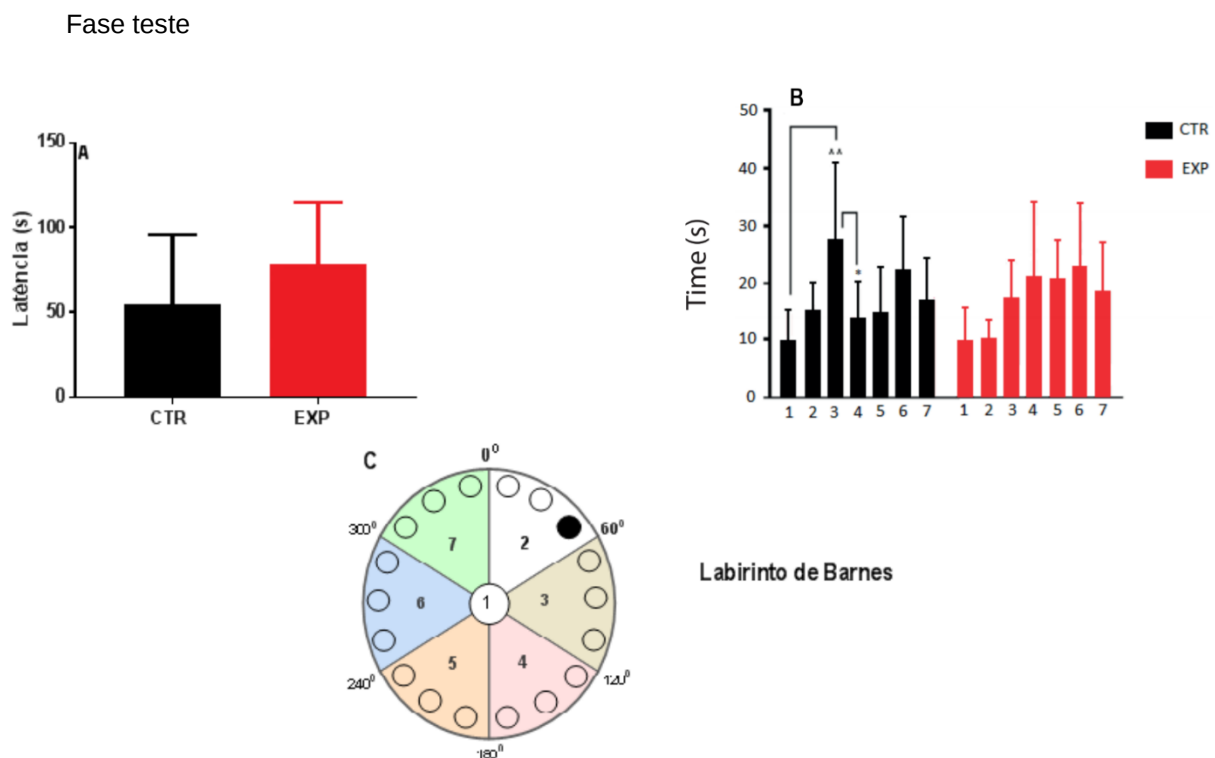


Figura 5. Labirinto de Barnes. Latência para localizar o orifício correspondente a toca (A), tempo nas zonas do labirinto (B), representados como média $\pm$ desvio padrão, e ilustração do equipamento (C).

A latência para alcançar o orifício da toca localizado na zona 2 não variou entre os grupos (A).

Animais do grupo controle gastaram mais tempo na zona adjacente (zona 3) à zona alvo quando comparados ao tempo na zona central. Observe que nos animais experimentais, o tempo despendido nas zonas foi mais homogêneo comparativamente aos animais controles.

Esses resultados corroboram com estudo anterior do grupo Barbosa et al., (2017) no qual não foram observadas alterações na aprendizagem associativa, na memória de longo

prazo, nas memórias de trabalho e de referência e na flexibilidade comportamental avaliada por dois paradigmas bem padronizados. O impacto das convulsões precoces na função cognitiva tardia ainda é motivo de controvérsia. Por exemplo, Kleen et al. (2011) não observaram déficit na aprendizagem associada avaliada pela tarefa de condicionamento operante em animais sujeitos a convulsões induzidas por flurotil, mas encontraram um leve comprometimento na flexibilidade comportamental. No trabalho de Klen e colaboradores, a flexibilidade comportamental foi avaliada usando duas medidas: o número de vezes que os ratos passavam de uma alavanca para outra (esquerda e direita) e o tempo gasto na alavanca de preferência. Para o primeiro critério não houve diferença entre os grupos, mas para o segundo, o grupo experimental exibiu uma assimetria de preferência de alavanca, sugerindo comportamento perseverante. Outros grupos também relataram alterações cognitivas. Sogawa et al., (2001), Rogalski Landrot et al., (2001) Karnam et al., (2009), Nishimura et al., (2011) Lugo et al., (2014) relataram prejuízo na aprendizagem visual-espacial no labirinto aquático de Morris e no labirinto radial, ambas tarefas dependentes do hipocampo. No entanto, também foi relatado que as convulsões no início do desenvolvimento não produzem déficits na aprendizagem visual-espacial, avaliada no labirinto aquático de Morris (Cornejo et al., 2008, Barry et al., 2016), no reconhecimento de objeto e no condicionamento ao medo (Cornejo Et al., 2008). Barbosa et al., (2017) levantou o questionamento de que se um único episódio de SE produz disfunção cognitiva, o efeito deve ser leve e que os protocolos não são suficientemente sensíveis para captar o déficit ou que o déficit foi superado ao longo do tempo. De fato, neste estudo utilizamos protocolos que exigem uma maior demanda cognitiva, e os resultados não somente reforçam a ausência de prejuízos cognitivos, mas sugerem um ganho sutil na memória de trabalho e ou na flexibilidade comportamental.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho avaliou as funções executivas em animais submetidos ao modelo do SE neonatal. Um único episódio do SE neonatal não produziu déficits cognitivos, ao contrário, melhorou sutilmente a memória de trabalho e a flexibilidade comportamental.

6. REFERÊNCIAS

American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5). Arlington: **American Psychiatric Publishing**; 2013.

ATTAR, A.; LIU, T.; CHAN, W. T. C.; HAYES, J.; NEJAD, M.; LEI, K; BITAN, G. A Shortened Barnes Maze Protocol Reveals Memory Deficits at 4-Months of Age in the Triple-Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. **PLoSOne**, v. 8, n. 11, p. e80355, nov. 2013.

BARBOSA, G. H. L. **Preservação das Funções Executivas Em Ratos Expostos Ao Status Epilepticus Neonatal**. 2017. 52 f. Tese (Doutorado), Laboratório de Neurobiologia, Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2017. Cap. 7.

BARRY J. M., TIAN C., SPINELLA A., PAGE M., HOLMES G. L.. Spatial cognition following early-life seizures in rats: Performance deficits are dependent on task demands. **Epilepsy Behav.**, Burlington, v. 60, n. 1, p.1-6, jul. 2016

BEN-ARI, Y.; HOLMES, G. L. Effects of seizures on developmental processes in the immature brain. **Lancet Neurol**, v. 5, n. 12, p. 1055-1063, dez. 2006.

BERNARD, B. P.; BENKE, A. T. Early life seizures: evidence for chronic deficits linked to autism and intellectual disability across species and models. **Exp Neurol**. v. 263, p. 72-78, Jan. 2015.

CARPER, R. A.; COURCHESNE, E. Inverse correlation between frontal lobe and cerebellum sizes in children with autism. **Brain**, v. 123, n. 4, p. 836-844. 2000.

A: CASTELHANO, Adelisandra. **Status epilepticus neonatal leva a prejuízos na interação gênero-dependente: novo modelo animal para investigação dos mecanismos neurobiológicos envolvidos com o transtorno do espectro autista?** 2010. 47f. Dissertação (Mestrado em distúrbios do desenvolvimento)-Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo.

B: CASTELHANO, A. S. S., Scorza F. A., Teixeira M. C., Arida R. M., Cavalheiro E. A., Cysneiros R. M. Social play impairment following status epilepticus during early development. **Journal of Neurotransmission**. v. 117, n. 10, p. 1155-1160, 2010.

CASTELHANO, A.S.S.; CASSANE, G.S.T.; SCORZA, F.A.; CYSNEIROS, R.M. Altered anxiety-related and abnormal social behaviors in rats exposed to early life seizures. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v.7, p.1-8, 2013.

CASTELHANO, A. S.; RAMOS, F. O.; SCORZA, F. A.; CYSNEIROS, R. M. Early life seizures in female rats lead to anxiety-related behavior and abnormal social behavior characterized by reduced motivation to novelty and deficit in social discrimination. **J. Neural Transm.**, ed. 3, v. 122, p. 349-355, 2015.

CHRISTENSEN, D. L.; BILDER, D. A.; ZAHORODNY, W.; PETTYGROVE, S.; DURKIN, M. S.; FITZGERALD, R. T.; RICE, C.; KURZIUS-SPENCER, M.; BAIO, J.; YEARGIN-ALLSOPP, M.; LEE, L. C.; ROBINSON, C.; SCHULZ, E.; WELLS, C.; WINGATE, M. S.; CONSTANTINO, J. N.; VAN NAARDEN BRAUN, K.; CHARLES, J.; DANIELS, J.; CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Prevalence and Characteristics of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years—Autism and Development Disabilities Monitoring Network, 11 sites, United States, 2012. **MMWR Surveillance Summaries**, v. 65, p. 1-23, 2016.

CORNEJO B. J. MESCHES M. H., BENKE T. A. A single early-life seizure impairs short-term memory but does not alter spatial learning, recognition memory, or anxiety. **Epilepsy Behav.**, Aurora, v. 4, n. 13, p.585-592, nov. 2008.

DIAMOND, A.; AMSO, D. Contributions of Neuroscience to Our Understanding of Cognitive Development. **Current directions in psychological science**. v. 17, n. 2, p. 136-141, 2008.

ELIAS, R, M. Distúrbios do sistema nervoso central e periférico. **J Bras Nefrol**. v. 26, n. 3, p. 40-41, 2004.

FABBRONI, L.B.; CYSNEIROS, M. R.; **As Crises Neonatais Produzem Efeitos Neurológicos Deletérios De Longo Prazo: Evidências Clínicas e Experimentais.** 2014, v. 14, p. 85-94. Tese (Doutorado em Neurobiologia)-Programa de Pós-Graduação em Distúrbios do Desenvolvimento, Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo.

FISHER, R. S.; ACEVEDO, C.; ARZIMANOGLU, A.; BOGACZ, A.; CROSS, J. H.; ELGER, C. E.; ENGEL, J. Jr.; FORSGREN, L.; FRENCH, J. A.; GLYNN, M.; HESDORFFER, D. C.; LEE, B. I.; MATHERN, G. W.; MOSHÉ, S. L.; PERUCCA, E.; SCHEFFER, I. E.; TOMSON, T.; WATANABE, M.; WIEBE, S. ILAE Official Report: a practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, ed. 4, v. 55, p. 475-482, 2014.

GHAHREMANI D. G., MONTEROSSO J., JENTSCH J. D., BILDER R. M., POLDRACK R. A. Neural components underlying behavioral flexibility in human reversal learning. **Cereb Cortex**. 2010; 20:1843–52.

GRISSOM, N. M.; HERDT, C.T.; DESILETS, J.; LIDSKY-EVERSON, J.; REYES, T.M. Dissociable deficits of executive function caused by gestational adversity are linked to specific transcriptional changes in the prefrontal cortex. **Neuropsychopharmacology**. ed. 11, v. 41, p. 1353-1363, 2005

HOLMES, G. L.; GAIRSA, J. L.; CHEVASSUS-AU-LOUIS, N.; BEN-ARI, Y. Consequences of neonatal seizures in the rat: morphological and behavioral effects. **Ann. Neurol.**, v.44, p. 845-857, 1998.

JOHNSON, K. A.; ROBERSTON, I. H.; KELLY, S. P.; SILK, T. J.; BARRY, E.; DÁIBHIS, A.; WATCHORN, A.; KEAVEY, M.; FITZGERALD, M.; GALLAGHER, L.; GILL, M.; BELLGROVE, M. A. Dissociation in performance of children with ADHD and high-functioning autism on a task of sustained attention. **Neuropsychologia**, ed. 10, v. 45, p. 2234-2245, 2007.

KARNAM H. B., ZHOU J. L., HUANG L. T., ZHAO Q., SHATSKIKH T., HOLMES G. L. Early life seizures cause long-standing impairment of the hippocampal map. **Exp Neurol**, Hanover, v. 2, n. 217, p.378-387, jun. 2009.

KHAZIPOV, R., KHALILOV I., TYZIO R., MOROZOVA E., BEN-ARI Y., HOLMES G. L.. Developmental changes in GABAergic actions and seizure susceptibility in the rat hippocampus. **European Journal Neuroscience**. v. 19, p. 590–600, 2004.

KLEEN J. K., SESQUE A., WU E. X., MILLER F. A., HERNAN A. E., HOLMES G. L., SCOTT R. C. Early-life seizures produce lasting alterations in the structure and function of the prefrontal cortex. **Epilepsy Behav**. 2011; 22:214–9.

LANDROT R. I., MINOKOSHI M., SILVEIRA D. C., CHA B. H., HOLMES G. L. Recurrent neonatal seizures: relationship of pathology to the electroencephalogram and cognition. **Brain Res Dev Brain Res.**, Boston, v. 129, n. 1, p.27-38, jul. 2001.

LUGO, N. J.; SWANN, W. J.; ANDERSON, E. A. Early-life seizures result in deficits in social behavior and learning. **Exp neurol**, v. 256, p. 74-80, Jun. 2014.

NICOLSON, N.; DEVITO, T. J.; VIDAL, C. N.; SUI, Y.; HAYASHI, K. M.; DROST, D. J.; WILLIAMSON, P. C.; RAJAKUMAR, N.; TOGA, A. W. ; THOMPSON, P. M. Detection and mapping of hippocampal abnormalities in autism. **Psychiatry Res.**, v.148, n.1, p. 11-21, 2016.

NISHIMURA, M., X. Gu & J. W. SWANN. Seizures in early life suppress hippocampal dendrite growth while impairing spatial learning. **Neurobiology of Disease**. 44, 205-214, 2011.

POSAR, A.; VISCONTI, P. Autismo em 2016: necessidade de respostas. **Jornal de Pediatria**. v. 93, n. 2, p. 111-119, 2016.

ROSENFELD, C.S.; FERGUSON, S.A. Barnes Maze Strategies with Small and Large Rodent Models. **J. Vis. Exp.** v. 1, n. 84, p. 1-15, 2014.

SCHMITZ, N.; RUBIA, K.; DALY, E.; SMITH, A. B.; WILLIAMS, S. C.; MURPHY, D. G. M. Neural correlates of executive function in autistic spectrum disorders. **Biol Psychiatry**. v. 59, p. 7-16, 2006.

SOGAWA, Y., M. MONOKOSHI, D. C. SILVEIRA, B. H. CHA, M. R. CILIO, B. K. MCCABE, X. LIU, Y. HU & G. L. HOMES (2001) Timing of cognitive deficits following neonatal seizures: relationship to histological changes in the hippocampus. **Brain Res Dev Brain Res**, 131, 73-83.

SUNYER, B.; PATIL, S.; HÖGER, H.; LUBEC, G. Barnes maze, a useful task to assess spatial reference memory in the mice. **Nat. Protoc. Exchange**, out. 2007.

TRINKA, E., COCK H., HESDORFFER D., ROSSETTI A. O., SCHEFFER I.E., SHINNAR S., SHORVON S., LOWENSTEIN D. H. A definition and classification of status epilepticus – Report of the ILAE Task Force on Classification of Status Epilepticus - Definição e classificação do status epilepticus - Relatório da ILAE Task Force sobre Classificação do Status Epilepticus. **Epilepsia**. v. 56, n. 10, p. 1515-1523, 2015.

TUCHMAN, R.; MOSHÉ, S. L.; RAPIN, L. Convulsing toward the pathophysiology of autism. **Brain Dev.**, ed. 2, v. 31, p. 95-103, 2009.

WOOLFENDEN, S., SARKOZY V., RIDLEY G., COORY M., WILLIAMS K. A systematic review of two outcomes in autism spectrum disorder – epilepsy and mortality. **Developmental Medicine & Child Neurology**. v. 54, n. 7, p. 306-312, 2012.

Contatos: samupb1@hotmail.com, rcysneiros@yahoo.com.