

Sílvia de Vincentiis

**Estudo de associação de polimorfismos genéticos do tipo
VNTR da via serotoninérgica e epilepsia do lobo temporal
causada por esclerose hipocampal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Programa de Psiquiatria
Orientadora: Profa. Dra. Kette Dualibi Ramos Valente

São Paulo

2018

Dedicatória

À família

Agradeço a todos aqueles que diretamente ou indiretamente colaboraram para a realização deste projeto:

Aos membros do LIM-27, LIM-21, GRUDA e Instituto de Neurologia de Goiânia por todo o apoio técnico e científico para a realização deste trabalho.

Aos membros do Laboratório de Neurofisiologia Clínica pelo apoio para a realização deste trabalho e por fazer parte da minha história já há 15 anos.

Aos membros do Grupo de Pesquisa do qual faço parte, pelo apoio para a realização deste trabalho, além do companheirismo e amizade ao longo de sua existência.

Às secretárias da pós-graduação, Eliza Fukushima e Isabel Ataíde, por todo o auxílio prestado durante o período da pós-graduação.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Kette Dualibi Ramos Valente, por ter me ensinado tudo o que sei até hoje, pela supervisão incansável durante o projeto e amizade nesses 15 anos de convivência.

À Juliana Andrade Alcantara, pela amizade e companheirismo. Sem ela esse trabalho não seria sido possível.

A todos os pacientes e voluntários que participaram do projeto, pela vontade de contribuir para o bem-estar do que virão.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de siglas	
Lista de tabelas	
Resumo	
Summary	
1. INTRODUÇÃO	p.01
1.1.O sistema serotoninérgico.....	p.04
1.2. Polimorfismos de genes relacionados à transmissão serotoninérgica.....	p.06
1.2.1. Receptores de 5-HT.....	p.07
1.2.1.1. Receptores 5-HT1A.....	p.07
1.2.1.2. Receptores 5-HT1B.....	p.08
1.2.1.3. Receptores 5-HT2C.....	p.09
1.2.2. Transportador de 5-HT.....	p.09
1.2.3. Monoamino oxidase A (MAOA).....	p.12
2. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	p.14
3. OBJETIVO	p.16
3.1. Objetivo geral.....	p.17
3.2. Objetivos específicos.....	p.17
4. MÉTODOS	p.19
4.1. Participantes.....	p.20
4.2. Pacientes com ELT-EH.....	p.20
4.2.1. Perfil clínico dos pacientes com ELT-EH.....	p.20
4.2.2. Perfil da epilepsia dos pacientes com ELT-EH.....	p.21
4.2.3. Perfil psiquiátrico dos pacientes com ELT-EH.....	p.22
4.3. Pacientes com TDM sem epilepsia.....	p.23
4.4. Controles.....	p.23
4.5. Genotipagem.....	p.24
4.6. Análise estatística.....	p.26
5. RESULTADOS	p.28
5.1. rs6295.....	p.33
5.2. rs6296.....	p.33
5.3. rs6318.....	p.33
5.4. MAOA.....	p.35
5.5. 5-HTTLPR.....	p.36
5.6. 5-HTTVNTR.....	p.37
6. DISCUSSÃO	p.38
7. CONCLUSÕES	p.47
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	p.50

LISTA DE SIGLAS

5-HT1A: receptor de serotonina tipo 5-HT1A

5-HT1B: receptor de serotonina tipo 5-HT1B

5-HT2C: receptor de serotonina tipo 5-HT2C

5-HT: serotonina

5-HTT: transportador de serotonina

5-HTTLPR: 5-HTT *linked polymorphic region*

APA: *American Psychiatric Association*

DSM IV-TR: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition*

ELT: epilepsia do lobo temporal

ELT-EH: epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal

FAEs: fármacos antiepilépticos

ILAE: *International League Against Epilepsy*

MAO: monoamino oxidase

MAOA: monoamino oxidase A

PET: *positron emission tomography*

PCR: reação em cadeia da polimerase/*polymerase chain reaction*

RNM: ressonância nuclear de encéfalo

SCID-I/P: Entrevista Clínica Estruturada para os Transtornos do Eixo I do DSM-IV/*Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders*

SNC: sistema nervoso central

SNP: polimorfismos de nucleotídeo único/*single nucleotide polymorphism*

TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido

TDM: transtorno depressivo maior

USP: Universidade de São Paulo

VNTR: número variável de repetições em *tandem/variable number of tandem repeats*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Transtornos psiquiátricos nos pacientes com ELT-EH.....p.22

Tabela 2 - Distribuição genotípica dos polimorfismos dos receptores de 5-HT.....p.30

Tabela 3 - Distribuição genotípica do polimorfismo MAOA-uVNTR.....p.31

Tabela 4 - Distribuição genotípica dos polimorfismos do 5-HTT.....p.32

Tabela 5 - Comparação entre os genótipos dos polimorfismos dos receptores de 5-HT e as características clínicas da epilepsia.....p.34

Tabela 6 - Comparação entre os genótipos dos polimorfismos MAOA-uVNTR, 5-HTTLPR e 5-HTTVNTR e as características clínicas da epilepsia.....p.36

Resumo

Vincentiis S. *Estudo de associação de polimorfismos genéticos do tipo VNTR da via serotoninérgica e epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

A epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal é a epilepsia farmacorresistente mais frequente em adultos. Os transtornos de humor são a comorbidade psiquiátrica mais comuns nesses pacientes. Os mecanismos fisiopatológicos comuns entre a epilepsia e as comorbidades psiquiátricas incluem alterações na via serotoninérgica. Os polimorfismos de genes relacionados à via serotoninérgica (receptores, monoamino oxidase A, transportador de serotonina) podem estar relacionadas à coexistência destas condições. O objetivo principal deste estudo foi o de determinar a possível associação entre os polimorfismos dos genes que codificam os receptores de serotonina 5HT1A (rs6295), 5HT1B (rs6296), e 5HT2C(rs6318); a monoamino oxidase A (MAOA-uVNTR); e o transportador de serotonina (5-HTTLPR e 5-HTTVNTR) e a presença de depressão nesses pacientes, em comparação à pacientes sem epilepsia com depressão, voluntários saudáveis sem epilepsia e sem transtornos psiquiátricos. O objetivo secundário foi o de avaliar a possível associação entre essas variantes genéticas e a susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epiléticas assim como sua influência sobre as características clínicas da epilepsia. Foram avaliados 119 pacientes com epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal com (56 pacientes) e sem (63 pacientes) depressão; 146 pacientes com transtorno depressivo maior, sem características psicóticas e 113 controles saudáveis. Os indivíduos foram genotipados para os polimorfismos rs6295, rs6296, rs6318, MAOA-uVNTR, 5-HTTLPR e 5-HTTVNTR. Em relação ao polimorfismo rs6295, não houve diferença na distribuição dos genótipos entre epilepsia e depressão sem epilepsia ($p = 1.000$) e epilepsia e controles ($p = 1.000$). Não foi observada diferença entre o polimorfismo rs6296 e os grupos epilepsia e depressão sem epilepsia ($p = 0,838$) e epilepsia e controles ($p = 0,838$). Não houve diferença entre o polimorfismo rs6318 e os grupos epilepsia e depressão sem epilepsia ($p = 0,207$) e epilepsia e controles ($p = 0,296$). Não foi observada diferença entre o polimorfismo MAOA-uVNTR e os grupos epilepsia e depressão ($p = 0,799$) e epilepsia e controles ($p = 1,000$). Não houve diferença entre o polimorfismo 5-HTTLPR e os grupos epilepsia e depressão sem epilepsia ($p = 1.000$) e epilepsia e controles ($p = 0,626$). Não foi observada diferença entre o polimorfismo 5-HTTVNTR e epilepsia e depressão sem epilepsia ($p = 1.000$) e epilepsia e controles ($p = 0.790$). No grupo de pacientes com epilepsia, não houve diferença entre os polimorfismos estudados e a presença de depressão. Foi observada correlação entre alelos de alta atividade transcricional em homozigose ou hemizigose (3,5 e 4 repetições) do polimorfismo MAOA-uVNTR e ocorrência de crises epiléticas diárias/semanais ($p=0,032$) e crises tônico-clônicas bilaterais ($p=0,016$). Também houve relação entre o alelo de 12 repetições em homozigose (alelo relacionados a maior produção de RNA mensageiro) do polimorfismo 5-HTTVNTR e história familiar de epilepsia nos pacientes com epilepsia ($p=0,013$). Alelos de alta atividade transcricional do

polimorfismo MAOA-uVNTR estão relacionados a maior eficiência transcricional do gene da monoamino oxidase A e maior atividade enzimática, levando a aumento na metabolização da serotonina. Portanto, é possível que a redução na concentração de serotonina possa levar a um aumento na hiperexcitabilidade neuronal, tendo como consequência um aumento na frequência de crises e ocorrência de crises tônico-clônicas bilaterais. O alelo de 12 repetições do 5-HTTVNTR relaciona-se a maior produção de RNA mensageiro, levando a maior eficiência transcricional do gene do 5-HTTVNTR. Este achado sugere a presença de um subgrupo de pacientes com predisposição familiar para a ocorrência de crises epiléticas devido a um estado de hiperexcitabilidade neuronal determinado pela maior expressão do transportador de serotonina. Este estudo sugere que os polimorfismos avaliados não estão relacionados com a presença de epilepsia ou de comorbidades psiquiátricas nesses pacientes, mas sim com aspectos clínicos da epilepsia (frequência de crises epiléticas, presença de crises tônico-clônicas bilaterais e história familiar de epilepsia) nos pacientes com epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal.

Descritores: epilepsia do lobo temporal; genética; serotonina; receptores de serotonina; transtornos do humor; depressão.

Summary

Vincentiis Sílvia. *Association study of VNTR genetic polymorphisms of the serotonergic pathway and temporal lobe epilepsy caused by hippocampal sclerosis* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

Temporal lobe epilepsy caused by hippocampal sclerosis is the most common drug-resistant epilepsy in adults. Mood disorders are the most common psychiatric comorbidity in these patients. Common pathophysiological mechanisms between epilepsy and psychiatric comorbidities include changes in the serotonergic pathway. Polymorphisms of genes related to the serotonergic pathway (receptors, monoamine oxidase A, serotonin transporter) may be associated with the coexistence of these conditions. The primary objective of this study was to determine the possible association between polymorphisms of the genes encoding serotonin 5HT1A receptors (rs6295), 5HT1B (rs6296), and 5HT2C (rs6318); monoamine oxidase A (MAOA-uVNTR); and the serotonin transporter (5-HTTLPR and 5-HTTVNTR) and the presence of depression in these patients compared to patients without epilepsy with depression, and healthy volunteers without epilepsy and psychiatric disorders. The secondary objective was to evaluate the possible association between these variants and the susceptibility to the development of epileptic seizures and their influence on the clinical characteristics of epilepsy. We evaluated 119 patients with temporal lobe epilepsy caused by hippocampal sclerosis with (56 patients) and without (63 patients) depression, 146 patients with major depressive disorder, without psychotic characteristics, and 113 healthy controls. The individuals were genotyped for polymorphisms rs6295, rs6296, rs6318, MAOA-uVNTR, 5-HTTLPR and 5-HTTVNTR. Regarding the rs6295 polymorphism, no difference was observed in the distribution of genotypes between epilepsy and depression without epilepsy groups ($p = 1,000$) and epilepsy and controls ($p = 1,000$). No difference was observed for the rs6296 polymorphism between epilepsy and depression without epilepsy groups ($p = 0.838$) and epilepsy and controls ($p = 0.838$). There was no difference for the rs6318 polymorphism between epilepsy and depression without epilepsy groups ($p = 0.207$) and epilepsy and controls ($p = 0.296$). No difference was observed for the MAOA-uVNTR polymorphism between epilepsy and depression without epilepsy groups ($p = 0.799$) and epilepsy and controls ($p = 1,000$). There was no difference between the polymorphism 5-HTTLPR and epilepsy and depression groups without epilepsy ($p = 1,000$) and epilepsy and controls ($p = 0.626$). No difference was observed between the 5-HTTVNTR polymorphism and epilepsy and depression without epilepsy groups ($p = 1,000$) and epilepsy and controls ($p = 0.790$). In the group of patients with epilepsy, there was no difference between the polymorphisms studied and the history of psychiatric comorbidities. A correlation was observed between alleles with high transcriptional activity in homozygosis or hemizygotis (3.5 and 4 repeats) of the MAOA-uVNTR polymorphism and occurrence of daily/weekly epileptic seizures ($p = 0.032$) and bilateral tonic-clonic seizures ($p = 0.016$). There was also a relationship between the allele of 12 repeats in homozygosis (allele related to higher messenger RNA production) of the 5-HTTVNTR polymorphism and family history of epilepsy in patients with epilepsy

($p = 0.013$). High transcriptional activity alleles of MAOA-uVNTR are related to the higher transcriptional efficiency of the monoamine oxidase A gene and higher enzymatic activity, leading to increased serotonin metabolism. Therefore, it is possible that the reduction in serotonin concentration may lead to an increase in neuronal hyperexcitability, increasing the frequency of seizures and occurrence of bilateral tonic-clonic seizures. The 12-repeat allele of 5-HTTVNTR is related to increased messenger RNA production, leading to increased transcriptional efficiency of the 5-HTTVNTR gene. This finding suggests the presence of a subgroup of patients with a familial predisposition for the occurrence of epileptic seizures due to a state of neuronal hyperexcitability determined by the higher expression of the serotonin transporter. This study suggests that the polymorphisms evaluated are not related to the presence of epilepsy or psychiatric comorbidities in these patients, but rather to clinical aspects of epilepsy (frequency of epileptic seizures, the presence of bilateral tonic-clonic seizures, and family history of epilepsy) in patients with temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis.

Descriptors: epilepsy, temporal lobe; genetics; serotonin; receptors, serotonin; mood disorders; depression.

A epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal (ELT-EH) é a causa mais comum de epilepsia focal farmacorresistente nos adultos, em muitos casos requerendo tratamento cirúrgico¹. O diagnóstico da ELT-EH requer um conjunto de sinais e sintomas associados a dados neurofisiológicos e de neuroimagem compatíveis².

Os transtornos do humor, em especial o transtorno depressivo maior (TDM) e os transtornos de ansiedade são as comorbidades psiquiátricas mais frequentes nos pacientes com epilepsia^{3,4,5}, sendo mais prevalente nos pacientes farmacorresistentes⁶. Pacientes com epilepsia apresentam cerca de duas vezes mais chance de apresentar depressão, e 3,6 a 5 vezes mais chance de cometer suicídio quando comparados à população geral⁵⁻⁹. Por outro lado, sabe-se que pacientes com TDM possuem seis vezes mais chance de apresentar uma crise epiléptica não provocada do que a população geral^{10,11}. Portanto, há evidências de que a associação entre os transtornos do humor e a epilepsia não implique em causalidade, mas que possa estar relacionada a substratos biológicos comuns, estabelecendo uma relação bidirecional^{4,6,12,13}.

A apresentação clínica dos transtornos do humor na epilepsia inclui o TDM, transtorno afetivo bipolar, distímia e depressão menor. Em alguns casos, as características clínicas da depressão na epilepsia não se enquadram nos critérios do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition* (DSM IV-TR) (APA, 2000)^{6,14}. Além disso, de acordo com a relação temporal com as crises epilépticas, os sintomas afetivos podem ser classificados como ictais, peri-ictais e interictais, sendo este último o mais frequente⁶.

As características clínicas da depressão na epilepsia, ainda que preenchendo os critérios do DSM IV-TR, são particulares. Os sintomas mais frequentes incluem disforia, anedonia, sensação de culpa e ideação suicida. Outros autores também descrevem altos níveis de ansiedade, hostilidade, sensação de despersonalização, e mais raramente manifestações psicóticas¹⁵. Há comprometimento significativo nas atividades diárias, interações sociais e qualidade de vida dos pacientes ^{4,6}. A presença de depressão nos pacientes com epilepsia parece representar um preditor de pior prognóstico. Pacientes com epilepsia e depressão são mais susceptíveis a apresentar efeitos adversos dos fármacos antiepilépticos (FAEs)^{3,16}, farmacorresistência¹⁷ e pior prognóstico após a cirurgia de epilepsia¹⁸ quando comparados àqueles pacientes sem depressão^{19,20}.

Os mecanismos fisiopatológicos em comum entre a ELT e os transtornos do humor incluem anormalidades no sistema monoaminérgico, sobretudo no sistema serotoninérgico^{21,22}. O papel das monoaminas na ELT e nos transtornos do humor tem sido identificado através de estudos de neuroimagem estrutural e funcional, demonstrando uma associação entre sintomas depressivos nos pacientes com ELT com alterações nas vias serotoninérgicas centrais ²³⁻²⁵. Tanto na depressão quanto na ELT observa-se redução no volume dos hipocampus e da amígdala^{9,26}. Estudos nos pacientes com ELT utilizando a tomografia por emissão de pósitrons (*positron emission tomography* - PET), tendo como alvo o receptor de serotonina (5-HT) 5-HT1A, demonstraram uma redução no potencial de ligação a este receptor nos pacientes com epilepsia^{23,27-29} e depressão³⁰. Esta redução é ainda maior naqueles pacientes com ambas as condições quando comparados àqueles

somente com ELT³¹, estendendo-se tanto ao foco epiléptico quanto a estruturas límbicas extralesionais, como a ínsula e o giro para-hipocampal³². Estes dados corroboram a hipótese da existência de mecanismos fisiopatológicos comuns, ligando disfunções no sistema serotoninérgico a ambas as condições^{33,34}.

O papel da 5-HT na epilepsia e nos transtornos do humor também tem sido demonstrado através de modelos experimentais. A transmissão serotoninérgica modula uma variedade ampla de crises epiléticas induzidas experimentalmente. Estudos em mamíferos também evidenciam que a 5-HT é o principal modulador de comportamentos emocionais³⁵⁻⁴⁰.

1.1. O SISTEMA SEROTONINÉRGICO

A 5-HT é um neurotransmissor monoaminérgico e um regulador importante das atividades morfogenéticas durante o desenvolvimento cerebral, da neurogênese e plasticidade neuronal⁴¹⁻⁴³. A ação da 5-HT, como um mensageiro químico, tem sua função mediada através de seus receptores de membrana e é regulada pela síntese, metabolismo enzimático e pelo transportador de 5-HT⁴¹.

Síntese da 5-HT: A 5-HT do sistema nervoso central (SNC) é produzida por um número pequeno de neurônios localizados nos núcleos da rafe mesencefálica, ponte e medula⁴². A 5-HT é derivada do aminoácido triptofano, que é convertido nos neurônios serotoninérgicos pelas enzimas triptofano hidroxilase e a 5-hidroxitriptofano descarboxilase em 5-HT. Observa-se uma

alta densidade de fibras e terminais 5-HT presentes por todo o SNC, incluindo o hipocampo e o neocórtex⁴³.

Transdução do sinal – receptores: São atualmente reconhecidos quatorze subtipos de receptores de membrana de 5-HT em mamíferos, classificados em sete famílias de receptores (5-HT1 – 5-HT7). A maioria dos receptores da 5-HT funciona acoplado à proteína G (receptores metabotrópicos), sendo que apenas os receptores do tipo 5-HT3 caracterizam-se por funcionar acoplados a canais iônicos (receptores ionotrópicos)⁴⁴. Neurônios de diversos tipos expressam receptores de 5-HT no SNC, sendo que, até o momento, foi apontado o papel dos receptores dos subtipos 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2C, 5-HT3 e 5-HT7 na epileptogênese⁴⁵. Tanto os receptores 5-HT metabotrópicos quanto os 5-HT3 ionotrópicos podem, direta ou indiretamente, modificar a condutância iônica e/ou a concentração iônica dentro das células, resultando em despolarização ou hiperpolarização dos neurônios⁴⁵.

Inativação da 5-HT: Os neurotransmissores são removidos da fenda sináptica através de três mecanismos: dispersão, degradação enzimática, e recaptção. Uma parte de todos os mensageiros químicos é removida através do mecanismo de dispersão simples. Já a recaptção das substâncias neurotransmissoras é o mecanismo mais comum de inativação. O transportador de 5-HT (5-HTT) é o regulador chave da transmissão serotoninérgica, sendo o fator mais importante na inativação da 5-HT na fenda sináptica⁴⁶. A degradação enzimática do neurotransmissor liberado não está envolvida apenas no término da transmissão sináptica, mas pode ser importante para controlar a concentração do neurotransmissor dentro do próprio neurônio ou para inativar moléculas do neurotransmissor que tenham

se difundido para fora da fenda sináptica⁴⁷. A monoamino oxidase (MAO) também participa desse processo, constituindo-se em uma enzima mitocondrial envolvida tanto no metabolismo da 5-HT quanto de outras monoaminas, como a dopamina e a norepinefrina⁴⁸. A isoforma monoamino oxidase A (MAOA) apresenta alta seletividade pela 5-HT⁴⁹.

1.2. POLIMORFISMOS DE GENES RELACIONADOS À TRANSMISSÃO SEROTONINÉRGICA

Uma herança poligênica e multifatorial tem sido proposta para a maioria das doenças neuropsiquiátricas, mesmo para aquelas que apresentam uma herdabilidade estimada em 90% ou maior, uma vez que nenhum gene único com um efeito maior foi identificado até o presente momento nesses transtornos^{50,51}. Os dois tipos de polimorfismos mais estudados em análise de genes candidatos são os caracterizados por número variável de repetições em *tandem* (VNTR - do inglês *variable number of tandem repeats*) e os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP - do inglês *single nucleotide polymorphism*).

Com base em teorias neurobiológicas, os polimorfismos relacionados à transmissão monoaminérgica são os mais amplamente estudados nos transtornos psiquiátricos⁵⁰, mas não em transtornos neurológicos, como na epilepsia. Genes que codificam proteínas relacionadas à neurotransmissão serotoninérgica, envolvidas na síntese, transdução do sinal, transporte e catabolismo podem regular a biodisponibilidade da 5-HT.

Não há evidências de mutações nos genes diretamente envolvidos na transmissão serotoninérgica nas síndromes epiléticas, mas o genoma humano contém muitas variantes genéticas, muitas delas de consequência funcional ⁵². Diversos *loci* têm sido sugeridos, mas a maioria dos estudos tem demonstrado resultados controversos quando replicados em populações distintas. As razões específicas para essas discrepâncias não são claras, sendo possivelmente relacionadas a influências étnicas ou características endofenotípicas da população estudada ⁵³.

1.2.1. RECEPTORES 5-HT

1.2.1.1. RECEPTORES 5-HT1A

Diversos estudos têm sugerido que alterações no receptor 5HT1A possam representar um mecanismo comum entre epilepsia e depressão ^{24,29,54-56}. Portanto, é possível que variantes do gene 5-HT1A que modifiquem sua expressão possam estar associadas a um risco para o desenvolvimento de epilepsia ou comorbidades psiquiátricas nos pacientes com epilepsia.

O gene que codifica o receptor 5-HT1A contém um SNP na região promotora (C-1019G, rs6295) que parece regular a expressão gênica ^{57,58}, o potencial de ligação do receptor, assim como a reatividade da amígdala ⁵⁹. Postula-se que, em condições fisiológicas, o alelo G do C-1019G aumente a expressão do autorreceptor pré-sináptico, porém diminua a expressão do receptor pós-sináptico ⁶⁰.

O estudo de Stefulj *et al.* (2010)⁶¹, avaliou a influência do polimorfismo do gene 5-HT1A rs6295 na susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epilépticas em 101 pacientes com ELT, por diversas etiologias, não obtendo êxito em demonstrar a contribuição deste polimorfismo na etiopatogenia da ELT. No entanto, os autores enfatizam que o poder estatístico da amostra possa ter sido insuficiente para a detecção de influências mais sutis. Pernhorst *et al.*(2013)⁶² avaliaram a expressão gênica do polimorfismo rs6295 em 140 tecidos hipocampais resultantes de cirurgias para epilepsia farmacorresistente em pacientes com ELT-EH. A expressão do RNA mensageiro do 5-HT1A foi significativamente mais abundante no hipocampo dos pacientes com ELT-EH homozigotos para o alelo C do que para o alelo G.

Em contrapartida, outros estudos têm demonstrado que o alelo G do rs6295 é um fator de risco para o desenvolvimento de transtornos neuropsiquiátricos, dentre eles depressão e síndrome do pânico^{59,63-64}. O estudo de Schenkel *et al.* (2012)⁶⁵, com 155 pacientes com ELT por diversas etiologias, com e sem transtornos psiquiátricos associados, em uma população brasileira, sugere, no entanto, que o alelo C do polimorfismo rs6295 seja um fator de risco para a ocorrência de transtornos ansiosos nos pacientes com ELT.

1.2.1.2. RECEPTORES 5-HT1B

A região que codifica o gene 5-HT1B contém um SNP G861C (rs6296) que está relacionado com o número de receptores 5-HT1B no córtex cerebral⁶⁶. O estudo de Stefulj *et al.* (2010)⁶¹ observou um discreto aumento na

frequência do alelo G no grupo de pacientes com epilepsia ($p=0,0385$), sugerindo que o mesmo possa estar implicado na susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epiléticas, encorajando maiores investigações.

1.2.1.3. RECEPTORES 5-HT_{2C}

O gene que codifica o receptor 5-HT_{2C} contém um SNP funcional na região codificadora (C68G), que resulta na substituição da cisteína por serina na posição 23 (Cys23Ser, rs6318) ⁶⁷. O estudo de Stefulj *et al.* (2010) ⁶¹ não conseguiu demonstrar associação entre esse polimorfismo e a predisposição à ocorrência de crises epiléticas. Samochowiec *et al.* (1999) ⁶⁷, avaliaram o envolvimento deste polimorfismo nas epilepsias generalizadas geneticamente determinadas e nas crises desencadeadas por abstinência alcoólica, também não encontrando associação. Ainda permanece incerto se há influência desse polimorfismo nos pacientes com ELT-EH.

1.2.2. TRANSPORTADOR DE 5-HT

Alguns autores estudaram a associação entre variantes do gene que codifica o 5-HTT e epilepsia ^{53,61,65,68-72}, sugerindo que a modulação do gene 5-HTT possa ter influência na susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epiléticas, ou nas características clínicas da epilepsia.

O gene 5-HTT humano está localizado no cromossomo 17q11.1-q12, abrange 31 kb e consiste em 14 exons ⁷³. Duas regiões polimórficas do gene 5-HTT, com supostas consequências funcionais, foram identificadas. O primeiro

polimorfismo é uma inserção/deleção de 44 pb na região promotora, a região polimórfica ligada ao 5-HTT/5-HTT *linked polymorphic region* (5-HTTLPR)⁷⁴. O 5-HTTLPR tem atraído maior interesse em pesquisa por ser comum em populações humanas de todas as etnias, e pelo seu impacto na expressão gênica do 5-HTT e na função do sistema serotoninérgico. A variante curta (*short* – S) indica a presença de uma deleção, resultando em um alelo de 484 pb, enquanto que a ausência dessa deleção produz uma variante longa (*long* – L) de 528 pb. A variante curta prejudica a atividade transcricional do 5-HTT e diminui a atividade biológica do transportador. Já a variante L tem sido associada a concentrações maiores de RNA mensageiro e captação de 5-HT⁷⁴. Porém, Hu *et al.*(2005)⁷⁵ observaram a existência de um SNP A/G dentro da inserção do 5-HTTLPR, gerando um polimorfismo quadrialélico – variantes La, Lg, Sa e Sg. Apenas a variante La está associada a concentrações maiores de RNA mensageiro e maior captação de 5-HT, enquanto a variante Lg equivale às variantes Sa e Sg de baixa atividade transcricional.

O estudo populacional de Lacey *et al.* (2014)⁷², avaliou 553 pacientes com epilepsia focal e generalizada, com e sem transtorno depressivo. O objetivo foi o de avaliar a presença das variantes alélicas do polimorfismo 5-HTTLPR em conjunto com estressores ambientais, a fim de determinar os fatores predisponentes para o desenvolvimento da depressão nesse grupo de pacientes. Não foi observada relação entre o genótipo e o diagnóstico de epilepsia ou de depressão nesse grupo de pacientes. Porém, o grupo avaliado foi extremamente heterogêneo no que diz respeito à etiologia da epilepsia, bem como gravidade, presença de lesão cerebral e prognóstico.

O segundo polimorfismo do 5-HTT consiste em um VNTR de 17 pb no segundo intron (5-HTTVNTR) ⁷⁶, sendo mais comuns as variantes com 9,10 e 12 repetições. Postula-se que o alelo com 12 repetições possua uma atividade transcricional maior quando comparado aos alelos 9 e 10, que por sua vez teriam um efeito protetor para o desenvolvimento de crises epiléticas, por diminuir a expressão do gene do 5-HTT e, conseqüentemente, diminuir a inativação da 5-HT na fenda sináptica ^{74,76,77}.

O estudo de Li *et al.* (2012) ⁷¹, com 334 indivíduos chineses da etnia Han com ELT e 487 controles, sugere que o alelo 10 do 5-HTTVNTR pode estar relacionado à susceptibilidade a desenvolver ELT. Este resultado opõe-se ao encontrado por Manna *et al.* (2007) ⁶⁹ em uma população italiana, e contraria a função biológica atribuída ao alelo 10. Já outras séries ^{53,61,70,72} não demonstraram influência dos polimorfismos 5-HTT na susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epiléticas. As diferenças observadas podem estar relacionadas a influências étnicas ou características endofenotípicas da população estudada. Outra explicação possível é a de que, embora a baixa disponibilidade de 5-HTT leve em um primeiro momento a um efeito anticonvulsivante, a supressão em longo prazo da transcrição do 5-HTT pode levar a diminuição da expressão dos receptores 5HT1A, levando por sua vez a um aumento na excitabilidade neuronal e facilitação da atividade ictal ⁷¹. Por essa razão, é plausível imaginar que o 5-HTTVNTR desempenhe papéis distintos em diferentes fases da epileptogênese ⁷¹.

1.2.3. MONOAMINO OXIDASE A (MAOA)

Foi demonstrado que um polimorfismo do tipo VNTR no gene da MAOA afeta a eficiência transcricional do promotor da MAOA e sua atividade enzimática⁷⁸. O genótipo uVNTR pode constituir um determinante genético comum em diferenças individuais significantes na capacidade de oxidação de substratos críticos da MAOA, que inclui a 5-HT ⁷⁸. O polimorfismo MAOA-uVNTR consiste em um VNTR posicionado 1,2 kb acima do exon 1 do gene da MAOA. Os alelos do polimorfismo MAOA-uVNTR podem ser classificados como de maior (high-MAOA) ou menor (low-MAOA) atividade transcricional do gene da MAOA⁷⁹. Alelos com 3,5 ou 4 repetições são transcritos 2-10 vezes mais eficientemente do que aqueles com 3 ou 5 repetições, sugerindo a existência de um tamanho ótimo para a região reguladora⁸⁰. Alelos de alta atividade transcricional estão associados a diminuição na concentração de 5-HT, enquanto que alelos de baixa atividade transcricional tem o efeito oposto. O estudo de Stefulj *et al.*(2010) ⁶¹, não demonstrou influência do polimorfismo MAOA-uVNTR na ELT. Não há estudos sobre a influência de variantes genéticas da MAOA nos pacientes com ELT-EH.

Postula-se que a maior parte das epilepsias tenha uma base poligênica, com múltiplos fatores de susceptibilidade genética que têm apenas efeitos parciais, mas agem em conjunto e interagem com diversos fatores ambientais ^{81,82}. Nesse contexto, o estudo de variantes genéticas, ou polimorfismos genéticos, relacionadas à via serotoninérgica pode auxiliar na compreensão das alterações desta via, possivelmente relacionadas à susceptibilidade ao

desenvolvimento de crises epilépticas e à ocorrência do TDM nos pacientes com ELT-EH.

Embora os polimorfismos relacionados à transmissão serotoninérgica sejam amplamente estudados nos pacientes com transtornos psiquiátricos, em especial no TDM, há dados escassos e controversos sobre a importância desses polimorfismos na susceptibilidade à epilepsia ^{53,61-62,65,68-69,70-72,83}.

Há, até o momento, apenas dois estudos ^{53,62} em uma amostra homogênea de pacientes com ELT-EH, diferindo deste trabalho quanto aos objetivos a serem avaliados. A relevância desta abordagem é a de, possivelmente, identificar biomarcadores genéticos de susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epiléticas nos pacientes com ELT-EH.

Ressalta-se, ainda, que somente três estudos ^{65,72,83} abordam a presença de comorbidades psiquiátricas nos pacientes com ELT por diferentes etiologias (amostra heterogênea). No nosso trabalho propusemos um estudo controlado tendo, além de controles saudáveis, pacientes com TDM. Até o momento, não há nenhum estudo controlado com pacientes com ELT-EH e depressão comparando-se a pacientes com TDM sem epilepsia. Devido às características clínicas particulares do transtorno depressivo na epilepsia, postulamos que possa haver polimorfismos relacionados à depressão na epilepsia que não sejam identificados no TDM sem epilepsia.

3.1. OBJETIVO GERAL

Este foi um estudo de associação genética - observacional, longitudinal, caso-controle, retrospectivo - com o objetivo de determinar a presença de polimorfismos relacionados à transmissão serotoninérgica em uma amostra homogênea de pacientes com ELT-EH, com e sem TDM, em comparação a um grupo de pacientes com TDM sem epilepsia.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar a possível associação entre os polimorfismos do gene que codifica o 5-HTT - 5-HTTLPR e 5HTTVNTR - e a ELT-EH com e sem transtorno depressivo, em comparação a um grupo de pacientes com TDM sem epilepsia;
2. Determinar a possível associação entre o polimorfismo do gene que codifica a MAOA - MAOA-uVNTR - e a ELT-EH com e sem transtorno depressivo, em comparação a um grupo de pacientes com TDM sem epilepsia;
3. Determinar a possível associação entre polimorfismos de genes que codificam os receptores de 5-HT - 5-HT1A (rs6295), 5-HT1B (rs6296) e 5-HT2C (rs6318) - e a ELT-EH com e sem transtorno depressivo, em comparação a um grupo de pacientes com TDM sem epilepsia;
4. Verificar se há associação entre a presença um polimorfismo específico e a ocorrência de ELT-EH;

5. Verificar se há associação entre a presença de um polimorfismo específico para a presença de transtorno depressivo nos pacientes com ELT-EH.

4.1. PARTICIPANTES

Os pacientes com TLE-EH e TDM que participaram deste estudo foram avaliados no Ambulatório de Epilepsia e na Unidade de Transtornos do Humor do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP) e do Instituto de Neurologia de Goiânia, Brasil. Antes de participar do estudo, todos os pacientes e controles assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo e pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás (número 17030713.2.1001.0068).

4.2. PACIENTES COM ELT-EH

4.2.1. PERFIL CLÍNICO DOS PACIENTES COM ELT-EH

Foram incluídos pacientes com ELT-EH com e sem transtornos psiquiátricos. Os pacientes foram submetidos a uma avaliação clínica e foram entrevistados com um questionário padrão. Os pacientes incluídos tiveram o diagnóstico de ELT-EH de acordo com os critérios da Liga Internacional Contra a Epilepsia (ILAE 2013, 2017)^{84,85}. Portanto, todos os pacientes tiveram diagnóstico radiológico (ressonância magnética - RNM) compatível com EH e com dados clínicos e neurofisiológicos que corroboravam crises do lobo temporal seguindo os critérios da ILAE.

Os pacientes com ELT-EH foram avaliados por um psiquiatra, utilizando o SCID-I/P (*Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders/Entrevista Clínica Estruturada para os Transtornos do Eixo I do DSM-IV*)⁸⁶. O SCID consiste em uma entrevista semiestruturada, que fornece um diagnóstico de transtornos mentais no momento da entrevista e ao longo da vida.

Foram excluídos pacientes com outras síndromes epiléticas, *dual-pathology* ou ausência de lesão à RNM de encéfalo. Com base nesses critérios, foram incluídos 119 pacientes com ELT-EH. Cinquenta e um pacientes (42,8%) eram do sexo masculino, com média de idade de 38,6 anos (DP = 13,8 anos; Min/Máx: 9-70 anos). A etnia de cada participante foi inferida de dados autorreferidos sobre sua ancestralidade. A distribuição étnica foi de 87 (73,1%) caucasianos, 17 (14,3%) afrodescendentes e 15 (12,6%) afro-brasileiros.

4.2.2. PERFIL DA EPILEPSIA DOS PACIENTES COM ELT-EH

A média de idade da primeira crise epilética foi 11,3 anos (DP = 10,6; Min/Máx: 0,1 - 52 anos), com média de duração da epilepsia de 25,9 anos (DP = 13,0; Min/Máx: 3 - 62 anos). Quarenta e três pacientes (36,1%) tinham EH à direita, 62 (52,1%) à esquerda, e 14 (11,8%) bilateral. Vinte e sete pacientes (22,7%) estavam em monoterapia e 92 (77,3%) em politerapia. Presença de crises tônico-clônicas bilaterais foi observada em 84 (70,5%) pacientes. Vinte e quatro pacientes (20,1%) apresentaram *status epilepticus* ao longo da vida, e crises febris ocorreram em 29 pacientes (24,3%). Cinquenta e cinco (46,2%)

pacientes tinham história familiar de epilepsia e 42 (35,3%) pacientes tinham história familiar para transtornos psiquiátricos.

4.2.3. PERFIL PSIQUIÁTRICO DOS PACIENTES COM ELT-EH

Foram diagnosticados transtornos psiquiátricos em 95/119 pacientes (79,8%), e o TDM, isoladamente ou em associação com outros transtornos psiquiátricos foi o diagnóstico mais frequente (56 [58,9%]) (**Tabela 1**).

Tabela 1: Transtornos psiquiátricos nos pacientes com ELT-EH

	N
TDM	46/95 (48,4%)
TDM e Psicose Interictal e/ou Ictal Associadas	6/95 (6,3%)
TDM e Transtorno Dissociativo Associado	3/95 (3,2%)
TDM e Transtorno Ansioso Associado	1/95 (1,0%)
Psicose Interictal e/ou Ictal	15/95 (15,8%)
Transtorno Dissociativo	2/95 (2,1%)
Transtorno Ansioso	9/95 (9,5%)
Outros Diagnósticos	13/95 (13,1%)

TDM: transtorno depressivo maior

4.3. PACIENTES COM TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR SEM EPILEPSIA

Foram incluídos pacientes com o diagnóstico de TDM sem epilepsia e sem sintomas psicóticos, classificados de acordo com os critérios DSM-IV-TR¹⁴, com base em entrevista clínica e confirmados através do SCID-I / P⁸⁶.

Com base nesses critérios, foram incluídos 146 pacientes com TDM. Quarenta e nove pacientes (33,6%) eram do sexo masculino, com média de idade de 47,0 anos (DP= 13,0; Min/Máx: 18 - 76 anos). A distribuição étnica foi de 115 (78,7%) caucasianos, 18 (12,3%) afrodescendentes, seis (4,1%) afrobrasileiros e sete (4,9%) asiáticos.

4.4. CONTROLES

Foram avaliados controles saudáveis, recrutados da população geral, sem histórico pessoal ou familiar de epilepsia e transtornos psiquiátricos. Inicialmente, os controles foram submetidos a uma entrevista neurológica, seguida por exame físico e neurológico, com o objetivo de excluir transtornos do SNC não diagnosticados ou relatados pelos indivíduos. Após essa etapa, os participantes foram avaliados do ponto de vista psiquiátrico, utilizando o SCID-I/P⁸⁶. Foram excluídos participantes que tivessem histórico prévio de transtornos psiquiátricos. Com base nesses critérios, foram incluídos 113 voluntários saudáveis. Cinquenta e cinco participantes (49,5%) eram do sexo masculino, com média de idade de 32,4 anos (DP = 11,0; Min/Máx: 17 - 64

anos). A distribuição étnica foi de 68 (60,2%) caucasianos, 24 (19,5%) afrodescendentes, 17 (15,0%) afrobrasileiros e quatro (5,3%) asiáticos.

4.5. GENOTIPAGEM

O DNA foi extraído de leucócitos obtidos da coleta de sangue periférico, através do método de extração salino (*salting-out*)⁸⁷. A qualidade e quantidade das amostras de DNA foram avaliadas em espectrofotômetro Nanodrop 1000 (ThermoScientific™). Para a análise dos SNP foi utilizado o método de discriminação alélica utilizando o sistema TaqMan em aparelho de reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction* – PCR) em tempo real (BIOER Technology CO). Protocolos de padronização para amplificação das regiões de interesse foram desenvolvidos para cada gene de escolha.

Para os SNPs rs6295 (C-1019G – receptor 5-HT1A); rs6318 (Cys23Ser / 68G>C ou G68C – receptor 5-HT2C); rs6296 (G861C - receptor 5-HT1B) foi utilizado o protocolo de reação de PCR em tempo real, que consiste para cada reação: GoTaq Probe qPCR Master Mix (Promega®) 4,15µl (1x), ensaio de genotipagem para SNP TaqMan® (Life Technologies®) 3,5µl (20x), DNA genômico 2µl (50ng) , água ultrapura para completar volume de 10µl. A termociclagem para amplificação e níveis de fluorescência foi de 45 ciclos de 15 segundos à 95°C e 1 minuto à 60°C.

Para a análise dos polimorfismos do tipo VNTR foram realizadas as seguintes reações de amplificação da região de interesse por PCR convencional:

MAOA-uVNTR Primer-F - ACAGCCTGACCGTGGAGAAG e Primer-R GAACGGACGCTCCATTTCGGA (Exxtend®) 100mM (0,05µl), tampão 1µl (10x)(Invitrogen®), dNTP 1,25mM (Invitrogen®) 1,6µl, platinum Taq polimerase 5U (0,1µl) (Invitrogen®), Mgcl 50 mM (0,3µl) (Invitrogen®), DNA genômico 25ng (2µl) e água ultrapura para completar volume de 10µl. Condições de ciclagem: Desnaturação inicial de 95° C durante 2 minutos seguidos por 45 ciclos a 94°C durante 30 segundos , 60°C por 30 segundos, 72°C por 40 segundos e uma extensão final de 72° C durante 5 minutos. Resfriado a 4°C e armazenado a -20°C.

5-HTTVNTR Primer-F - GGTCAGTATCACAGGCTGCGAGTAG e Primer-R TGTTCTAGTCTTACGCCAGTGAA 100mM 1,0µl (Exxtend®), tampão 1µL (10x) (Invitrogen®), dNTP 1,25nM (Invitrogen®) 1,6µl, platinum Taq polimerase 5U 2,5µl (Invitrogen®), Mgcl 50 mM 0,3µl (Invitrogen®), DNA genômico 100ng 4µl e água ultrapura para completar volume de 10µl. Condições de ciclagem: Desnaturação inicial de 94° C durante 2 minutos seguidos por 45 ciclos a 95°C por 30 segundos, 62°C por 30 segundos, 72°C por 1 minuto e uma extensão final de 72° C durante 10 minutos. Resfriado a 4°C e armazenado a -20°C.

5-HTTLPR Primer-F - TCCTCCGCTTTGGCGCCTCTTCC e Primer-R TGGGGGTTGCAGGGGAGATCCTG. (Exxtend®) 50mM (0,5µl), tampão 2,5µl (10x) 10 mM dATP, dCTP, e dTTP, 0,18µl cada, e 10 mM dGTP e 7-deaza-dGTP com 2,5µl (Invitrogen®), platinum Taq polimerase 5U (3,8µl) (Invitrogen®), Mgcl 50 mM (0,4µl) (Invitrogen®), betaína 0,5M (5µl) (Sigma®), DNA genômico 100 ng (2µl) e água ultrapura para completar volume de 25µl. Condições de ciclagem: Desnaturação inicial de 95°C durante 2 minutos

seguidos por 40 ciclos a 95°C durante 30 segundos, 54.4°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto e 30 segundos e uma extensão final de 72°C durante 10 minutos. Resfriado a 4°C e armazenado -20°C. Para o-5-HTTLPR foi aplicado um protocolo de digestão utilizando a enzima de restrição *MspI*. Os alelos encontrados foram classificados conforme Wendland *et al.* e Hu *et al.* [66] - os alelos encontrados podem ser designados como alelos curtos de 469-402 de 67 pares de bases e longos de 512-402 de 110 pares de bases. Para a padronização do protocolo de digestão desses alelos foi utilizado: para cada 10 mix de reação de 1,8 µl contendo, tampão (10x) 10µl e enzima *MspI* 1µl para cada reação, em incubação de no mínimo 12 horas a 37°C.

A amplificação de todos os produtos de PCR ocorreu por sistema automatizado de eletroforese capilar Fragment Analyzer™.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizadas análises descritivas para obtenção dos valores de média e desvio padrão de cada uma das variáveis observadas. Para todas as análises estatísticas adotou-se um valor de $p < 0,05$ num intervalo de confiança de 95%. As variáveis categóricas foram comparadas entre os grupos através do teste exato de Fisher, enquanto as variáveis numéricas foram comparadas entre os grupos através dos testes de Kruskal-Wallis e de Wilcoxon-Mann-Whitney. Comparações *post hoc* foram corrigidas pelo método de Holm (Bonferroni sequencial). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SPSS para Windows Versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Como o gene do receptor 5-HT_{2C} está localizado no cromossomo X, os indivíduos homocigotos e hemizigotos para o mesmo alelo foram agrupados durante a análise para aumentar o poder estatístico. Da mesma forma, como o gene da MAOA também está localizado no cromossomo X, foi utilizada a classificação de Sabol *et al.*⁸⁰ e Caspi *et al.*⁸⁸ para designar os alelos como de baixa ou alta atividade transcricional. As mulheres heterocigotas para alelos de baixa e alta atividade transcricional foram incluídas em um grupo à parte. Para designar os alelos do 5-HTTLPR foi utilizada a classificação de Wendland *et al.*⁸⁹ e Hu *et al.*⁷⁵

O tamanho da amostra foi calculado com o programa G Power versão 3.1.9.2. Para uma amostra de 100 a 150 pessoas por grupo, o poder estatístico foi de 95%^{53,61,65,69}.

Não foi observada diferença entre os grupos ELT-EH e controles quanto ao gênero ($p = 0,612$) e etnia ($p=0,200$).

As distribuições genotípicas dos polimorfismos rs6295, rs6296, rs6318, MAOA-uVNTR,5-HTTLPR e 5-HTTVNTR estão descritas nas **Tabelas 2,3 e 4**.

Tabela 2. Distribuição genotípica dos polimorfismos dos receptores de 5-HT

	Genótipo	GI	GII	GIII	GIV	P ¹	P ¹	P ¹	P ¹
		N %	N %	N %	N %	GI vs. GIII	GIII vs. GIV	GI vs. GIV	GII vs. GIV
rs6295	CC	23 (19,3)	11 (20,0)	25 (22,1)	27 (18,5)	1,000	1,000	1,000	1,000
	CG	60 (50,4)	26 (47,3)	58 (51,3)	79 (54,1)				
	GG	36 (30,3)	18 (32,7)	30 (26,5)	40 (27,4)				
rs6296	CC	11 (9,2)	5 (9,1)	4 (3,5)	10 (6,8)	0,838	0,838	0,838	0,373
	CG	45 (34,8)	17 (30,9)	48 (42,5)	72 (49,3)				
	GG	63 (56,0)	33 (60,0)	61 (54)	64 (43,8)				
rs6318	GG e G/-	98 (82,3)	47 (83,9)	82 (72,6)	104 (71,2)	0,296 ²	0,821 ²	0,207 ²	0,207 ²
	CC e C/-	8 (6,7)	2 (3,5)	19 (16,8)	13 (8,9)	0,100 ³	0,275 ³	0,100 ³	1,000 ³
	CG	13 (11,0)	7 (12,6)	12 (10,6)	29 (19,9)				

GI: epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal; **GII:** ELT-EH com transtorno depressivo maior; **GIII:** controles saudáveis; **GIV:** transtorno depressivo maior sem epilepsia. ¹ Teste exato de Fisher. Comparações *post hoc* foram corrigidas pelo método de Holm (Bonferroni sequencial). ² Comparação entre os indivíduos com os genótipos GG e G/- com os indivíduos com os genótipos CC, CG e C/-. ³ Comparação entre os indivíduos com os genótipos CC e C/- com os indivíduos com os genótipos GG, CG e G/.

Tabela 3. Distribuição genotípica do polimorfismo MAOA-uVNTR

Genótipo ¹	GI	GII	GIII	GIV	P ²	P ²	P ²	P ²
	N %	N %	N %	N %	GI vs. GIII	GIII vs. GIV	GI vs. GIV	GII vs. GIV
Alta atividade	54 (46,5)	22 (40,7)	57 (50,4)	68 (46,6)	1,000	0,617	0,799	1,000
Baixa atividade	34 (29,3)	13 (24,1)	32 (28,3)	32 (21,9)				
Heterozigotas	28 (24,2)	19 (35,2)	24 (21,2)	46 (31,5)				

GI: epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal; **GII:** ELT-EH com transtorno depressivo maior;

GIII: controles saudáveis; **GIV:** transtorno depressivo maior sem epilepsia.

¹**alta atividade:** indivíduos com alelos de alta atividade transcricional (3,5 e 4 repetições); **baixa atividade:** indivíduos com alelos de baixa atividade transcricional (2, 3 e 5 repetições); **heterozigotas:** mulheres heterozigotas para alelos de alta e baixa atividade transcricional

²Teste exato de Fisher

Tabela 4. Distribuição genotípica dos polimorfismos do 5-HTT

Genótipo	GI	GII	GIII	GIV	P ¹	P ¹	P ¹	P ¹	
	N %	N %	N %	N %	GI vs. GIII	GIII vs. GIV	GI vs. GIV	GII vs. GIV	
5-HTTLPR²	Alta atividade	18 (15,5)	9 (16,7)	30 (27,0)	25 (17,2)	0,626	0,728	1,000	1,000
	Baixa atividade	42 (36,2)	20 (37,0)	34 (30,6)	55 (37,9)				
	Intermediária	56 (48,3)	25 (46,3)	47 (42,3)	65 (44,8)				
5-HTTVNTR³	Alta atividade	51 (44,7)	22 (41,5)	45 (40,2)	72 (49,7)	0,790	1,000	1,000	0,974
	Baixa atividade	18 (15,8)	10 (18,9)	10 (8,9)	14 (9,7)				
	Intermediária	45 (39,5)	21 (39,6)	57 (50,9)	59(40,7)				

GI: epilepsia do lobo temporal causada por esclerose hipocampal; **GII:** ELT-EH com transtorno depressivo maior;

GIII: controles saudáveis; **GIV:** transtorno depressivo maior sem epilepsia.

¹ Teste exato de Fisher

² **alta atividade:** homozigotos para o alelo de alta atividade transcricional La; **baixa atividade:** indivíduos com alelos de baixa atividade transcricional Lg, Sa e Sg; **intermediária:** heterozigotos para alelos de alta e baixa atividade transcricional

³ **alta atividade:** homozigotos para o alelo de alta atividade transcricional de 12 repetições; **baixa atividade:** indivíduos com alelos de baixa atividade transcricional de 9 e 10 repetições; **intermediária:** heterozigotos para alelos de alta e baixa atividade transcricional

5.1. rs6295

Não houve diferença entre o grupo ELT-EH **(GI)** e controle **(GIII)** ($p = 1,000$) e entre ELT-EH **(GI)** e TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 1,000$). Não foi observada diferença entre os grupos TDM sem epilepsia **(GIV)** e grupo controle **(GIII)** ($p = 1,000$) e ELT-EH com TDM **(GII)** e TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 1,000$) **(Tabela 2)**.

5.2. rs6296

Não houve diferença entre o grupo ELT-EH **(GI)** e controle **(GIII)** ($p = 0,838$) e entre o grupo ELT-EH **(GI)** e o grupo TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 0,838$). Não houve diferença entre os grupos TDM sem epilepsia **(GIV)** e grupo controle **(GIII)** ($p = 0,838$) e ELT-EH com TDM **(GII)** e TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 0,373$) **(Tabela 2)**.

5.3. rs6318

Os indivíduos homozigotos e hemizigotos para o mesmo alelo foram agrupados durante a análise, uma vez que esse gene está localizado no cromossomo X. Em uma comparação entre indivíduos homozigotos/hemizigotos para o alelo G e indivíduos homozigotos/hemizigotos/heterozigotos para o alelo C (indivíduos carreadores do alelo C), não houve diferença entre os grupos ELT-EH **(GI)** e o grupo controle **(GIII)** ($p = 0,296$) e entre os grupos ELT-EH **(GI)** e TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 0,207$). Não foi

observada diferença entre os grupos TDM sem epilepsia (**GIV**) e controle (**GIII**) ($p = 0,821$) e ELT-EH com TDM (**GII**) e TDM sem epilepsia (**GIV**) ($p = 0,207$). Uma comparação entre indivíduos homozigotos/hemizigotos para o alelo C e indivíduos homozigotos/hemizigotos/heterozigotos para o alelo G (indivíduos carreadores do alelo G) também foi realizada (**Tabela 2**).

Não houve correlação entre os polimorfismos rs6318, rs6295, rs6296 e características clínicas da epilepsia (**Tabela 5**).

Tabela 5. Comparação entre os genótipos dos polimorfismos dos receptores de 5-HT e as características clínicas da epilepsia

	rs6295 P	rs6296 P	rs6318 P	
			Genótipo G ³	Genótipo C ⁴
Média de idade da primeira crise	0,230 ¹	0,474 ¹	0,907 ⁵	0,672 ⁵
Média de duração da epilepsia	0,655 ¹	0,151 ¹	0,376 ⁵	0,847 ⁵
Presença de crises tônico-clônicas bilaterais	0,276 ²	0,229 ²	0,372 ²	0,358 ²
FAEs em uso (monoterapia/politerapia)	0,617 ²	0,586 ²	0,772 ²	1,000 ²
Presença de transtornos psiquiátricos	0,163 ²	0,466 ²	0,704 ²	0,452 ²
Crises febris	0,955 ²	1,000 ²	0,061 ²	0,176 ²
<i>Status epilepticus</i>	0,441 ²	0,510 ²	0,343 ²	0,613 ²
História familiar para epilepsia	0,967 ²	0,157 ²	0,794 ⁵	1,000 ⁵

FAEs – fármacos antiepilépticos

¹teste de Kruskal-Wallis

²teste exato de Fisher

³Comparação entre os indivíduos com os genótipos GG e G/- com os indivíduos com os genótipos CC, CG e C/-

⁴Comparação entre os indivíduos com os genótipos CC e C/- com os indivíduos com os genótipos GG, CG e G/

⁵teste de Wilcoxon-Mann-Whitney

5.4. MAOA-uVNTR

Como o gene da MAOA está localizado no cromossomo X, as mulheres heterozigotas para alelos de baixa e alta atividade transcricional foram incluídas em um grupo à parte. Não houve diferença entre o grupo ELT-EH **(GI)** e controle **(GIII)** ($p = 1,000$) e entre o grupo ELT-EH **(GI)** e o grupo TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 0,799$). Não houve diferença entre os grupos TDM sem epilepsia **(GIV)** e grupo controle **(GIII)** ($p = 0,617$) e ELT-EH com TDM **(GII)** e TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 1,000$) **(Tabela 3)**.

Foi observada correlação entre alelos de alta atividade transcricional em homozigose ou hemizigose (3,5 e 4 repetições) do polimorfismo MAOA-uVNTR e ocorrência de crises epilépticas diárias/semanais ($p=0,032$) e crises tônico-clônicas bilaterais ($p=0,016$). Não foi observada correlação entre o polimorfismo MAOA-uVNTR e as demais características clínicas da epilepsia avaliadas **(Tabela 6)**.

Tabela 6. Comparação entre os genótipos dos polimorfismos MAOA-uVNTR, 5-HTTLPR e 5-HTTVNTR e as características clínicas da epilepsia

	MAOA-uVNTR P	5-HTTLPR P	5-HTTVNTR P
Média de idade da primeira crise	0,145 ¹	0,935 ¹	0,285 ¹
Frequência de crises	0,032²	0,216 ²	0,696 ²
Presença de crises tônico-clônicas bilaterais	0,016²	0,206 ²	0,479 ²
FAEs em uso (monoterapia/politerapia)	0,917 ²	0,684 ²	0,780 ²
Presença de transtornos psiquiátricos	0,100 ²	0,991 ²	0,938 ²
Crises febris	0,918 ²	0,827 ²	0,757 ²
<i>Status epilepticus</i>	0,712 ²	0,310 ²	0,741 ²
História familiar para epilepsia	0,495 ²	0,510 ²	0,013²

FAEs – fármacos antiepilépticos

¹teste de Kruskal-Wallis

²teste exato de Fisher

5.5. 5-HTTLPR

Não houve diferença entre os grupos ELT-EH (**G1**) e controle (**GIII**) ($p = 0,626$) e entre o grupo ELT-EH (**G1**) e o grupo TDM sem epilepsia (**GIV**) ($p = 1,000$). Não foi observada diferença entre os grupos TDM sem epilepsia (**GIV**) e controle (**GIII**) ($p = 0,728$) e ELT-EH com TDM (**GII**) e TDM sem epilepsia (**GIV**) ($p = 1,000$) (**Tabela 4**).

Não houve correlação entre o polimorfismo 5-HTTLPR e características clínicas da epilepsia (**Tabela 6**).

5.6. 5-HTTVNTR

Não houve diferença entre os grupos ELT-EH **(GI)** e controle **(GIII)** ($p = 0,790$) e entre o grupo ELT-EH **(GI)** e o grupo TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 1,000$). Não foi observada diferença entre os grupos TDM sem epilepsia **(GIV)** e controle **(GIII)** ($p = 1,000$) e ELT-EH com TDM **(GII)** e TDM sem epilepsia **(GIV)** ($p = 0,974$) **(Tabela 4)**.

Foi observada correlação entre o alelo de 12 repetições em homozigose do 5-HTTVNTR e história familiar de epilepsia nos pacientes com ELT-EH ($p=0,013$). Não foi observada correlação entre o polimorfismo 5-HTTVNTR e as demais características clínicas da epilepsia avaliadas **(Tabela 6)**.

No presente estudo, avaliamos a influência dos polimorfismos genéticos dos receptores de 5-HT 5-HT1A, 5-HT2B e 5-HT2C, do polimorfismo da MAOA MAOA-uVNTR e dos polimorfismos do 5-HTT 5-HTTLPR e 5-HTTVNTR na susceptibilidade a crises epiléticas e a presença de depressão em uma grande amostra de pacientes com ELT-EH. Não observamos diferenças significativas nas frequências genótípicas entre os pacientes com ELT quanto à presença de depressão. Foi observada relação entre a presença de alelos de alta atividade transcricional do polimorfismo MAOA-uVNTR e ocorrência de crises epiléticas diárias/semanais e crises tônico-clônicas bilaterais. Também foi observada relação entre alelos de 12 repetições do polimorfismo 5-HTTVNTR e presença de história familiar de epilepsia entre os pacientes com ELT-EH.

A diversidade étnica pode desafiar a identificação de variantes genéticas relacionadas à epilepsia. No entanto, o estudo de Penna *et al.*(2011)⁹⁰ demonstrou que a ancestralidade no Brasil é surpreendentemente mais homogênea do que a estimada anteriormente, com 60-78% de ascendência europeia. Além disso, as regiões Sul e Sudeste do Brasil apresentam maior concentração de ancestralidade europeia, como já discutido em trabalho anterior⁶⁵.

Neste trabalho, optamos por estudar apenas pacientes com ELT causada por EH, porque esta é uma condição bem definida com características clínicas e histopatológicas. Por essa razão, é possível que polimorfismos associados à susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epiléticas em pacientes com EH não sejam encontrados em pacientes com epilepsia

determinada por outras etiologias e vice-versa. Portanto, acreditamos que estudos futuros devem abordar amostras mais homogêneas, considerando sua etiologia. A decisão de selecionar pacientes exclusivamente com ELT-EH teve como objetivo selecionar uma amostra homogênea para comparação, mas também trouxe o desafio de obter uma amostra representativa. A opção pelo estudo de pacientes apenas com ELT-EH também foi um desafio em relação aos dados obtidos na literatura, uma vez que a maioria dos estudos inclui ELT com etiologias distintas. Deve-se salientar, entretanto, que a despeito da tentativa de obter uma amostra homogênea, há a presença de subgrupos dentro de uma mesma etiologia a depender das variáveis clínicas da epilepsia.

Pacientes com epilepsia podem apresentar sintomas afetivos com apresentação clínica distinta (por exemplo, depressão disfórica interictal) que difere dos pacientes com TDM sem epilepsia. Por esta razão, utilizamos uma nova metodologia caracterizada por dois grupos controle - voluntários saudáveis e TDM sem epilepsia. Adotamos esta abordagem para avaliar a presença de um genótipo nos pacientes com epilepsia e depressão em comparação com pacientes com depressão sem epilepsia.

Neste estudo avaliamos um painel restrito de variantes genéticas de interesse; isso não exclui a possibilidade de outras associações em outros *loci*. As técnicas utilizadas na genotipagem dos polimorfismos genéticos são consideradas *gold-standard*.

Polimorfismos dos receptores de 5-HT: Poucos estudos avaliaram a influência de variantes genéticas do gene do receptor 5-HT1A nos pacientes com ELT^{61,65}. Schenkel *et al.* (2012)⁶⁵, investigaram a influência do polimorfismo rs6295 no gene 5HT1A nos pacientes com ELT como transtornos

psiquiátricos coexistentes, em uma amostra heterogênea quanto à etiologia. Os autores não observaram diferenças significativas nas frequências genotípicas entre os pacientes com ELT em relação à presença de comorbidades psiquiátricas. No entanto, os autores demonstraram que a presença do alelo C era um preditor isolado para a ocorrência de transtorno de ansiedade na ELT. Em nosso estudo, corroboramos a falta de associação entre esse polimorfismo com fatores relacionados à epilepsia ⁶¹ e depressão ⁶⁵. Até o momento, com base em nosso estudo, parece não haver influência desse polimorfismo na suscetibilidade à ocorrência de crises epiléticas e TDM em pacientes com ELT-EH.

Em pacientes com ELT-EH incluídos em nosso estudo, o receptor 5HT1B não foi associado à susceptibilidade a crises epiléticas e ao TDM. Stefulj *et al.* (2012)⁶¹ avaliaram a influência do polimorfismo do receptor - 5HT1B rs6296, demonstrando uma maior frequência de alelo G em pacientes com ELT. É plausível que não possamos corroborar esses achados por causa da amostra estudada. Consideramos apenas pacientes com EH, mas não com outras etiologias (ou seja, tumores, gliose), como anteriormente discutido.

Em nosso estudo, o polimorfismo do receptor 5-HT2C rs6318 não foi associado à predisposição à epilepsia e TDM em pacientes com ELT-EH. O mesmo foi previamente demonstrado em pacientes com epilepsia generalizada geneticamente determinada⁶⁷ e ELT ⁶¹.

A discussão a respeito da associação entre os polimorfismos de receptores da 5-HT estudados e a ELT-EH e depressão, bem como da influência desses polimorfismos nas características clínicas da epilepsia se encontra no artigo publicado pelo nosso grupo (Vincentiis *et al.*, 2018)⁹¹.

Polimorfismo da MAOA: Este é o primeiro estudo a avaliar a influência do polimorfismo MAOA-uVNTR nos pacientes com ELT-EH e depressão. Dois estudos anteriores com amostras heterogêneas de pacientes com epilepsia mostraram achados controversos. Haug *et al.*⁹², em um estudo de pacientes com epilepsia geneticamente generalizada (epilepsia mioclônica juvenil, epilepsia ausência da infância e epilepsia ausência juvenil), demonstraram que as frequências dos alelos de alta e baixa atividade transcricional do polimorfismo MAOA-uVNTR eram semelhantes entre pacientes com epilepsia e controles. Na mesma linha, Stefulj *et al.*⁶¹, observaram que variantes genéticas do polimorfismo MAOA-uVNTR também foram distribuídas de maneira semelhante entre pacientes com ELT e controles. Em nosso estudo, também não foi encontrada associação entre o MAOA-uVNTR e a susceptibilidade ao desenvolvimento de crises epiléticas, com e sem depressão, nesse grupo de pacientes. Nesse contexto, até o momento presente, pode-se afirmar que este polimorfismo não tem influência na susceptibilidade a crises epiléticas e TDM em pacientes com ELT-EH.

Esses achados inesperados estão em desacordo com a relevância da MAOA, demonstrada por seu envolvimento em uma síndrome com epilepsia e retardo mental que leva a duplicação⁹³ ou deleção⁹⁴ do Xp11.3, incluindo os genes que codificam a MAOA e MAOB. Isso sugere que esses genes são importantes para o desenvolvimento normal do SNC. Alinhando-se a esses achados, nosso estudo demonstrou que alelos de alta atividade transcricional do polimorfismo MAOA-uVNTR estão associados a maior frequência de crises epiléticas e ocorrência de crises tônico-clônicas bilaterais em pacientes com ELT-EH. Alelos de maior atividade transcricional do polimorfismo MAOA-

uVNTR estão associados a maior expressão do gene da MAOA e a maior atividade enzimática. Dessa maneira, há uma diminuição na concentração da 5-HT por aumento nas taxas de metabolização associada à MAOA. Nosso grupo⁹⁵, em um estudo anterior com tecido humano (hipocampo) dos mesmos pacientes com ELT-EH incluídos neste estudo, também demonstrou associação entre redução da concentração de 5-HT e ocorrência de crises tônico-clônicas bilaterais.

Concluindo, este estudo demonstrou que o polimorfismo MAOA-uVNTR está associado a alguns aspectos que indicam a gravidade da epilepsia, a saber, a frequência das crises e a presença de crises tônico-clônicas bilaterais. A presença de alelos com maior atividade transcricional de MAOA-uVNTR leva a um aumento na expressão e atividade enzimática, como anteriormente discutido. Uma vez que a MAOA está relacionada com a inativação da 5-HT, é plausível que tais diminuições na concentração de 5-HT levem a um aumento na hiperexcitabilidade neuronal e a uma frequência maior de crises epiléticas e crises tônico-clônicas bilaterais neste grupo de pacientes.

Polimorfismos do 5-HTT: O alelo de 10 repetições do polimorfismo 5-HTTVNTR e o alelo S do polimorfismo 5-HTTLPR, a princípio, teria um efeito protetor para a ocorrência das crises epiléticas, uma vez que a função biológica atribuída a esses alelos seria a de apresentarem menor eficiência transcricional e, por sua vez, resultarem em um aumento na concentração de 5-HT. Já a função biológica atribuída aos alelos de 12 repetições do 5-HTTVNTR e o alelo La do 5-HTTLPR, é a de apresentar maior atividade transcricional do gene que codifica o 5-HTT, levando a um aumento da concentração do 5-HTT. O aumento na concentração do 5-HTT leva a aumento

na metabolização da 5-HT, com conseqüente aumento na hiperexcitabilidade neuronal ⁷⁴⁻⁷⁷. No entanto, os estudos sobre a influência dos polimorfismos 5-HTTVNTR e 5-HTTLPR na susceptibilidade ao desenvolvimento das crises epiléticas na ELT demonstraram resultados contraditórios. O estudo de Stefulj *et al.* (2010)⁶¹ não demonstrou associação entre os polimorfismos 5-HTTLPR e 5-HTTVNTR e a susceptibilidade ao desenvolvimento das crises epiléticas nos pacientes com ELT. No trabalho de Che *et al.* (2010)⁹⁶ a frequência do genótipo e do alelo de 12 repetições do 5-HTTVNTR foi maior nos pacientes com ELT do que nos controles. Manna *et al.* (2007)⁶⁹ observaram uma frequência menor do alelo de 10 repetições do 5-HTTVNTR nos pacientes com ELT em comparação a controles saudáveis. Os estudos de Hecimovic *et al.* (2010)⁷⁰ com pacientes com ELT, e de Kauffman *et al.*(2009)⁵³, com pacientes com ELT-EH, embora não tenham demonstrado associação entre a susceptibilidade para o desenvolvimento de crises e o 5-HTTLPR e o 5-HTTVNTR, mostraram que pacientes com ELT e com uma combinação do genótipo homozigoto para o alelo de 12 repetições do 5-HTTVNTR e do alelo L do 5-HTTLPR apresentaram pior controle de crises com fármacos antiepiléticos.

No entanto, contrariando a função biológica atribuída aos alelos de 10 repetições do 5-HTTVNTR e do alelo S do 5-HTTLPR, o estudo de Schenkel *et al.*(2011)⁶⁸ demonstrou uma frequência maior do alelo de 10 repetições do 5-HTTVNTR em combinação com o alelo S do 5-HTTLPR nos pacientes com ELT em comparação aos controles. Esses achados foram corroborados pelo estudo de Li *et al.* (2012)⁷¹, também com pacientes com ELT e controles saudáveis. Embora tais resultados possam parecer surpreendentes, Li *et al.*

(2012)⁷¹ sugerem que esse polimorfismo possa desempenhar papéis distintos em diferentes fases da doença. Segundo estes autores, com o passar do tempo, a redução da concentração do 5-HTT com consequente aumento da concentração de 5-HT leva a um *downregulation* do receptor 5-HT_{1A}, levando a uma anulação do efeito protetor inicial do alelo de 10 repetições do 5-HTTVNTR⁷¹.

Poucos estudos levaram em conta a presença de transtornos psiquiátricos nos pacientes com epilepsia. Lacey *et al.* (2014)⁷⁶, em um estudo envolvendo pacientes com epilepsia (focais e generalizadas) e depressão, não demonstraram associação entre o 5-HTTLPR e a presença de epilepsia e depressão no grupo estudado. Corroborando estes achados, Schenkel *et al.*(2012)⁶⁵ não encontraram associação entre os polimorfismos do 5-HTTLPR e 5-HTTVNTR e a ocorrência de transtornos psiquiátricos nos pacientes com ELT. Alinhando-se a esses estudos, não encontramos associação entre esses polimorfismos e a susceptibilidade ao desenvolvimento das crises epiléticas na ELT-EH e depressão neste grupo de pacientes, sugerindo que esses polimorfismos não estão implicados na susceptibilidade à depressão nos pacientes com ELT-EH.

Corroborando os estudos que demonstraram associação entre o 5-HTTVNTR e as características clínicas da epilepsia^{53,70}, observamos a associação entre o genótipo do alelo de 12 repetições do 5-HTTVNTR e a presença de história familiar da epilepsia nos pacientes com ELT-EH. Uma vez que o alelo de 12 repetições se relaciona a um aumento na produção de RNA mensageiro, levando a aumento da expressão do 5-HTT, como anteriormente discutido, os autores postulam que esse achado sugere a presença de um

subgrupo de pacientes com predisposição familiar para a ocorrência de crises, devido a um estado de hiperexcitabilidade neuronal determinado pela maior expressão do 5-HTT.

Nossos resultados nos permitem concluir que:

1. Não houve associação entre os polimorfismos do gene que codifica o 5-HTT - 5-HTTLPR e 5HTTVNTR - e a ELT-EH com e sem transtorno depressivo;

2. Não houve associação entre o polimorfismo do gene que codifica a MAOA - MAOA-uVNTR - e a ELT-EH com e sem transtorno depressivo;

3. Não houve associação entre os polimorfismos dos genes que codificam os receptores de 5-HT - 5-HT1A (rs6295), 5-HT1B (rs6296) e 5-HT2C(rs6318) - e a ELT-EH com e sem transtorno depressivo;

4. O polimorfismo MAOA-uVNTR esteve associado à maior frequência de crises focais e presença de crises tônico-clônicas bilaterais e o polimorfismo 5-HTTVNTR esteve associado à presença de história familiar para epilepsia;

5. Não houve associação entre um polimorfismo específico para a presença de transtorno depressivo nos pacientes com ELT-EH.

Portanto, não evidenciamos a influência de polimorfismos relacionados à via serotoninérgica e a presença de transtorno depressivo nos pacientes com ELT-EH. Entretanto, observamos a relação entre os polimorfismos MAOA-uVNTR e 5-HTTVNTR com algumas características clínicas da epilepsia.

Neste contexto, os polimorfismos da via serotoninérgica estudados podem não estar associados com a presença de transtorno depressivo nos pacientes com ELT-EH, mas tem influência sobre algumas características clínicas da epilepsia nesse grupo de pacientes.

Referências Bibliográficas

1. Engel J Jr, Williamson P, Wieser HG. Mesial temporal lobe epilepsy. In: Engel J Jr, Pedley TA, eds. *Epilepsy, a comprehensive textbook*. New York: Raven Press, 1997:2417–26.
2. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, Engel J, French J, Glauser TA, Mathern GW, Moshé SL, Nordli D, Plouin P, Scheffer IE. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. 2010;51:676-85.
3. Kanner AM. Epilepsy and mood disorders. *Epilepsia*. 2007; 48:20-2.
4. Kanner AM. Most antidepressant drugs are safe for patients with epilepsy at therapeutic doses: A review of the evidence. *Epilepsy Behav*. 2016;61:282-6.
5. Rocha L, Alonso-Vanegas M, Orozco-Suárez S, Alcantara-González D, Cruzblanca H, Castro E. Do certain signal transduction mechanisms explain the comorbidity of epilepsy and mood disorders? *Epilepsy Behav*. 2014;38,25–31.
6. Kanner AM. Depression in epilepsy: prevalence, clinical semiology, pathogenic mechanisms, and treatment. *Biol Psychiatry*. 2003; 54: 388-98.
7. Nilsson L, Tomson T, Farahmand BY, Diwan V, Persson PG. Cause-specific mortality in epilepsy: a cohort study of more than

- 9,000 patients once hospitalized for epilepsy. *Epilepsia*. 1997; 38:1062-8.
8. Rafnsson V, Olafsson E, Hauser WA, Gudmundsson G. Cause-specific mortality in adults with unprovoked seizures. A population-based incidence cohort study. *Neuroepidemiology*. 2001; 20:232-6.
 9. Kanner AM. Suicidality and epilepsy: a complex relationship that remains misunderstood and underestimated. *Epilepsy Curr*. 2009; 9: 63-6.
 10. Hesdorffer DC, Hauser WA, Annegers JF, Cascino G. Major depression is a risk factor for seizures in older adults. *Ann Neurol*. 2000; 47: 246-9.
 11. Garcia C S. Depression in temporal lobe epilepsy: a review of prevalence, clinical features, and management considerations. *Epilepsy Res.Treat*. 2012,809843.
 12. Torta R, Keller R. Behavioral, psychotic, and anxiety disorders in epilepsy: etiology, clinical features, and therapeutic implications. *Epilepsia*. 1999; 40:S2-20.
 13. Dudra-Jastrzebska M, Andres-Mach MM, Luszczki JJ, Czuczwar SJ. Mood disorders in patients with epilepsy. *Pharmacol Rep*. 2007; 59:369-78.
 14. American Psychiatric Association (APA). (2000). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision*. Washington DC.

15. Robertson MM, Trimble MR, Townsend HR. Phenomenology of depression in epilepsy. *Epilepsia*. 1987; 28:364-72.
16. Cramer JA, Blum D, Reed M, Fanning K; Epilepsy Impact Project Group. The influence of comorbid depression on seizure severity. *Epilepsia*. 2003; 44:1578-84.
17. Hitiris N, Mohanraj R, Norrie J, Sills GJ, Brodie MJ. Predictors of pharmaco-resistant epilepsy. *Epilepsy Res*. 2007; 75:192-6.
18. Kanner AM. Mood disorder and epilepsy: a neurobiologic perspective of their relationship. *Dialogues Clin Neurosci*. 2008; 10: 39-45.
19. Gilliam FG, Barry JJ, Hermann BP, Meador KJ, Vahle V, Kanner AM. Rapid detection of major depression in epilepsy: a multicentre study. *Lancet Neurol*. 2006; 5: 399-405.
20. Mula M, Schmitz B. Depression in epilepsy: mechanisms and therapeutic approach. *Ther Adv Neurol Disord*. 2009; 2:337-44.
21. Guiard BP, Di Giovanni G. Central serotonin-2A (5-HT_{2A}) receptor dysfunction in depression and epilepsy: the missing link? *Front. Pharmacol*. 2015; 6:46.
22. Venzi M, David F, Bellet J, Cavaccini A, Bombardi C, Crunelli V, Di Giovanni G. Role for serotonin_{2A} (5-HT_{2A}) and _{2C} (5-HT_{2C}) receptors in experimental absence seizures. *Neuropharmacology*. 2016; 108:292-304.
23. Giovacchini G, Toczek MT, Bonwetsch R, Bagic A, Lang L, Fraser C, Reeves-Tyer P, Herscovitch P, Eckelman WC, Carson RE, Theodore WH. 5-HT_{1A} receptors are reduced in temporal lobe

- epilepsy after partial-volume correction. *J Nucl Med.* 2005; 46: 1128-35.
24. Lothe A, Didelot A, Hammers A, Costes N, Saoud M, Gilliam F, Ryvlin P. Comorbidity between temporal lobe epilepsy and depression: a [18F] MPPF PET study. *Brain.* 2008; 131:2765-82.
 25. Kanner AM. Epilepsy, suicidal behaviour, and depression: do they share common pathogenic mechanisms? *Lancet Neurol.* 2006; 5:107-8.
 26. Jobe PC. Common pathogenic mechanisms between depression and epilepsy: an experimental perspective. *Epilepsy Behav.* 2003;4:S14-24.
 27. Toczek MT, Carson RE, Lang L, Ma Y, Spanaki MV, Der MG, Fazilat S, Kopylev L, Herscovitch P, Eckelman WC, Theodore WH. PET imaging of 5-HT_{1A} receptor binding in patients with temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 2003; 60: 749-56.
 28. Merlet I, Ostrowsky K, Costes N, Ryvlin P, Isnard J, Faillenot I, Lavenne F, Dufournel D, Le Bars D, Mauguière F. 5-HT_{1A} receptor binding and intracerebral activity in temporal lobe epilepsy: an [18F] MPPF-PET study. *Brain.*;127: 900-13.
 29. Savic I, Lindström P, Gulyás B, Halldin C, Andrée B, Farde L. Limbic reductions of 5-HT_{1A} receptor binding in human temporal lobe epilepsy. *Neurology.* 2004; 62:1343-51.
 30. Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J, Gunn RN, Grasby PM, Cowen PJ. Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission tomography with [11C]

WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment.
Arch Gen Psychiatry. 2000; 57:174-80.

31. Hasler G, Bonwetsch R, Giovacchini G, Toczek MT, Bagic A, Luckenbaugh DA, Drevets WC, Theodore WH. 5-HT_{1A} receptor binding in temporal lobe epilepsy patients with and without major depression. *Biol Psychiatry.* 2007; 62:1258-64.
32. Theodore WH, Giovacchini G, Bonwetsch R, Bagic A, Reeves-Tyer P, Herscovitch P, Carson RE. The effect of antiepileptic drugs on 5-HT-receptor binding measured by positron emission tomography. *Epilepsia.* 2006; 47: 499-503.
33. Jobe PC. Common pathogenic mechanisms between depression and epilepsy: an experimental perspective. *Epilepsy Behav.* 2003;4:S14-24.
34. Przegaliński E, Baran L, Siwanowicz J, Nowak G, Antkiewicz-Michaluk L, Vetulani J. Chronic treatment with the potential antidepressant drug rolipram: the effect on the behavioural responses to adrenergic and dopaminergic receptor agonists with some biochemical correlates. *J Neural Transm.* 1985; 64:211-26.
35. Hiramatsu M, Ogawa K, Kabuto H, Mori A. Reduced uptake and release of 5-hydroxytryptamine and taurine in the cerebral cortex of epileptic EI mice. *Epilepsy Res.* 1987; 1: 40-5.
36. Dailey JW, Mishra PK, Ko KH, Penny JE, Jobe PC. Serotonergic abnormalities in the central nervous system of seizure-naive genetically epilepsy-prone rats. *Life Sci.* 1992; 50: 319-26.

37. Gerber K, Filakovszky J, Halasz P, Bagdy G. The 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT increases the number of spike-wave discharges in a genetic rat model of absence epilepsy. *Brain Res.* 1998; 807: 243-5.
38. Filakovszky J, Gerber K, Bagdy G. A serotonin-1A receptor agonist and an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist oppose each others effects in a genetic rat epilepsy model. *Neurosci Lett.* 1999;261:89-92.
39. Lesch KP, Merschdorf U. Impulsivity, aggression, and serotonin: a molecular psychobiological perspective. *Behav Sci Law.* 2000;18:581-604.
40. Lauder JM. Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers. *Trends Neurosci.* 1993; 16: 233-40.
41. Gould E. Serotonin hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacol* 1999; 21: 46S–51S.
42. Zubieta JK, Alessi NE. Is There a Role of Serotonin in the Disruptive Behavior Disorders? A Literature Review. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 1993;3:11-35.
43. Schwartz JH. Neurotransmitters. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, eds. *Principles of Neural Science*, 4th ed. New York: McGraw-Hill, 2000:280-97.
44. Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphrey PP. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-

- hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev.* 1994; 46:157-203.
45. Barnes NM, Sharp T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology.* 1999; 38:1083-152.
 46. Heils A, Teufel A, Petri S, Stöber G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem.* 1996; 66: 2621-4.
 47. Schwartz JH. Neurotransmitters. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, eds. *Principles of Neural Science*, 4th ed. New York: McGraw-Hill, 2000:280-297.
 48. Brunner HG, Nelen M, Breakefield XO, Ropers HH, van Oost BA. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A. *Science.* 1993; 262: 578-80.
 49. Westlund KN, Krakower TJ, Kwan SW, Abell CW. Intracellular distribution of monoamine oxidase A in selected regions of rat and monkey brain and spinal cord. *Brain Res.* 1993;612:221-30.
 50. Lauder JM. Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers. *Trends Neurosci.* 1993; 16: 233-40.
 51. Brunner HG, Nelen M, Breakefield XO, Ropers HH, van Oost BA. Abnormal behavior associated with a point mutation in the structural gene for monoamine oxidase A. *Science.* 1993; 262: 578-80.

52. Steinlein OK. Gene polymorphisms and their role in epilepsy treatment and prognosis. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2010; 382: 109-18.
53. Kauffman MA, Consalvo D, Gonzalez-Morón D, Aguirre F, D'Alessio L, Kochen S. Serotonin transporter gene variation and refractory mesial temporal epilepsy with hippocampal sclerosis. *Epilepsy Res.* 2009; 85:231-4.
54. Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, Holt D, Greer PJ, Huang Y, Gautier C, Mathis C. PET imaging of serotonin 1A receptor binding in depression. *Biol Psychiatry.* 1999; 46:1375-87.
55. Theodore WH. Does Serotonin Play a Role in Epilepsy? *Epilepsy Curr.* 2003; 3:173-77.
56. Bagdy G, Kecskemeti V, Riba P, Jakus R. Serotonin and epilepsy. *J Neurochem.* 2007; 100:857-73.
57. Wu S, Comings DE. A common C-1018G polymorphism in the human 5-HT_{1A} receptor gene. *Psychiatr Genet.* 1999; 9: 105-6.
58. Czesak, M, Lemonde, S, Peterson, EA, Rogaeva, A, Albert, PR. Cell-specific repressor or enhancer activities of Deaf-1 at a serotonin 1A receptor gene polymorphism. *J. Neurosci.* 2006; 26, 1864-71.
59. Le François, B, Czesak, M, Steubl, D, Albert, PR. Transcriptional regulation at a HTR_{1A} polymorphism associated with mental illness. *Neuropharmacology* 2008; 55, 977-85.
60. Savitz J, Lucki I, Drevets WC. 5-HT (1A) receptor function in major depressive disorder. *Prog Neurobiol.* 2009; 88:17-31.

61. Stefulj J, Bordukalo-Niksic T, Hecimovic H, Demarin V, Jernej B. Epilepsy and serotonin (5HT): variations of 5HT-related genes in temporal lobe epilepsy. *Neurosci Lett*. 2010; 478:29-31.
62. Pernhorst K, van Loo KM, von Lehe M, Priebe L, Cichon S, Herms S, Hoffmann P, Helmstaedter C, Sander T, Schoch S, Becker AJ. Rs6295 promoter variants of the serotonin type 1A receptor are differentially activated by c-Jun in vitro and correlate to transcript levels in human epileptic brain tissue. *Brain Res*. 2013;1499:136-44.
63. Freitag, CM, Domschke, K, Rothe, C, Lee, YJ, Hohoff, C, Gutknecht, L, Sand, P, Fimmers, R, Lesch, KP, Deckert, J. Interaction of serotonergic and noradrenergic gene variants in panic disorder. *Psychiatr. Genet*. 2006; 16, 59-65.
64. Hettema, JM, An SS, van den Oord EJ, Neale MC, Kendler KS, Chen X. Association study between the serotonin 1A receptor (HTR1A) gene and neuroticism, major depression, and anxiety disorders. *Am. J. Med. Genet. B: Neuropsychiatr. Genet*. 2008; 147B, 661-6.
65. Schenkel LC, Bragatti JA, Becker JA, Torres CM, Martin KC, de Souza AC, Manfro GG, Leistner-Segal S, Bianchin MM. Serotonin gene polymorphisms and psychiatry comorbidities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2012; 99:260-6.
66. Huang YY, Grailhe R, Arango V, Hen R, Mann JJ. Relationship of psychopathology to the human serotonin1B genotype and

- receptor binding kinetics in postmortem brain tissue. *Neuropsychopharmacology*. 1999; 21: 238-46.
67. Samochowiec J, Smolka M, Winterer G, Rommelspacher H, Schmidt LG, Sander T. Association analysis between a Cys23Ser substitution polymorphism of the human 5-HT_{2c} receptor gene and neuronal hyperexcitability. *Am J Med Genet*. 1999; 88: 126-30.
68. Schenkel LC, Bragatti JA, Torres CM, Martin KC, Gus-Manfro G, Leistner-Segal S, Bianchin MM. Serotonin transporter gene (5HTT) polymorphisms and temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2011;95:152-7.
69. Manna I, Labate A, Gambardella A, Forabosco P, La Russa A, Le Piane E, Aguglia U, Quattrone A. Serotonin transporter gene (5-Htt): association analysis with temporal lobe epilepsy. *Neurosci Lett*. 2007; 421:52-6.
70. Hecimovic H, Stefulj J, Cicin-Sain L, Demarin V, Jernej B. Association of serotonin transporter promoter (5-HTTLPR) and intron 2 (VNTR-2) polymorphisms with treatment response in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*. 2010; 91:35-8.
71. Li J, Lin H, Zhu X, Li L, Wang X, Sun W, Wu X, Liu A, Niu F, Wang Y, Liu Y. Association study of functional polymorphisms in serotonin transporter gene with temporal lobe epilepsy in Han Chinese population. *Eur J Neurol*. 2012; 19:351-3.

72. Lacey CJ, Salzberg MR, D'Souza WJ. Serotonin transporter gene × environment and risk of depression in community-treated epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2014;39:33-7.
73. Ramamoorthy S, Bauman AL, Moore KR, Han H, Yang-Feng T, Chang AS, Ganapathy V, Blakely RD. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90:2542-6.
74. Heils A, Teufel A, Petri S, Stöber G, Riederer P, Bengel D, Lesch KP. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J Neurochem.* 1996; 66: 2621-4.
75. Hu X, Oroszi G, Chun J, Smith TL, Goldman D, Schuckit MA. An expanded evaluation of the relationship of four alleles to the level of response to alcohol and the alcoholism risk. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 8-16.
76. Lesch KP, Balling U, Gross J, Strauss K, Wolozin BL, Murphy DL, Riederer P. Organization of the human serotonin transporter gene. *J Neural Transm Gen Sect.* 1994; 95:157-62.
77. Lovejoy EA, Scott AC, Fiskerstrand CE, Bubb VJ, Quinn JP. The serotonin transporter intronic VNTR enhancer correlated with a predisposition to affective disorders has distinct regulatory elements within the domain based on the primary DNA sequence of the repeat unit. *Eur J Neurosci.* 2003;17:417-20.
78. Denney RM, Koch H, Craig IW. Association between monoamine oxidase A activity in human male skin fibroblasts and genotype of

- the MAOA promoter-associated variable number tandem repeat. *Hum Genet.* 1999;105:542-51.
79. Newman TK, Syagailo YV, Barr CS, Wendland JR, Champoux M, Graessle M, Suomi SJ, Higley JD, Lesch KP. Monoamine oxidase A gene promoter variation and rearing experience influences aggressive behavior in rhesus monkeys. *Biol Psychiatry.* 2005; 57:167-72.
80. Sabol SZ, Hu S, Hamer D. A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum. Genet.* 1998; 103:273–79.
81. Ferraro TN, Buono RJ .Polygenic epilepsy. *Adv. Neurol.* 2006;97, 389-98.
82. Tan NC, Berkovic SF. The Epilepsy Genetic Association Database (epiGAD): analysis of 165 genetic association studies,1996-2008. *Epilepsia* 2010;51,686-9.
83. Bragatti JA, Bandeira IC, de Carvalho AM, Abujamra AL, Leistner-Segal S, Bianchin MM. Tryptophan hydroxylase 2 (TPH2) gene polymorphisms and psychiatric comorbidities in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2014;32:59-63.
84. Blümcke I, Thom M, Aronica E, Armstrong DD, Bartolomei F, Bernasconi A, Bernasconi N, Bien CG, Cendes F, Coras R, Cross JH, Jacques TS, Kahane P, Mathern GW, Miyata H, Moshé SL, Oz B, Özkara Ç, Perucca E, Sisodiya S, Wiebe S, Spreafico R. International consensus classification of hippocampal sclerosis in

- temporal lobe epilepsy: a task force report from the ILAE Commission on Diagnostic Methods. *Epilepsia* 2013;54:1315–29
85. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Zuberi SM. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 2017;58:522–30.
 86. First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JBW. Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, research version, patient edition (SCID-I/P). New York, NY: Biometrics Research, New York State Psychiatric Institute; 2002.
 87. Laitinen J, Samarut J, Hölttä E. A nontoxic and versatile protein salting-out method for isolation of DNA. *Biotechniques* 1994;17:316, 318, 320-22.
 88. Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington H, Craig IW. Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene X environment interaction. *Biological Psychiatry* 2005; 57, 1117–27.
 89. Wendland JR, Martin BJ, Kruse MR, Lesch KP, Murphy DL. Simultaneous genotyping of four functional loci of human SLC6A4, with a reappraisal of 5-HTTLPR and rs25531. *Molecular Psychiatry* 2006; 11, 224–6.

90. Pena SD, Di Pietro G, Fuchshuber-Moraes M, Genro JP, Hutz MH, Kehdy Fde S, Kohlrausch F, Magno LA, Montenegro RC, Moraes MO, de Moraes ME, de Moraes MR, Ojopi EB, Perini JA, Racciopi C, Ribeiro-Dos-Santos AK, Rios-Santos F, Romano-Silva MA, Sortica VA, Suarez-Kurtz G. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS ONE* 2011;6:e17063.
91. Vincentiis S, Alcantara J, Rzezak P, S Kerr D, F Gattaz W, van der Linden H Jr, Dos Santos B, Melo-Souza SE, Arruda F, Ragazzo P, Chaim-Avancini T, H Serpa M, Fernandes F, Moreno RA, Busatto G, Alessi R, Demarque R, D Valente K. Genetic polymorphisms of the 5HT receptors are not related with depression in temporal lobe epilepsy caused by hippocampal sclerosis. *Epilepsy Behav.* 2018;83:181-5.
92. Haug K, Sander T, Hallmann K, Lentze MJ, Propping P, Elger CE, Heils A. Association analysis between a regulatory-promoter polymorphism of the human monoamine oxidase A gene and idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsy Res.* 2000;39:127-32.
93. Klitten LL, Møller RS, Ravn K, Hjalgrim H, Tommerup N. Duplication of MAOA, MAOB, and NDP in a patient with mental retardation and epilepsy. *Eur J Hum Genet.* 2011;19:1-2.
94. Whibley A, Urquhart J, Dore J, Willatt L, Parkin G, Gaunt L, Black G, Donnai D, Raymond FL. Deletion of MAOA and MAOB in a male patient causes severe developmental delay, intermittent

hypotonia and stereotypical hand movements. *Eur J Hum Genet.* 2010;18:1095-9.

95. da Fonseca NC, Joaquim HP, Talib LL, de Vincentiis S, Gattaz WF, Valente KD. Hippocampal serotonin depletion is related to the presence of generalized tonic-clonic seizures, but not to psychiatric disorders in patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 2015;111:18-25.
96. Che FY, Wei YY, Heng XY, Fu QX, Jiang JZ. Association between serotonin transporter gene polymorphisms and non-lesional temporal lobe epilepsy in a Chinese Han population. *Neural Regen.Res.* 2010; 5,1270-3.