

## Plasticidade Neuronal Associada à Epilepsia do Lobo Temporal Mesial: Insights a partir de Estudos em Humanos e em Modelos Animais

Flávia Araujo Guedes\*, Orfa Yineth Galvis-Alonso\*\*, João Pereira Leite\*

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Ribeirão Preto, SP

---

### RESUMO

A epilepsia do lobo temporal (ELT), a forma mais freqüente das epilepsias resistentes ao tratamento farmacológico entre a população adulta, se caracteriza por perda neuronal hipocampal e comprometimento cognitivo progressivos. Estudos em pacientes com ELT e em modelos animais têm demonstrado a ocorrência de fenômenos de plasticidade neuronal exuberantes e dinâmicos na formação hipocampal. O estudo desses fenômenos é fundamental para a definição dos mecanismos responsáveis pela gênese e progressão da ELT, e a partir destes, para o desenvolvimento de melhores estratégias terapêuticas. Esta revisão de estudos em humanos e modelos animais trata sobre alterações plásticas que ocorrem como a perda neuronal, neurogênese, mudanças em dendritos, axônios, sinapses e glia, tentando estabelecer o provável papel destas na ELT.

**Palavras-chave:** Epileptogênese, epilepsia do lobo temporal, plasticidade neural, perda neuronal, gliose, neurogênese, brotamento, atrofia, esclerose hipocampal, sinapses elétricas.

### ABSTRACT

*Neuronal plasticity associated with mesial temporal lobe epilepsy: insights from human and animal model studies*

Temporal lobe epilepsy (TLE), the most frequent type of focal epilepsy in adults, is characterized by resistance to pharmacological treatment, progressive hippocampal neuronal loss and impairment of cognitive and neuropsychological performances. Studies with human specimens and experimental animal models have demonstrated exuberant and dynamic neuronal plasticity phenomena in the hippocampal formation associated with TLE. The study of these phenomena is fundamental for the definition of the genesis and progression mechanisms of epilepsy and for the development of better therapeutic strategies than those current available. In this article, we review neuronal and glial plastic alterations as neuronal death and birth, dendritic spine formation, axonal sprouting, gliosis and gap junction establishment and their role in the pathophysiology of TLE.

**Key words:** epileptogenesis, temporal lobe epilepsy, neural plasticity, neuronal loss, gliosis, neurogenesis, sprouting, atrophy, hippocampal sclerosis, gap junctions.

---

\* Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

\*\* Departamento de Biologia Molecular, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto.

Received Nov. 10, 2005; accepted Nov. 25, 2005.

## INTRODUÇÃO

A epilepsia de lobo temporal (ELT) é a forma mais comum de epilepsia focal resistente ao tratamento farmacológico em adultos, responsabilizando-se por pelo menos 40% de todos os casos<sup>(39)</sup>. Os pacientes com ELT cujas crises originam-se de estruturas mesiais do lobo temporal (ELTM), incluindo a amígdala, hipocampo e giro parahipocampal, constituem um subtipo distinto baseado na semiologia ictal, nos achados do eletroencefalograma (EEG), na patologia e na resposta à cirurgia.

A ELTM, na maioria das vezes, tem seu início na infância tardia ou adolescência. Há geralmente história prévia de convulsão febril, hipóxia, trauma crânio-encefálico ou infecções do SNC<sup>(35)</sup>. Embora os pacientes possam apresentar crises secundariamente generalizadas, o tratamento medicamentoso suprime a maioria destas, e as crises parciais complexas tornam-se o tipo predominante e incapacitante<sup>(35)</sup>. A semiologia ictal, na maioria dos pacientes, consiste em uma aura (mais freqüentemente sensações epigástricas, alterações dismnésticas) seguida por olhar fixo não responsivo, automatismos oroalimentares, postura distônica da mão contralateral ao lobo temporal epileptogênico e automatismos motores estereotipados da mão ipsilateral<sup>(35,40)</sup>. Após a crise há geralmente um período de confusão, e afasia pós-ictal pode ocorrer quando as crises acometem o lobo temporal dominante.

A esclerose hipocampal é o achado anátomo-patológico mais freqüentemente (65%) encontrado em espécimes removidos cirurgicamente de pacientes com ELT<sup>(10)</sup>. Esta lesão compreende um padrão de perda neuronal que é relativamente específico e não é visto em outras enfermidades.<sup>8,10</sup> Apesar da perda celular significativa, a área de esclerose hipocampal, associada à reorganização sináptica, é a região de origem de crises parciais complexas.

Vários estudos neuropsicológicos<sup>(36)</sup>, de neuroimagem<sup>(36,106)</sup> e neuropatológicos<sup>(61)</sup> têm demonstrado que a ELT, independentemente da patologia subjacente, é uma condição progressiva, onde crises recorrentes estão associadas à perda neuronal e declínio do desempenho cognitivo progressivos.

Os estudos de neuropatologia na ELT têm sido muito úteis na descrição de alterações estruturais associadas, porém o tecido estudado corresponde ao resultado estrutural final de processos que envolvem fatores múltiplos e heterogêneos, cujo impacto na geração e progressão da epilepsia é de difícil determinação. Alguns desses fatores são, por exemplo, o *background* genético; a ocorrência de trauma crânio-encefálico, estado de mal epilético ou infecções; a exposição a toxinas; o consumo de drogas e/ou álcool; a medicação anticonvulsivante recebida; e as características das crises (tipo, número, duração). Assim, o desenvolvimento de modelos experimentais utilizando

animais tem sido fundamental para o conhecimento da fisiopatologia da ELT. Uma das vantagens importantes dos modelos experimentais é, por exemplo, a facilidade com que podem ser controladas variáveis como: uniformidade genética, idade, circuitos que podem gerar crises epiléticas, características dos insultos que podem gerar epilepsia, e tempo entre crises epiléticas e alterações funcionais ou estruturais. Adicionalmente, o uso de várias técnicas em um mesmo modelo tem permitido compor um quadro mais completo dos processos associados à epilepsia.

Os modelos de *status epilepticus* (SE; estado de mal epilético) induzido por injeção sistêmica ou intracerebral de substâncias geradoras de crises como a pilocarpina e o ácido caínico<sup>(11,13,19,53,66,109)</sup> ou por estimulação elétrica de estruturas límbicas<sup>(74,97)</sup> utilizam o SE como injúria precipitante inicial e reproduzem algumas das características histopatológicas observadas na ELT humana. Já os modelos de abrasamento (*kindling*) têm contribuído, para o conhecimento do efeito da ocorrência de crises epiléticas de curta duração na fisiopatologia da ELT<sup>(52,91)</sup>.

Os estudos utilizando espécimens de pacientes com ELT resistente ao tratamento farmacológico assim como os estudos experimentais têm demonstrado que existem alterações de plasticidade neuronal, que podem ser causa, conseqüência, ou ainda epifenômenos das crises. Esta revisão aborda alguns estudos atuais sobre alterações de plasticidade neuronal associadas à ELT e a interpretação dada em relação a seu papel na ELT. Inicialmente será tratada, de forma resumida, a anatomia da formação hipocampal normal e a seguir, será discutido o papel das seguintes alterações: perda neuronal, reorganização axonal, aparecimento de dendritos basais nas células granulares, gliose, neurogênese, e aparecimento de sinapses elétricas.

## CIRCUITARIA DA FORMAÇÃO HIPOCAMPAL NORMAL

A formação hipocampal normal, de forma simplificada, pode ser dividida em quatro regiões: a *fascia dentata* (FD) ou giro denteado, o corno de Ammon ou hipocampo (dividido em CA1, CA2, CA3 e CA4), o *subiculum* e o córtex entorrinal. A FD tem, fundamentalmente, dois tipos de projeções aferentes: uma glutamatérgica, que se origina na camada II do córtex entorrinal (via perfurante) e termina nos dois terços externos da camada molecular; e outra colinérgica, proveniente do núcleo septal medial e que termina de forma difusa. As principais eferências da FD são os axônios das células granulares, denominados fibras musgosas, que liberam principalmente glutamato<sup>(1,26)</sup>, mas também podem liberar zinco<sup>(69,112)</sup> dinorfina<sup>(22,63)</sup> e ácido gama-amino-butírico (GABA)<sup>(44,89,99)</sup> e fazem sinapses com neurônios piramidais de CA3 e CA4, interneurônios e células musgosas do hilo<sup>(1,4)</sup>. As células

piramidais de CA3 e CA4 emitem axônios que fazem sinapses em CA1 e esta área, por sua vez, projeta para o *subiculum*. As células localizadas no hilo da *FD* são principalmente de dois tipos: 1) interneurônios que liberam GABA e neuropeptídeos; e 2) células musgosas, que projetam seus axônios principalmente para o terço interno da camada molecular interna da *FD*, liberam glutamato<sup>(100)</sup> e ativam interneurônios GABAérgicos<sup>(5)</sup>.

## PERDA NEURONAL

Uma das características neuropatológicas mais importantes na ELT é a morte neuronal seletiva no hipocampo. A esclerose hipocampal refere-se a uma perda neuronal variável e seletiva em CA1 (Setor de Sommer), CA3 e no hilo. As células granulares do giro denteado e as células piramidais da região CA2 são caracteristicamente menos afetadas<sup>(59,65)</sup>. Há gliose secundária e atrofia da formação hipocampal que pode atualmente ser identificada através de ressonância magnética de alta resolução. A perda de neurônios hilares do giro denteado geralmente é evidente, sendo por vezes a única anormalidade (nesse caso denominada esclerose do *endfolium*). Em casos mais graves, além da esclerose hipocampal, há perda neuronal também em locais extra-hipocampais, como córtex entorrinal, giro para-hipocampal, amígdala, tálamo e cerebelo. Entretanto, a perda celular fora do hipocampo não ocorre a menos que haja também perda neuronal no hipocampo. Assim, o hilo do giro denteado parece ser especialmente vulnerável a agressões<sup>(59)</sup>.

Dados obtidos de estudos com pacientes e modelos animais sugerem que a esclerose hipocampal está associada à presença de uma injúria precipitante inicial, porém crises epiléticas de curta duração também podem contribuir com a perda neuronal<sup>(32,61,70,82,87,106)</sup>. Em modelos de abrasamento, por exemplo, observa-se o aparecimento de células em processo de degeneração no hipocampo, inclusive, após apenas uma crise epilética límbica<sup>(14,76,83,110,113)</sup>.

Estudos experimentais demonstram que os neurônios vulneráveis do hilo correspondem principalmente às células musgosas e interneurônios imunorreativos à somatostatina e ao neuropeptídeo Y<sup>(28,94)</sup>. Por outro lado, as células granulares, as células em cesto, que contêm GABA como neurotransmissor, e as células piramidais de CA2 são relativamente resistentes à morte<sup>(28,96)</sup>. Algumas dessas células expressam calbindina e parvalbúmina, proteínas que se ligam ao íon cálcio<sup>(95)</sup>, e alguns autores sugerem que estas proteínas poderiam ter um efeito protetor e de aumento de resistência à lesão excitotóxica que ocorreria na presença de crises epiléticas<sup>(95)</sup>.

Diversos estudos sugerem que crises epiléticas podem causar perda neuronal, que é mais intensa na medida em que aumenta a duração das crises, e apenas detectável,

após longos períodos de crises, quando as crises são de curta duração. O papel da morte neuronal na excitabilidade neuronal ainda não é claramente definido. Uma hipótese importante, a das “células em cesto dormentes”, atribui um papel fundamental à perda das células musgosas, que normalmente excitariam interneurônios GABAérgicos para produzir uma inibição tônica poderosa na população de células granulares<sup>(96,97)</sup>. Quando as células musgosas morrem as células em cesto tornar-se-iam desprovidas da sua principal aferência excitatória e não mais seriam capazes de inibir as células granulares efetivamente. Como resultado, as células granulares tornar-se-iam desinibidas e hiperexcitáveis. Em contraste, a hipótese das “células musgosas irritáveis”, propõe que a intensidade na morte das células musgosas não é significativa e, pelo contrário às células musgosas poderiam fazer parte de um circuito excitatório, pois após sua deleção foi observada uma diminuição da excitabilidade das células granulares<sup>(84,85,90)</sup>. O desenvolvimento de marcadores específicos e técnicas sensíveis para a detecção dos tipos neuronais vulneráveis e resistentes às crises, associados a estudos funcionais, contribuirão para a melhor definição do papel da perda neuronal na epileptogênese.

## REORGANIZAÇÃO AXONAL

Na ELT a perda neuronal geralmente é acompanhada pelo brotamento das fibras musgosas (BFMs) na camada molecular interna da *FD* do hipocampo de pacientes epiléticos<sup>(9,28,18,45,60,103)</sup>. A reorganização axonal também tem sido descrita em outros sistemas neurotransmissores como os associados ao GABA, neuropeptídeo Y e somatostatina<sup>(12,62)</sup>.

Estudos em humanos e em modelos experimentais sugerem que o BFM desempenha um papel importante na fisiopatologia da ELT. De acordo com esses estudos, uma lesão inicial (episódio de *SE*) induz perda neuronal com desnervação da *FD*, que leva à sinaptogênese reativa ou brotamento de vários sistemas axonais entre os quais um dos mais importantes é o BFM. A ativação dessas fibras musgosas novas contribuiria de forma importante para a ativação anormal de circuitos límbicos, contribuindo para o processo de epileptogênese. Esta hipótese é fundamentada nas seguintes observações: 1) nos modelos de abrasamento (*kindling*) elétrico da via perfurante e da amígdala, a progressão na gravidade das crises esta associada a um aumento da perda neuronal e do BFM<sup>(20,21,104)</sup>; 2) em modelos de *SE* tem sido observada uma associação entre a densidade do BFM e a frequência das crises recorrentes espontâneas (CRE)<sup>(15,54)</sup>; 3) as fibras musgosas recém formadas parecem formar circuitos excitatórios recorrentes<sup>(16,57,107)</sup>; 4) a diminuição do BFM utilizando antagonistas do receptor de N-metil de aspartato (NMDA)<sup>(64)</sup>,

fenobarbital<sup>(105)</sup> ou anticorpos contra o fator de crescimento neural<sup>(111)</sup> está associada a uma prevenção ou atraso na progressão do abrasamento.

Em conflito com a hipótese que atribui um papel fundamental à atrofia hipocampal e ao BFM, existem observações como as seguintes: 1) no modelo de SE gerado por ácido caínico, alguns animais com crises espontâneas frequentes não apresentam perda neuronal<sup>(17,98)</sup>; 2) no modelo de SE induzido por pilocarpina podem ser observadas CRE antes do aparecimento do BFM<sup>(37)</sup>; 3) o bloqueio do BFM por cicloheximida não afeta o aparecimento das CRE nos modelos de SE por pilocarpina e ácido caínico<sup>(55,56)</sup>; 4) nos modelos de abrasamento e de SE por estimulação elétrica da amígdala não necessariamente há uma correlação positiva entre a ocorrência de CRE, gravidade das crises ou rapidez na progressão da epileptogênese e a intensidade do BFM<sup>(6,30,68,75,114)</sup>. Por outro lado, é importante mencionar que em algumas condições experimentais tem sido observado o BFM não associado a atividade epiléptica como na indução da potenciação sináptica de longo prazo (LTP)<sup>(3)</sup>, na lesão da via perfurante<sup>(115)</sup> e em camundongos com mutação da proteína prion<sup>(23)</sup>.

Os estudos experimentais sugerem que o BFM pode contribuir com a excitabilidade da circuitaria hipocampal, mas não é necessário para a gênese da epilepsia, provavelmente este tipo de reorganização axonal é mais importante na progressão da ELT.

## ALTERAÇÕES DENDRÍTICAS

Alterações na morfologia e localização dos dendritos são observadas no hipocampo de pacientes com ELT assim como em modelos experimentais da ELT. Franck e colaboradores<sup>(34)</sup> demonstraram uma alta densidade de espinhas nos dendritos localizados na porção basal das células granulares da FD de pacientes com ELT. Em ratos normais as células granulares da FD apresentam transitoriamente dendritos na sua porção basal apenas durante o desenvolvimento<sup>(93)</sup>. Isokawa<sup>(46,47)</sup> demonstrou que após períodos de SE induzidos por pilocarpina ocorre inicialmente perda transitória e generalizada dos dendritos das células granulares. Porém, após períodos de 15 a 35 dias, ocorre o aparecimento de muitas espinhas dendríticas. De forma similar, no modelo de epilepsia induzida por estimulação elétrica da via perfurante é observado o aparecimento de dendritos basais nas células granulares<sup>(101)</sup>. Mais recentemente Ribak e colaboradores<sup>(86)</sup> e Dashtipur e colaboradores<sup>(27)</sup>, também no modelo de SE induzido por pilocarpina, observaram presença de sinapses assimétricas entre dendritos basais hilares e as fibras musgosas.

O aparecimento anormal de dendritos basais nas células granulares e a presença de sinapses assimétricas des-

ses dendritos com as fibras musgosas, na ELT, podem ser parte dos mecanismos que levam ao aumento da excitabilidade na circuitaria hipocampal.

## GÊNESE DE NOVAS CÉLULAS

### Gliose

A proliferação glial é um achado proeminente no hipocampo de pacientes com ELT associada à esclerose hipocampal<sup>(73,80)</sup>. A gliose reativa é geralmente caracterizada por proliferação e hipertrofia de corpos celulares gliais que expressam aumento substancial nos níveis de proteína ácida fibrilar glial (do inglês *glial fibrillary acid protein*, GFAP)<sup>(108)</sup>. O aumento na expressão de GFAP é considerado um indício bioquímico da transformação de células gliais normais em células gliais reativas<sup>(108)</sup>.

Em modelos de abrasamento ocorre hipertrofia e proliferação de células gliais que pode estar associada ou não à perda ou degeneração neuronal<sup>(49,102)</sup> e à progressão na gravidade das crises<sup>(67)</sup>. Adams e colaboradores<sup>(2)</sup> observaram que após abrasamento da amígdala ocorrem alterações transitórias na área do hilo, associadas a mudanças na expressão da proteína GFAP: maior área hilar e maior expressão de GFAP entre 7 e 30 dias após o abrasamento com uma diminuição das duas variáveis detectada 60 dias após o abrasamento. No modelo de SE induzido por pilocarpina, 60 dias após o episódio de SE, é observada maior expressão da proteína GFAP no hipocampo e outras estruturas como tálamo, amígdala e neocórtex. No entanto, estas alterações podem ocorrer de forma heterogênea, e é sugerido que as diferenças podem estar associadas a diferenças na frequência de crises recorrentes espontâneas<sup>(38)</sup>.

O papel da astrogliose na gênese e progressão da ELT tem sido pouco estudado e ainda não é bem definido. É provável que a gliose reativa e as alterações do volume hipocampal modifiquem os mecanismos de controle do tamponamento do potássio extracelular alterando a excitabilidade hipocampal.

### Neurogênese

A neurogênese na camada subgranular da FD, observada em situações normais e em diversas espécies animais<sup>(31,41,42,43,51)</sup>, também ocorre após crises epiléticas de curta duração<sup>(14,71,77)</sup> ou SE induzido por pilocarpina ou ácido caínico<sup>(71,77,78,79)</sup>.

Parent e colaboradores<sup>(78)</sup> observaram que a inibição da neurogênese, utilizando radiação, em modelos de SE induzido por pilocarpina, não altera a intensidade na expressão do BFM. Este achado sugere que as células granulares maduras são a principal fonte da reorganização das fibras musgosas.

A significância funcional das células granulares recém-geradas ainda é desconhecida. Os estudos de Scharfman e colaboradores<sup>(92)</sup> sugerem que essas células contribuem para a excitação das células piramidais de CA3, e conseqüentemente aumentam a excitabilidade no hipocampo.

## SINAPSES ELÉTRICAS

As sinapses elétricas são expressas, principalmente, durante o desenvolvimento do sistema nervoso central, quando são fundamentais para a comunicação intercelular rápida. Já no cérebro adulto, as sinapses elétricas são observadas geralmente entre astrócitos e menos frequentemente entre neurônios<sup>(25)</sup>. No caso de tecido de pacientes com ELT, associado ou não a tumores, os dados são contraditórios. Em alguns espécimens foi observado um aumento na expressão da conexina 43, proteína que forma parte de sinapses elétricas<sup>(7,33,72)</sup> e não em outros<sup>(29)</sup>.

Os estudos sobre a expressão das sinapses elétricas em modelos experimentais de abrasamento e SE são também contraditórios<sup>(24)</sup>. Já os estudos funcionais mostraram que camundongos deficientes em conexina 36 apresentam menos excitabilidade neuronal do que camundongos normais<sup>(58)</sup>. Por outro lado, estudos farmacológicos *in vitro*, utilizando inibidores das sinapses elétricas, como o halotano e a carbenaxolona, detectaram uma supressão da atividade epileptiforme em condições de supressão da atividade dessas sinapses<sup>(61)</sup>. Da mesma forma, o halotano e a carbenaxolona bloquearam descargas epileptiformes secundárias na área CA3 hipocampal<sup>(50)</sup>; carbenaxolona reduziu a duração de pós-descargas e inibiu descargas epileptiformes em fatias hipocampais<sup>(48,88)</sup>.

Embora os estudos funcionais e de expressão das proteínas que constituem as sinapses elétricas sejam contraditórios, os recentes estudos farmacológicos sugerem que o aumento na expressão de sinapses elétricas, em circuitos epileptogênicos, pode ser fundamental para o estabelecimento da hypersincronização característica das crises epiléticas.

## CONCLUSÃO

A ELT é associada à expressão exuberante de fenômenos plásticos que ocorrem nas células neurais e seus prolongamentos. Apesar da grande quantidade de trabalhos realizados, ainda é incompleto o panorama que permitiria definir os mecanismos responsáveis pela gênese e progressão da epilepsia.

Os estudos experimentais têm contribuído de forma fundamental para a caracterização das alterações plásticas e um dos desafios mais importantes é o de definir qual o papel específico dessas mudanças. No caso da morte neuronal, esta pode promover excitabilidade se conside-

rada como perda de células que direta ou indiretamente controlariam a excitabilidade hipocampal, ou de modo contrário, se as células que morrem, normalmente aumentam a excitabilidade.

Por outro lado, as células remanescentes podem sofrer alterações como o brotamento axonal e de dendritos em locais anormais, assim como pode ocorrer o aparecimento de sinapses elétricas que contribuiriam com a hiperexcitabilidade e hypersincronização anormal do circuito epilético. Em paralelo, alterações como a hipertrofia de células gliais poderiam modificar o ambiente iônico extracelular para facilitar a excitabilidade neuronal. Em resumo, existem muitas evidências sobre os tipos e características das alterações de plasticidade neural associadas à ELT, porém, ainda é pobre o conhecimento sobre o papel dessas alterações na fisiopatologia da ELT. A definição desse papel é um dos grandes desafios da epileptologia atual.

## AGRADECIMENTOS

Ao suporte financeiro das agências de fomento: FAPESP (Programa CInAPCe Processo nº 05/56447-7), CNPq, FAPEA (FMRP-USP) e BAP (FAMERP).

## REFERÊNCIAS

1. Acsády L, Kamondi A, Sik A, Freund T, Buzsáki G. GABAergic cells are the major postsynaptic targets of mossy fibers in the hippocampus. *J Neurosci.* 1998;18:3386-3403.
2. Adams B, Von Ling E, Vaccarella L, Ivy GO, Fahnstock M, Racine RJ. Time course for kindling-induced changes in the hilar area of the dentate gyrus: reactive gliosis as a potential mechanism. *Brain Res.* 1998;804:331-6.
3. Adams B, Lee M, Fahnstock M, Racine RJ. Long-term potentiation trains induce mossy fiber sprouting. *Brain Res.* 1997;775:193-7.
4. Amaral DG, Ishizuka N, Claiborne B. Neurons, numbers and the hippocampal network. *Prog Brain Res.* 1990;83:1-11.
5. Amaral DG, Witter MP. The hippocampal formation. In *The rat nervous system*. Paxinos G, editor. 2<sup>nd</sup> ed. São Diego: Academic Press; 1995.
6. Armitage LL, Mohapel P, Jenkins EM, Hannesson DK, Corcoran ME. Dissociation between mossy fiber sprouting and rapid kindling with low-frequency stimulation of the amygdala. *Brain Res.* 1998;781:37-44.
7. Aronica E, Gorter JA, Jansen GH, Leenstra S, Yankaya B, Troost D. Expression of connexin 43 and connexin 32 gap junction proteins in epilepsy-associated brain tumors and in the perilesional epileptic cortex. *Acta Neuropathol (Berl).* 2001;101:449-59.
8. Babb TL, Brown WJ, Pretorius J, Davenport C, Lieb JP, Crandall PH. Temporal lobe volumetric cell densities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 1984;25:729-40.
9. Babb TL, Kupfer WR, Pretorius JK, Crandall PH, Levesque ME. Synaptic reorganization by mossy fibers in human epileptic fascia dentata. *Neuroscience.* 1991;42:351-63.
10. Babb TL, Lieb JP, Brown WJ, Pretorius J, Crandall PH. Distribution of pyramidal cell density and hyperexcitability in the epileptic human hippocampus. *Epilepsia.* 1984;25:721-8.
11. Babb TL, Pereira-Leite J, Mathern GW, Pretorius JK. Kainic acid induced hippocampal seizures in rats: comparisons of acute and chronic seizures using intrahippocampal versus systemic injections. *Ital J Neurol Sci.* 1995;16(Pt 1-2):39-44.

12. Babb TL, Pretorius JK, Kupfer WR, Feldblum S. Recovery of decreased glutamate decarboxylase immunoreactivity after rat hippocampal kindling. *Epilepsy Res.* 1989;3(Pt 1):18-30.
13. Ben-Ari Y, Tremblay E, Riche D, Ghilini G, Naquet R. Electrographic, clinical and pathological alterations following systemic administration of kainic acid, bicuculline or pentetrazole: metabolic mapping using the deoxyglucose method with special reference to the pathology of epilepsy. *Neuroscience.* 1981;6:1361-91.
14. Bengzon J, Kokaia Z, Elmer E, Nanobashvili A, Kokaia M, Lindvall O. Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:10432-7.
15. Buckmaster PS, Dudek FE. Neuron loss, granule cell axon reorganization, and functional changes in the dentate gyrus of epileptic kainate-treated rats. *J Comp Neurol.* 1997;385:385-404.
16. Buckmaster PS, Dudek FE. In vivo intracellular analysis of granule cell axon reorganization in epileptic rats. *J Neurophysiol.* 1999;81:712-21.
17. Buckmaster PS, Dudek FE. Network properties of the dentate gyrus in epileptic rats with hilar neuron loss and granule axon reorganization. *J Neurophysiol.* 1997;77:2685-96.
18. Cascino GD, Ring SR, King PJ, Brown RH, Chiappa KH. Evoked potentials in motor system diseases. *Neurology.* 1988;38(Pt 2):231-8.
19. Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L. Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia.* 1991;32:778-82.
20. Cavazos JE, Golarai G, Sutula TP. Mossy fiber synaptic reorganization induced by kindling: time course of development, progression, and permanence. *J Neurosci.* 1991;101:2795-803.
21. Cavazos JE, Das I, Sutula TP. Neuronal loss induced in limbic pathways by kindling: Evidence for induction of hippocampal sclerosis by repeated brief seizures. *J Neurosci.* 1994;14(Pt 5):3106-21.
22. Chavkin C. Dynorphins are endogenous opioid peptides released from granule cells to act neurohumorally and inhibit excitatory neurotransmission in the hippocampus. *Prog Brain Res.* 2000;125:363-7.
23. Colling SB, Khana M, Collinge J, Jefferys JG. Mossy fibre reorganization in the hippocampus of prion protein null mice. *Brain Res.* 1997;755(Pt 1):28-35.
24. Condorelli DF, Mudo G, Trovato-Salinaro A, Mirone MB, Amato G, Belluardo N. Connexin-30 mRNA is up-regulated in astrocytes and expressed in apoptotic neuronal cells of rat brain following kainate-induced seizures. *Mol Cell Neurosci.* 2002;21:94-113.
25. Cotrina ML, Gao Q, Lin JH, Nedergaard M. Expression and function of astrocytic gap junctions in aging. *Brain Res.* 2001;901:55-61.
26. Crawford IL & Connor JD. Localization and release of glutamic acid in relation to the hippocampal mossy fibre pathway. *Nature.* 1973;244:442-3.
27. Dashtipour K, Yan XX, Dinh TT, Okazaki MM, Nadler JV, Ribak CE. Quantitative and morphological analysis of dentate granule cells with recurrent basal dendrites from normal and epileptic rats. *Hippocampus.* 2002; 2(Pt 2):235-44.
28. DeLanerolle NC, Kim JH, Robbins RJ, Spencer DD. Hippocampal interneuron loss and plasticity in human temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 1989;495:387-95.
29. Elisevich K, Rempel SA, Smith BJ, Edvardsen K. Hippocampal connexin 43 expression in human complex partial seizure disorder. *Exp. Neurol.* 1997; 145:154-64.
30. Elmer E, Kokaia Z, Kokaia M, Lindvall O, McIntyre DC. Mossy fibre sprouting: evidence against a facilitatory role in epileptogenesis. *Neuroreport.* 1997;8:1193-6.
31. Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn A, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998;4:1313-7.
32. Fabene PF, Marzola P, Sbarbati A, Bentivoglio M. Magnetic resonance imaging of changes elicited by status epilepticus in the rat brain: diffusion-weighted and T2-weighted images, regional blood volume maps, and direct correlation with tissue and cell damage. *Neuroimage.* 2003;18(Pt 2):375-89.
33. Fonseca CG, Green CR, Nicholson LE. Upregulation in astrocytic connexin 43 gap junction levels may exacerbate generalized seizures in mesial temporal lobe epilepsy. *Brain Res.* 2002;929:105-16.
34. Franck JE, Pokorny J, Kunkel DD, Schwartzkroin PA. Physiologic and morphologic characteristics of granule cell circuitry in human epileptic hippocampus. *Epilepsia.* 1995;36(Pt 6):543-58.
35. French JA, Willianson PD, Thadani VM et al. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol.* 1993;34:774-80.
36. Fuerst D, Shah J, Kupsky WJ, Johnson R, Shah A, Hayman-Abello B, Ergh T, Poore Q, Canady A, Watson C. Volumetric MRI, pathological, and neuropsychological progression in hippocampal sclerosis. *Neurology.* 2001;57(Pt 2):184-8.
37. Furtado M, Braga GK, Oliveira JAC, Del Vecchio F, Garcia-Cairasco N. Behavioral, morphological and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine. *Epilepsia.* 2000;43(Suppl 5):37-9.
38. Garzillo CL, Mello LE. Characterization of reactive astrocytes in the chronic phase of the pilocarpine model of epilepsy. *Epilepsia.* 2002;43(Suppl 5):107-9.
39. Gastaut H, Gastaut JL, Gonçalves e Silva GE, Fernandez Sanches GR. Relative frequency of different types of epilepsy: A study employing the classification of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia.* 1975;16:457-61.
40. Gloor P. Experiential phenomena of temporal lobe epilepsy. Facts and hypotheses. *Brain.* 1990;113:1673-94.
41. Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci.* 1999;2:260-5.
42. Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:3168-71.
43. Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LAM, Fuchs E. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci.* 1997;17:2492-8.
44. Gutiérrez R. The GABAergic phenotype of the "glutamatergic" granule cells of the dentate gyrus. *Prog Neurobiol.* 2003;71:337-58.
45. Houser CR, Miyashiro JE, Swartz BE, Walsh GO, Rich JR, Delgado-Escueta AV. Altered patterns of dynorphin immunoreactivity suggest mossy fiber reorganization in human hippocampal epilepsy. *J Neurosci.* 1990;10:267-82.
46. Isokawa M. Remodeling dendritic spines in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Neurosci Lett.* 1998;258(Pt 2):73-6.
47. Isokawa M. Remodeling dendritic spines of dentate granule cells in temporal lobe epilepsy patients and the rat pilocarpine model. *Epilepsia.* 2000;41(Suppl 6):S14-7.
48. Jahromi SS, Wentlandt K, Piran S, Carlen PL. Anticonvulsant actions of gap junctional blockers in an in vitro seizure model. *J Neurophysiol.* 2002;88:1893-902.
49. Khurgel M, Racine RJ, Ivy GO. Kindling causes changes in the composition of the astrocytic skeleton. *Brain Res.* 1992;592:338-42.
50. Kohling R, Gladwell SJ, Bracci E, Vreugdenhil M, Jefferys JG. Prolonged epileptiform bursting induced by 0-Mg(2+) in rat hippocampal slices depends on gap junctional coupling. *Neuroscience.* 2001;105:579-87.
51. Kornack DR, Rakic P. Continuation of neurogenesis in the hippocampus of adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96:5768-73.
52. Kotloski R, Lynch M, Lauersdorf S, Sutula T. Repeated brief seizures induce progressive hippocampal neuron loss and memory deficits. *Prog Brain Res.* 2002;135:95-110.

53. Leite JP, Bortolotto ZA, Cavalheiro EA. Spontaneous recurrent seizure in rats: An Experimental model of partial epilepsy. *Neurosci Biobehav Rev.* 1990;14:511-7.
54. Lemos T, Cavalheiro EA. Suppression of pilocarpine-induced status epilepticus and the late development of epilepsy in rats. *Exp Brain Res.* 1995;102:423-8.
55. Longo BM, Mello LE. Blockade of pilocarpine- or kainate-induced mossy fiber sprouting by cycloheximide does not prevent subsequent epileptogenesis in rats. *Neurosci Lett.* 1997;226:163-6.
56. Longo BM, Mello LE. Supragranular mossy fiber sprouting is not necessary for spontaneous seizures in the intrahippocampal kainate model of epilepsy in the rat. *Epilepsy Res.* 1998;32:172-82.
57. Lynch M, Sutula T. Recurrent excitatory connectivity in the dentate gyrus of kindled and kainic acid-treated rats. *J Neurophysiol.* 2000;83(Pt 2):693-704.
58. Maier N, Guldenagel M, Sohl G, Siegmund H, Willecke K, Draguhn A. Reduction of high-frequency network oscillations (ripples) and pathological network discharges in hippocampal slices from connexin 36-deficient mice. *J Physiol.* 2002;541:521-8.
59. Margerison JH, Corsellis JAN. Epilepsy and the temporal lobes: a clinical encephalographic and neuropathological study of the brain in epilepsy, with particular reference to the temporal lobes. *Brain.* 1966;89:499-530.
60. Mathern GW, Leite JP, Pretorius JK, Quinn B, Peacock WJ, Babb TL. Children with severe epilepsy: evidence of hippocampal neuron losses and aberrant mossy fiber sprouting during postnatal granule cell migration and differentiation. *Brain Res Dev Brain Res.* 1994;78:70-80.
61. Mathern GW, Adelson PD, Cahan LD, Leite, JP. Hippocampal neuron damage in human epilepsy: Meyer's hypothesis revisited. *Prog Brain Res.* 2002;135:237-51.
62. Mathern GW, Babb TL, Pretorius JK, Leite JP. Reactive synaptogenesis and neuron densities for neuropeptide Y, somatostatin, and glutamate decarboxylase immunoreactivity in the epileptogenic human fascia dentata. *J Neurosci.* 1995;15(5Pt 2):3990-4004.
63. McGinty JF, Herniksen SJ, Goldstein A, Terenius L, Bloom FE. Dynorphin is contained within hippocampal mossy fibers: immunohistochemical alterations after kainic acid administration and colchicine-induced neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1983;80(Pt 2):589-93.
64. McNamara RK, Routtenberg A. NMDA receptor blockade prevents kainate induction of protein F1/GAP-43 mRNA in hippocampal granule cells and subsequent mossy fiber sprouting in the rat. *Brain Res Mol Brain Res.* 1995;33(Pt 1):22-8.
65. Meldrum BS, Bruton CJ. Epilepsy. In: Greenfiels neuropathology. 5<sup>th</sup> ed. Oxford, England: Oxford University Press; 1992. p. 1246-83.
66. Mello LE, Cavalheiro EA, Tan AM, Kupfer WR, Pretorius JK, Babb TL, Finch DM. Circuit mechanisms of seizure in the pilocarpine model of chronic epilepsy: cell loss and mossy fiber sprouting. *Epilepsia.* 1993;34:985-95.
67. Miyazaki T, Miyamoto O, Janjua NA, Hata T, Takahashi F, Itano T. Reactive gliosis in areas around third ventricle in association with epileptogenesis in amygdaloid-kindled rat. *Epilepsy Res.* 2003;56(Pt 1):5-15.
68. Mohapel P, Armitage LL, Gilbert TH, Hannesson DK, Teskey GC, Corcoran, ME. Mossy fiber sprouting is dissociated from kindling of generalized seizures in the guinea-pig. *Neuroreport.* 2000; 11:2897-901.
69. Molnar P, Nadler JV. Synaptically-released zinc inhibits N-methyl-D-aspartate receptor activation at recurrent mossy fiber synapses. *Brain Res.* 2000;1910:205-7.
70. Nairismagi J, Grohn OH, Kettunen MI, Nissinen J, Kauppinen RA, Pitkanen A. Progression of brain damage after status epilepticus and its association with epileptogenesis: a quantitative MRI study in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsia.* 2004;45(Pt 9):1024-34.
71. Nakagawa E, Aimi Y, Yasuhara O, et al. Enhancement of progenitor cell division in the dentate gyrus triggered by initial limbic seizures in rat models of epilepsy. *Epilepsia.* 2000;41:10-8.
72. Naus CC, Bechberger JF, Paul DL. Gap junction gene expression in human seizure disorder. *Exp Neurol.* 1991;111:198-203.
73. Nishio S, Morioka T, Hisada K, Fukui M. Temporal lobe epilepsy: a clinicopathological study with special reference to temporal neocortical changes. *Neurosurg Rev.* 2000;23(Pt 2):84-9.
74. Nissinen J, Halonen T, Koivisto E, Pitkanen A. A new model of chronic temporal lobe epilepsy induced by electrical stimulation of the amygdala in rat. *Epilepsy Res.* 2000;38(Pt 2-3):177-205.
75. Nissinen J, Lukasiuk K, Pitkanen A. Is mossy fiber sprouting present at the time of the first spontaneous seizures in rat experimental temporal lobe epilepsy? *Hippocampus.* 2001;11(Pt 3):299-310.
76. Osawa M, Uemura S, Kimura H, Sato M. Amygdala kindling develops without mossy fiber sprouting and hippocampal neuronal degeneration in rats. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2001;55:549-57.
77. Parent JM, Janumpalli S, MacNamara JO, Lowenstein DH. Increased dentate granule cell neurogenesis following amygdala kindling in the adult rat. *Neurosci. Lett.* 1998;247:9-12.
78. Parent JM, Tada E, Fike JR, Lowenstein DH. Inhibition of dentate granule cell neurogenesis with brain irradiation does not prevent seizure-induced mossy fiber synaptic reorganization in the rat. *J Neurosci.* 1999;19:4508-19.
79. Parent JM, Yu TW, Leibowitz RT, Geschwind DH, Sloviter RS, Lowenstein DH. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J Neurosci.* 1997;17(Pt 10):3727-98.
80. Park SA, Kim TS, Choi KS, Park HJ, Heo K, Lee BI. Chronic activation of CREB and p90RSK in human epileptic hippocampus. *Exp Mol Med.* 2003;35(Pt 5):365-70.
81. Perez-Velazquez JL, Valiente TA, Carlen PL. Modulation of gap junctional mechanisms during calcium-free induced field burst activity: a possible role for electrotonic coupling in epileptogenesis. *J Neurosci.* 1994;14:4308-17.
82. Pitkanen A, Sutula TP. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal-lobe epilepsy. *Lancet Neurol.* 2002;1:173-81.
83. Pretel S, Applegate CD, Piekut D. Apoptotic and necrotic cell death following kindling induced seizures. *Acta Histochem.* 1997;99:71-9.
84. Ratzliff AH, Santhakumar V, Howard A, Soltesz I. Mossy cells in epilepsy: rigor mortis or vigor mortis? *Trends Neurosci.* 2002;25(3):140-4.
85. Ratzliff AH, Howard AL, Santhakumar V, Osapay I, Soltesz I. Rapid deletion of mossy cells does not result in a hyperexcitable dentate gyrus: implications for epileptogenesis. *J Neurosci.* 2004;24(9):2259-69.
86. Ribak CE, Tran PH, Spigelman I, Okazaki MM, Nadler JV. Status epilepticus-induced hilar basal dendrites on rodent granule cells contribute to recurrent excitatory circuitry. *J Comp Neurol.* 2000; 428(Pt 2):240-53.
87. Roch C, Leroy C, Nehlig A, Namer IJ. Magnetic resonance imaging in the study of the lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in adult rats. *Epilepsia.* 2002;43(Pt 4):325-35.
88. SamoiloVA M, Li J, Pelletier MR, Wentlandt K, Adamchik Y, Naus CC, Carlen PL. Epileptiform activity in hippocampal slice cultures exposed chronically to bicuculline: increased gap junctional function and expression. *J Neurochem.* 2003;86:687-99.
89. Sandler R, Smith AD. Coexistence of GABA and glutamate in mossy fiber terminals of the primate hippocampus: an ultrastructural study. *J Comp Neurol.* 1991;303:177-92.
90. Santhakumar V, Bender R, Frotscher M, et al. Granule cell hyperexcitability in the early post-traumatic rat dentate gyrus: the 'irritable mossy cell' hypothesis. *J Physiol.* 2000;1(524Pt 1):117-34.
91. Sayin U, Osting S, Hagen J, Rutecki P, Sutula T. Spontaneous seizures and loss of axo-axonic and axo-somatic inhibition induced by repeated brief seizures in kindled rats. *J Neurosci.* 2003;23(Pt 7):2759-68.
92. Scharfman HE, Goodman JH, Sollas AL. Granule-like neurons at the hilar/CA3 border after status epilepticus and their synchrony with area CA3 pyramidal cells: functional implications of seizure-induced neurogenesis. *J Neurosci.* 2000;20(Pt 16):6144-58.

93. Seres L, Pokorny J. Structure of the granular layer of the rat dentate gyrus. A light microscopic and Golgi study. *J Anat.* 1981;133:181-95.
94. Sloviter RS. Epileptic brain damage in rats induced by sustained electrical stimulation of the perforant path. I. Acute electrophysiological and light microscopic studies. *Brain Res Bull.* 1983;10(5):675-97.
95. Sloviter RS. Calcium-binding protein (calbindin-D28k) and parvalbumin immunocytochemistry: localization in the rat hippocampus with specific reference to the selective vulnerability of hippocampal neurons to seizure activity. *J Comp Neurol.* 1989;280(Pt 2):183-96.
96. Sloviter RS. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science.* 1987;235(Pt 4784):73-6.
97. Sloviter RS. Feedforward and feedback inhibition of hippocampal principal cell activity evoked by perforant path stimulation: GABA-mediated mechanisms that regulate excitability in vivo. *Hippocampus.* 1991;1(Pt 1):31-40.
98. Sloviter RS. Possible functional consequences of synaptic reorganization in the dentate gyrus of kainate-treated rats. *Neurosci Lett.* 1992;137(Pt 1):91-6.
99. Sloviter RS, Dichter MA, Rachinsky TL, et al. Basal expression and induction of glutamate decarboxylase and GABA in excitatory granule cells of the rat and monkey hippocampal dentate gyrus. *J Comp Neurol.* 1996;373(Pt 4):593-618.
100. Soriano E, Frotscher M. Mossy cells of the rat fascia dentata are glutamate-immunoreactive. *Hippocampus.* 1994;1:65-9.
101. Spigelman I, Yan XX, Obenaus A, Lee EY, Wasterlain CG, Ribak CE. Dentate granule cells form novel basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience.* 1998;86(Pt 1):109-20.
102. Steward O, Torre ER, Tomasulo R, Lothman E. Neuronal activity up-regulates astroglial gene expression. *PNAS.* 1991;88:6819-23.
103. Sutula T, Cascino G, Cavazos J, Parada I, Ramirez L. Mossy fiber synaptic reorganization in the epileptic human temporal lobe. *Ann Neurol.* 1989;26:321-30.
104. Sutula T, He XX, Cavazos J, Scott G. Synaptic reorganization in the hippocampus induced by abnormal functional activity. *Science.* 1988;239(Pt 4844):1147-50.
105. Sutula T, Cavazos J, Golarai G. Alteration of long-lasting structural and functional effects of kainic acid in the hippocampus by brief treatment with phenobarbital. *J Neurosci.* 1992;12(Pt 11):4173-87.
106. Tasch E, Cendes F, Li LM, Dubeau F, Andermann F, Arnold DL. Neuroimaging evidence of progressive neuronal loss and dysfunction in temporal lobe epilepsy. *Ann Neurol.* 1999;46(Pt 5):568-76.
107. Tauck DL, Nadler JV. Evidence of functional mossy fiber sprouting in hippocampal formation of kainic acid-treated rats. *J Neurosci.* 1985;5:1016-22.
108. Torre ER, Lothman E, Steward O. Glial response to neuronal activity: GFAP mRNA and protein levels are transiently increased in the hippocampus after seizures. *Brain Res.* 1993;631:256-64.
109. Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav Brain Res.* 1983;9(Pt 3):315-35.
110. Umeoka S, Miyamoto O, Janjua NA, Nagao S, Itano T. Appearance and alteration of TUNEL positive cells through epileptogenesis in amygdaloid kindled rat. *Epilepsy Res.* 2000;42:97-103.
111. Van der Zee CE, Rashid K, Le K, et al. Intraventricular administration of antibodies to nerve growth factor retards kindling and blocks mossy fiber sprouting in adult rats. *J Neurosci.* 1995;15:5316-23.
112. Wenzel HJ, Cole TB, Born DE, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Ultrastructural localization of zinc transporter-3 (ZnT-3) to synaptic vesicle membranes within mossy fiber boutons in the hippocampus of mouse and monkey. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(Pt 23):12676-81.
113. Zhang LX, Smith MA, Li XL, Weiss SRB, Post RM. Apoptosis of hippocampal neurons after amygdala kindled seizures. *Mol Brain Res.* 1998;55:198-208.
114. Zhang X, Cui SS, Wallace AE, et al. Relations between brain pathology and temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.* 2002;22:6052-61.
115. Zimmer J. Long term synaptic reorganization in rat fascia dentata deafferented at adolescent and adult stages: observations with the Timm method. *Brain Res.* 1974;76:336-42.

**Endereço para correspondência:**

João Pereira Leite  
 Departamento de Neurologia, Psiquiatria e Psicologia Médica  
 Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP  
 Av. Bandeirantes, 3900  
 CEP 14049-900, Ribeirão Preto, SP, Brasil  
 E-mail: jplcite@fmrp.usp.br