UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
FARMACOLOGIA E TERAPÊUTICA

Thaís Lemos Mendes

ESTUDO *IN SILICO* E *IN VIVO* DA INTERAÇÃO DE GAMA-DECANOLACTONA COM O SISTEMA GABAÉRGICO EM *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Porto Alegre
2025

Thaís Lemos Mendes

ESTUDO *IN SILICO* E *IN VIVO* DA INTERAÇÃO DE GAMA-DECANOLACTONA COM O SISTEMA GABAÉRGICO EM *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Farmacologia e Terapêutica.

Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Pereira

Porto Alegre
2025

Thaís Lemos Mendes

ESTUDO *IN SILICO* E *IN VIVO* DA INTERAÇÃO DE GAMA-DECANOLACTONA COM O SISTEMA GABAÉRGICO EM *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ciências Biológicas: Farmacologia e Terapêutica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Farmacologia e Terapêutica.

Aprovada em: 25 de Setembro de 2025

BANCA EXAMINADORA

Dra. Jaqueline Nascimento Picada - UFRGS

Dr. Régis Adriel Zanette - UFRGS

Dra. Marilise Brittes Rott - UFRGS

Dra. Patrícia Pereira – UFRGS (Orientadora)

Em cada molécula reside a possibilidade de transformar cuidado em ciência. Que o conhecimento siga nos conduzindo a uma prática mais humana, ética e eficaz.

(Inspirado na Encíclica Laudato Si', *Papa Francisco)*

AGRADECIMENTOS

Chegar a este momento significa muito mais do que encerrar uma etapa acadêmica. Representa a soma de sonhos, renúncias, noites em claro, lágrimas escondidas e muitos sorrisos. Cada página desta dissertação carrega não só o peso do esforço científico, mas sobretudo o amor, o apoio e a esperança de tantas pessoas que caminharam comigo.

À minha família, minha base e porto seguro. Mesmo diante de tantas dificuldades, jamais deixaram de me apoiar. Compreenderam cada ausência, cada distância necessária, e mostraram-me que a verdadeira união não se mede pela proximidade física, mas pela intensidade dos laços. Aos meus irmãos, Eduardo Gabriel e Marco Aurélio, que me inspiram com sua presença e me sustentam com o carinho simples e verdadeiro de irmãos que são, para mim, um tesouro.

À minha mãe, Sandra, mulher guerreira, exemplo de coragem, determinação e amor. Nada do que conquistei seria possível sem a tua dedicação. Desde sempre, priorizar a família. Se hoje chego até aqui, é porque me ensinou, com cada gesto e sacrifício, que o estudo é um caminho de liberdade, e que a perseverança pode transformar realidades. Obrigada por não permitir que eu desistisse em nenhum momento, por carregar comigo o peso das minhas inseguranças e, ao mesmo tempo, me devolver sempre a esperança, te amo.

Aos meus colegas, os que seguem firmes e os que já passaram pelo LABNET, registro minha eterna gratidão. Cada conversa, cada ajuda prática, cada risada dividida nos corredores e cada momento de frustração compartilhada fizeram da jornada algo mais leve e humano.

Aos técnicos de laboratório, registro minha imensa gratidão pela paciência, pela generosidade e pelos ensinamentos transmitidos. Cada orientação e cada treinamento oferecido no manuseio dos equipamentos foram essenciais para tornar possível esta pesquisa.

À Escola SEG – São Leopoldo, onde sigo atuando e crescendo como docente, agradeço pela confiança depositada em mim e pela oportunidade de ministrar a disciplina de farmacologia. Este espaço representa não apenas um campo de ensino, mas também de aprendizado constante, que tem contribuído de forma decisiva para minha formação profissional e pessoal.

Aos professores da UFRGS, mesmo que o convívio tenha sido breve em algumas disciplinas, cada um deixou uma contribuição valiosa. Suas lições ultrapassaram o conteúdo acadêmico, transmitindo também ética, resiliência e compromisso com a educação.

E, de forma mais que especial, à minha orientadora, Dra. Patrícia Pereira. Faltam palavras para traduzir a grandeza de minha gratidão. Ingressar em seu laboratório foi um divisor de águas na minha vida. Ali encontrei não apenas ciência, mas também humanidade, ética e inspiração. A cada conselho, a cada orientação precisa, a cada contribuição científica, cresci não só como pesquisadora, mas também como pessoa. Obrigada pelas portas abertas, pelas oportunidades que jamais imaginei viver, pela paciência diante das minhas ansiedades e pelo carinho em cada momento de incerteza. As conversas descontraídas, os risos compartilhados e as lições transmitidas me acompanharão para além desta etapa acadêmica. Ter sido sua orientanda foi uma experiência enriquecedora e inesquecível. Levarei sempre comigo a inspiração de sua força como cientista e a beleza de sua generosidade.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma maneira, contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade. Cada gesto, cada palavra e cada presença representaram apoio fundamental. Esta conquista não é apenas minha é o reflexo da confiança, da colaboração e do carinho de todos que estiveram comigo neste percurso.

RESUMO

A epilepsia é uma condição neurológica crônica caracterizada por descargas elétricas anormais no cérebro, manifestando-se como crises epilépticas recorrentes. Embora existam tratamentos disponíveis, muitos pacientes apresentam resistência às terapias farmacológicas convencionais. Nesse contexto, novos compostos com potenciais efeitos anticonvulsivantes e neuroprotetores vêm sendo amplamente estudados. Gama-decanolactona (GD), é uma lactona com propriedades farmacológicas observadas em estudos prévios, especialmente em modelos murinos. Este estudo teve como objetivo investigar a ação de GD no sistema GABAérgico por meio de ensaios *in silico* e *in vivo*, utilizando o modelo experimental alternativo *Caenorhabditis elegans*. Para a análise *in vitro* foi realizada a predição de alvos moleculares. Perfis de ligação comparativos foram avaliados em alvos *de C. elegans* e humanos para explorar a modulação de alvos do sistema GABAérgica. Na avaliação *in vivo*, foram utilizadas quatro linhagens de *C. elegans*: a linhagem selvagen N2 Bristol e três linhagens mutantes no sistema GABAérgico, CB156 (*unc*-25, gene que codifica a enzima ácido glutâmico descarboxilase), CB307 (*unc*-47, gene que codifica o transportador vesicular de GABA) e CB407 (*unc*-49, gene que codifica o receptor do tipo $GABA_A$). GD foi testada em quatro concentrações, com base na LC_{50} em *C. elegans* (25, 50, 100 e 200 µmol/mL). Na linhagem selvagem foi avaliada a paralisia induzida por pentilenotetrazol (PTZ; 10 mg/ml) e nas linhagens mutantes avaliou-se o comportamento do tipo convulsivo, também induzido por PTZ. Os vermes foram observados em diferentes tempos após a exposição ao PTZ, nos períodos de 24h e 48h de pré-tratamento com GD. A análise estatística foi conduzida com auxílio do software GraphPad Prism®, utilizando-se testes ANOVA e pós-teste de Tukey, considerando-se a significância estatística de $p < 0,05$. Os resultados do ensaio de *docking* de proteínas revelaram que todas as proteínas-alvo, *unc*-25 (descarboxilase do ácido glutâmico), *unc*-47 (transportador vesicular de GABA) e *unc*-49 (subunidade ionotrópica do receptor $GABA_A$), exibiram energias de ligação negativas com GD, indicando interações favoráveis. Entre os alvos de *C. elegans*, GD exibiu afinidades de ligação ligeiramente mais fortes do que o ácido valproico (VPA) em todas as três proteínas, com a interação mais estável sendo observada entre GD e *unc*-25. As afinidades de ligação de GD e VPA foram avaliadas contra seis subunidades do receptor $GABA_A$) humano (α2, α3, α5, β3, γ2), e os resultados sugerem que a GD se liga mais fortemente do que o VPA em todas as subunidades testadas. Os resultados demonstraram que GD reduziu de forma significativa a

paralisia induzida por PTZ na linhagem selvagem e não protegeu contra as linhagens mutantes do comportamento do tipo convulsivo. Tomados em conjunto, os resultados apresentados neste estudo sugerem a interação de GD com alvos moleculares que compõe a sinalização GABAérgica. Este trabalho amplia a compreensão da ação de GD e reforça o uso de *C. elegans* como ferramenta promissora na triagem farmacológica de compostos neuromoduladores.

Palavras-chave: *Caenorhabditis elegans*; epilepsia; gama-decanolactona; GABA; pentilenotetrazol; modelagem molecular; neuroproteção.

ABSTRACT

Epilepsy is a chronic neurological condition characterized by abnormal electrical discharges in the brain, manifesting as recurrent epileptic seizures. Although treatments are available, many patients are resistant to conventional pharmacological therapies. In this context, new compounds with potential anticonvulsants and neuroprotective effects are being widely studied. Gamma-decanolactone (GD) is a lactone with pharmacological properties observed in previous studies, especially in murine models. This study aimed to investigate the action of GD on the GABAergic system through *silico* and *vivo* assays, using the alternative experimental model *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Molecular target prediction was performed for the in vitro analysis. Comparative binding profiles were evaluated on *C. elegans* and human targets to explore the modulation of GABAergic system targets. In the *in vivo* evaluation, four *C. elegans* strains were used: the wild-type N2 Bristol strain and three GABAergic mutant strains, *CB156* (*unc*-25, gene encoding the enzyme glutamic acid decarboxylase), CB307 (*unc*-47, gene encoding the vesicular GABA transporter), and CB407 (*unc*-49, gene encoding the $GABA_A$) receptor). GD was tested at four concentrations, based on the LC_{50} in *C. elegans* (25, 50, 100, and 200 µmol/mL). In the wild-type strain, paralysis induced by pentylenetetrazol (PTZ; 10 mg/mL) was evaluated, and in the mutant strains, seizure-like behavior, also induced by PTZ, was evaluated. Worms were observed at different time points after PTZ exposure, at 24 and 48 h of GD pretreatment. Statistical analysis was conducted using GraphPad Prism® software, using ANOVA and Tukey's post-test, considering a statistical significance of $p < 0.05$. Protein docking assay results revealed that all target proteins, *UNC-25*, *UNC-47*, and *UNC-49*, exhibited negative binding energies with GD, indicating favorable interactions. Among the *C. elegans* targets, GD exhibited slightly stronger binding affinities than valproic acid (VPA) for all three proteins, with the most stable interaction observed between GD and *unc-25.* The binding affinities of GD and VPA against six human $GABA_A$) receptor subunits (α2, α3, α5, β3, γ2) were evaluated, and the results suggest that GD binds more strongly than VPA to all subunits tested. The results demonstrated that GD significantly reduced PTZ-induced paralysis in the wild-type strain and did not protect against seizure-like behavior in the mutant strains. Taking together, the results presented in this study suggest the interaction of GD with molecular targets that comprise GABAergic signaling. This work expands the understanding of GD action and reinforces the use of *C. elegans* as a promising tool in the pharmacological screening of neuromodulatory compounds.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*; epilepsy; gamma-decanolactone; GABA; pentylenetetrazol; molecular modeling; neuroprotection.

LISTA DE ABREVIAÇÕES

Sigla	Descrição
AMPA	Receptor ionotrópico do ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiônico
CAT	Catalase
MIPA	metil-4-isoxazol propiônico
C. elegans	*Caenorhabditis elegans*
CGC	Caenorhabditis Genetics Center
COX-2	Ciclooxigenase-2
DNC	Cordão nervoso dorsal (dorsal nerve cord)
EEG	Eletroencefalografia
E. coli	*Escherichia coli*
FLP	*FMRFamide-Like Peptides (peptídeos semelhantes à FMRFamida; neuropeptídeos moduladores presentes em Caenorhabditis elegans)*
GABA	Ácido gama-aminobutírico
$GABA_A$	Receptor do tipo A para GABA (canal de Cl^-)
GAD	Glutamato descarboxilase (enzima que sintetiza GABA)
GD	Gama-decanolactona (γ-decanolactona)
GluN2B	Subunidade 2B do receptor NMDA
IL-1β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
ILAE	Liga Internacional contra a Epilepsia (International League Against Epilepsy)
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
K^+	Íon potássio
Na^+	Íon sódio
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NGM	Meio de crescimento de nematoides (Nematode Growth Medium)
NMDA	Receptor ionotrópico N-metil-D-aspartato
PTZ	Pentilenotetrazol

PVD	*Posterior Ventral Dendritic neuron* (neurônio sensorial multimodal com arborizações complexas em *C. elegans*)
RM	Ressonância magnética
RME	Neurônios motores da cabeça de *C. elegans*
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SNC	Sistema nervoso central
SNF	Sistema nervoso faríngeo
SNS	Sistema nervoso somático
SOD	Superóxido dismutase
SV2A	Proteína sináptica vesicular 2A
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
VGAT	Transportador vesicular de GABA (produto de *unc-47*)
VNC	Cordão nervoso ventral (*ventral nerve cord*)
VPA	Ácido valproico
WT	*Wild type* (linhagem selvagem, N2 Bristol)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular de gama-decanolactona.....18

Figura 2 – Ciclo de vida e reprodutivo de *Caenorhabditis elegans*.....25

Figura 3 - Estrutura neuronal e organização do sistema nervoso somático de *Caenorhabditis elegans*.....*27*

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características químicas de gama-decanolactona (GD).....18

Tabela 2 – Características do sistema GABAérgico em *Caenorhabditis elegans* **(linhagem N2 e mutantes)**.....29

APRESENTAÇÃO

Este trabalho foi elaborado com o propósito de investigar aspectos farmacológicos e neurobiológicos relacionados à ação da gama-decalactona no modelo experimental de *Caenorhabditis elegans*, com ênfase nos mecanismos de excitabilidade neuronal e nos estudos *in silico*.
A dissertação está organizada em seções que abordam progressivamente os fundamentos teóricos e os procedimentos adotados. Inicialmente, são apresentados os conceitos de epilepsia, epileptogênese e a utilização de *C. elegans* como modelo de estudo. Em seguida, são detalhados os objetivos gerais e específicos que orientaram a pesquisa.

O artigo científico decorrente deste estudo, que contempla a metodologia, os resultados obtidos e a discussão dos achados, foi submetido para publicação em periódico científico e, portanto, não integra a versão disponibilizada no repositório institucional. Assim, a versão depositada apresenta a sequência das demais seções da dissertação, incluindo a discussão ampliada, as considerações finais e, quando pertinentes, os apêndices e anexos com informações complementares e dados de apoio.

SUMÁRIO

1. **INTRODUÇÃO**..... 17

1.1 **Gama-Decanolactona**.....17

1.2 **Epilepsia**.....19

1.3 **Epileptogênese**.....21

1.4 ***Caenorhabditis elegans***.....24

1.5. **Estrutura Neuronal de *Caenorhabditis elegans***.....25

1.6. **Linhagens e Correlação com o Sistema Nervoso**.....28

1.6. 1 **Linhagem selvagem N2** 28

1.6. 2 **Mutante unc-25** 28

1.6. 3 **Mutante unc-47** 29

1.6. 4 **Mutante unc-49** 29

1.7. **Estudos *In Silico***.....30

2. **Objetivos**.....31

2.1 **Objetivo Geral**.....31

2.2 **Objetivos Específicos**.....31

3. **Artigo científico**.....32

4. **Discussão**.....60

5. **Considerações finais**.....64

6. **Referências bibliográficas**.....65

1. INTRODUÇÃO

1.1 Gama-Decanolactona

Gama-decanolactona (γ-decanolactona, GD) é uma lactona alifática cíclica de cadeia média, derivada de ácidos graxos saturados (Figura 1; tabela 1). Tradicionalmente é utilizada como flavorizante devido ao aroma adocicado. GD tem despertado interesse científico em razão de suas propriedades bioativas no sistema nervoso central (Souza et al., 1997). Embora não seja estruturalmente classificada como um monoterpeno, sua elevada lipofilicidade e volatilidade favorecem a comparação funcional com compostos dessa classe, conhecidos por sua ação em receptores GABAérgicos, na modulação da neurotransmissão glutamatérgica e em processos oxidativos e inflamatórios (Manayi et al., 2016; Sá et al., 2013).

Os primeiros estudos experimentais com GD demonstraram efeitos anticonvulsivantes, hipnóticos e hipotérmicos em roedores submetidos a modelos de crises convulsivas agudas, sugerindo uma atividade depressora do sistema nervoso central (Souza et al., 1997). Em análises neuroquímicas, observou-se que GD atua como antagonista não competitivo de receptores de glutamato de córtex cerebrais de ratos, indicando uma possível interferência direta em receptores excitatórios como um de seus mecanismos anticonvulsivantes (Pereira et al., 1997). Avanços posteriores confirmaram que, em modelo de *kindling* induzido por pentilenotetrazol (PTZ), a administração de GD reduziu a frequência e a severidade de crises, além de proteger contra danos genotóxicos em neurônios hipocampais (Oliveira et al., 2008). Em modelos agudos e crônicos, também foi descrita a participação dos receptores de adenosina A1 e da subunidade GluN2B do receptor NMDA, associada à redução da expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2), reforçando a atuação da GD sobre mecanismos excitatórios e inflamatórios (Pflüger et al., 2020; Santos et al., 2021).

O perfil farmacológico de GD inclui ainda propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Em microglia N9 ativada por lipopolissacarídeo, GD reduziu a produção de óxido nítrico induzido (iNOS) e de TNF-α, confirmando seu efeito imunomodulador (Pflüger et al., 2016). Em modelos animais, verificou-se aumento da atividade de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), além da redução de espécies reativas de oxigênio (ROS) e da proteção contra danos nucleares em neurônios hipocampais (Pflüger et al., 2018; Santos et al., 2021). Esses achados demonstram que a GD exerce ação integrada sobre processos

de excitabilidade neuronal, estresse oxidativo e inflamação, pontos cruciais na fisiopatologia das epilepsias (Fonsêca et al., 2019).

Mais recentemente, GD foi avaliada em contextos fisiopatológicos, além da epilepsia. Em modelo experimental de Parkinson, apresentou melhora de parâmetros comportamentais e bioquímicos relacionados à neuroinflamação e ao estresse oxidativo, sugerindo um potencial terapêutico também em doenças neurodegenerativas (Pflüger et al., 2021). Adicionalmente, no modelo invertebrado de *C. elegans*, GD aumentou a resistência ao estresse oxidativo, melhorou a locomoção e a sobrevivência dos vermes, além de reduzir outros parâmetros de toxicidade (Campos et al., 2025).

Diante do exposto, considera-se que GD apresenta um bom perfil neuroprotetor e uma baixa toxicidade. Porém, os mecanismos de ação que correspondem às atividades farmacológicas observadas até o momento (anticonvulsivantes, antioxidantes, anti-inflamatórias) não foram elucidados. A ação de GD abrange a modulação de receptores excitatórios (glutamatérgicos), neuromodulatórios (adenosina A1), potenciais interações indiretas com receptores $GABA_A$, além da inibição de vias inflamatórias e da elevação da resistência ao estresse oxidativo. Apesar de tais evidências, permanecem lacunas sobre a caracterização farmacológica de GD, o que justifica a realização do presente estudo.

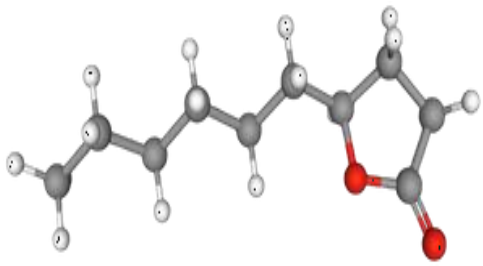


Figura 1 – Estrutura molecular de gama-decanolactona (GD). Estrutura tridimensional da γ-decalactona obtida do banco de dados PubChem (NCBI, 2025).
Fonte: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gamma-Decalactone

Tabela 1. Características químicas da gama-decanolactona, uma lactona alifática de cadeia média, composta por um anel oxolânico de cinco membros e uma cadeia lateral *n*-hexila, com fórmula molecular $C_{10}H_{18}O_2$.

Propriedade	**Descrição**
Nome comum	Gama-decanolactona
Nome IUPAC	5-Hexiloxolan-2-ona
Fórmula molecular	$C_{10}H_{18}O_2$
Peso molecular	170,25 g/mol

SMILES	C1CC(CCCCCC)CO1
Estrutura química	Lactona alifática de cinco membros com cadeia n-hexila
Classificação funcional	Lactona γ-alifática;
Origem	Presente em óleos essenciais de *Aeollanthus suaveolens*
Uso tradicional	Flavorizante alimentício, devido ao aroma adocicado/frutado
Propriedades farmacológicas	Anticonvulsivante, antioxidante, anti-inflamatória, neuroprotetora

PUBCHEM. Compound Summary for CID 12813– Gamma-Decalactone. National Center for Biotechnology Information. Disponível em https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12813

1.2. Epilepsia

A epilepsia é uma condição neurológica crônica caracterizada por predisposição a crises epilépticas recorrentes, com consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais, ao passo que a crise epiléptica é um evento paroxístico isolado, nem sempre suficiente para o diagnóstico de epilepsia sem avaliação do risco de recorrência e de outros elementos clínicos e complementares (Fisher et al., 2017; Falco-walter, 2020). Em magnitude global, a prevalência situa-se em torno de 1 por cento, com, no mínimo, 70 milhões de pessoas afetadas (Vezzani et al., 2016).

No plano populacional, estudo de base nacional estimou prevalência de 697 por 100.000 habitantes, com variação por idade e contexto assistencial; crianças e idosos concentram maior risco e, no envelhecimento, causas estruturais e vasculares são proeminentes, o que condiciona escolhas terapêuticas e vigilância para polifarmácia (Christensen et al., 2024; Tanaka et al., 2013; Liu et al., 2016). A literatura em saúde pública documenta barreiras diagnósticas e terapêuticas em países de menor renda, com repercussões em qualidade de vida e custos, reforçando a necessidade de redes assistenciais e implementação de políticas (Chen, 2023).

A classificação proposta pela ILAE em 2017 organiza o diagnóstico por início da crise, focal, parcial na primeira menção, generalizada ou desconhecido, por caracterização clínica e eletroencefalográfica e por etiologia, estrutural, genética, infecciosa, metabólica, imune ou desconhecida, estrutura operacional que melhora a precisão diagnóstica e orienta o tratamento (Fisher et al., 2017; Falco-walter et al., 2018). O manual de aplicação padroniza a terminologia e exemplifica a rotulagem das crises em diferentes contextos assistenciais (Fisher et al., 2017). No processo diagnóstico, história clínica e eletroencefalografia se articulam à ressonância magnética

e, quando indicado, à avaliação neuropsicológica; em epilepsia do lobo temporal sem lesão visível, a espectroscopia com quantificação de ácido gama-aminobutírico mostrou utilidade para lateralização e monitoramento farmacodinâmico (Wu et al., 2023).

As manifestações clínicas das epilepsias variam conforme idade, etiologia e topografia. Em crianças, destacam-se síndromes com crises generalizadas típicas; em adultos e idosos, predominam crises de início focal, com ou sem alteração de consciência, frequentemente com semiologia sutil que demanda anamnese dirigida e correlação eletrofisiológica (Fisher et al., 2017; Tanaka et al., 2013). Em epilepsia do lobo temporal, déficits de memória e atenção associam-se a alterações regionais do ácido gama-aminobutírico (GABA), o que orienta decisões terapêuticas e estratégias de reabilitação (He et al., 2021).

Os impactos sociais incluem estigma, restrições educacionais e profissionais e dificuldades de inserção social, quadro mais grave onde a lacuna de tratamento é ampla; diretrizes nacionais organizam fluxos diagnósticos e terapêuticos no sistema público e sustentam a educação em epilepsia como política de cuidado (Chen, 2023; Brasil, 2018). Comorbidades psiquiátricas, como depressão e ansiedade, afetam adesão e desfechos e devem ser rastreadas; doenças neurodegenerativas adicionam complexidade terapêutica em idosos, exigindo fármacos com menor custo cognitivo, enquanto infecções e inflamação do sistema nervoso central são determinantes relevantes de risco e evolução clínica (Neri et al., 2022; Vezzani et al., 2016).

O tratamento farmacológico é escalonado, com preferência por monoterapia e progressão a combinações racionais, abarcando fármacos que modulam canais de sódio e cálcio, receptores glutamatérgicos e vias inibitórias do GABA, conforme fundamentos farmacológicos e diretrizes nacionais (Czapiński et al., 2005; Brasil, 2018). Em epilepsia focal resistente, o cenobamato, como adjuvante, reduziu de forma clinicamente relevante a frequência de crises em ensaio controlado, respaldando seu uso após falha de múltiplos agentes; a leitura crítica deve considerar determinantes de resposta no braço placebo para evitar superestimação de efeito (Chung et al., 2020; Kerr et al., 2025). Há desenvolvimento clínico de moduladores inibitórios, inclusive direcionados a subtipos de receptores e neuroesteroide, com foco em farmacorresistência (Perucca et al., 2023). Quando a farmacoterapia não é suficiente, avaliação para cirurgia e para adjuvantes não farmacológicos, como dieta cetogênica, estimulação do nervo vago e estimulação cerebral profunda, torna-se prioritária; centros especializados alcançam bons resultados em epilepsia do lobo temporal e em lesões ressecáveis, embora o acesso global ainda seja desigual (Enslin et al., 2025; Brasil, 2018).

Em síntese, a epilepsia apresenta alta prevalência e heterogeneidade clínica e requer classificação uniforme, diagnóstico multimodal e estratégias terapêuticas escalonadas, com

incorporação de novas opções farmacológicas, cirúrgicas e de neuromodulação e com políticas para reduzir estigma e ampliar acesso; persistem prioridades na padronização de biomarcadores, na mitigação de vieses em ensaios e na expansão de centros especializados, com impacto direto em desfechos e qualidade de vida (Fisher et al., 2017; Christensen et al., 2024; Chung et al., 2020; Chen,2023).

1.3. Epileptogênese

A epileptogênese é definida como um processo progressivo de transformação do tecido neuronal em que um insulto inicial precipita alterações moleculares, celulares e de rede que, ao longo de um período pré-ictal, culminam em circuitos pró-epileptogênicos com geração autônoma de crises, enquadramento conceitual que orienta a distinção entre gatilho, janela de progressão e estabelecimento crônico (Berger et al., 2022). Essa moldura orienta a análise subsequente, permitindo que cada mecanismo seja conectado ao gradiente molecular, celular e de rede, sem reexplicações extensivas do arcabouço inicial (Reddy et al., 2024).

No domínio dos eventos precipitantes, trauma cranioencefálico, hipóxia e crises prolongadas deflagram cascatas de sinalização que incrementam suscetibilidade excitatória e reorganizam o microambiente, produzindo uma janela de transição com elevada plasticidade patológica (Gao et al., 2023). A disfunção transitória da barreira hematoencefálica é documentada por imagem molecular longitudinal, com aumento de permeabilidade e de efluxo em regiões em transformação, marcador útil para delimitar janelas de intervenção no período pré-ictal (Martin et al., 2025). Em paralelo, vias neuroinflamatórias são ativadas precocemente, conectando agressão inicial a modulação glial e a ajustes de excitabilidade que preparam o terreno para sincronização subsequente em redes vulneráveis (Li et al., 2023).

Em nível molecular, a transmissão glutamatérgica apresenta plasticidade patológica, em que a dinâmica de receptores AMPA de superfície regula ganho sináptico e se associa a padrões oscilatórios pró-crise em registros humanos, conectando diretamente reorganização sináptica ao avanço do percurso epileptogênico (Eiro et al., 2023). Na dimensão NMDA, a redução de GluN2A retarda maturação sináptica e potencializa a vulnerabilidade a sobrecarga excitatória, efeito que reforça a instauração de circuitos excitatórios dominantes ainda no período pré-ictal (Acutain et al., 2023). No polo inibitório, a modulação GABAérgica sofre reconfiguração espaço-temporal, com alterações de interneurônios e de receptores $GABA_A$ que favorecem acoplamento patológico de microcircuitos, convertendo oscilações locais em descargas coordenadas de maior escala (Avoli et al., 2022). A heterogeneidade fenotípica associada a variantes de subunidades

$GABA_A$ explica diferenças de limiar e de sensibilidade de rede, acrescentando um gradiente genético à modulação inibitória nesse intervalo de transformação (Absalom et al., 2023).

Os canais iônicos modulam a excitabilidade intrínseca e a condução, estruturando níveis adicionais do eixo molecular. Em canais de cálcio dependentes de voltagem, subunidades específicas governam liberação de neurotransmissores e plasticidade, possibilitando intervenções de precisão ancoradas em assinaturas eletrofisiológicas antes da eclosão de crises (Lauerer et al., 2023). Em canais de sódio, perfis de ganho ou perda de função mapeiam genótipo a padrões de disparo e de propagação, criando oportunidades para correspondência variante-fenótipo-alvo na prevenção dirigida por mecanismo (Rusina et al., 2023). Em redes humanas in vitro, variantes em SCN2A exibem assinaturas de excitabilidade e de resposta a fármacos no período pré-ictal, permitindo triagem de intervenções que reduzam suscetibilidade de rede antes da instalação do estado crônico (Jih et al., 2024). O eixo potássio contribui para estabilização de limiar, de modo que disfunções em canais K^+ ajustam a persistência de descargas e a robustez do acoplamento, compondo camada adicional do mosaico iônico da transformação pró-epileptogênica (Zhao et al., 2024b).

A neuroinflamação opera como mecanismo transversal que, em conjunto com estresse oxidativo, rebaixa limiares e distorce a homeostase sináptica. A ativação de micróglia e astrócitos, com liberação de citocinas como IL-1β, TNF-α e IL-6, resulta na redução do limiar de disparo e na amplificação do ganho excitatório, compondo um microambiente que potencializa a vulnerabilidade sináptica (Khaboshan et al., 2022). O acoplamento cálcio-ferro intensifica dano mitocondrial e compromete a integridade sináptica, incrementando suscetibilidade excitotóxica e perpetuando hiperexcitabilidade intrínseca ao longo do percurso pré-ictal (Li et al., 2025).

A remodelação sináptica implica aumento de ganho excitatório por reconfiguração de espinhas dendríticas e por brotação axonal, especialmente em circuitos hipocampais, favorecendo a consolidação de circuitos pró-epileptogênicos sem reintroduzir a definição geral do processo (Jean et al., 2023). Em paralelo, a proteostase regula dobramento, tráfego e estabilidade de proteínas críticas da excitabilidade, de modo que chaperonas moleculares condicionam a manutenção de receptores e canais e, por consequência, o tônus excitatório durante a transição para padrões de disparo mais estáveis (Davletshin et al., 2023).

A sincronização patológica emerge da convergência entre incremento glutamatérgico, modulação inibitória em transformação e canalopatias, com acoplamento de microcircuitos locais a projeções de longa distância envolvendo hipocampo, córtex entorrinal e tálamo, padrão que integra os níveis molecular e celular descritos anteriormente (Avoli et al., 2022). Em paradigmas de kindling, estímulos subconvulsivantes repetidos induzem redução progressiva do limiar

convulsivo e generalização, fornecendo métricas de latência e severidade adequadas para avaliar intervenções com potencial modificador da epileptogênese (Reddy et al., 2024). No modelo químico por PTZ, a sensibilização sucessiva estabelece um estado com crises espontâneas, validando plataforma para ensaios preventivos que combinem modulação de excitabilidade, contenção inflamatória e ajuste de plasticidade (Singh et al., 2021).

Em ponte com a fenotipagem experimental, perfis metabólicos hipocampais no modelo de pilocarpina evidenciam reprogramação bioenergética no período pré-ictal, reforçando a utilidade de marcadores metabólicos para monitorar o percurso e selecionar janelas terapêuticas de maior impacto (Meier et al., 2023). Em sistemas de maior rendimento, preparações com *C. elegans* preservam sensibilidade farmacológica e permitem triagens rápidas de alvos, embora exijam validação em mamíferos para inferência robusta sobre epileptogênese, papel que as torna complementares na etapa inicial de descoberta (Risley et al., 2016).

No âmbito de biomarcadores, perfis moleculares no líquido cefalorraquidiano, com proteínas inflamatórias e sinápticas, exibem potencial de sinalizar trajetórias pró-epileptogênicas, oferecendo monitoramento acessório ao eixo de imagem e de eletrofisiologia (Zhao et al., 2024a). Em imagem, a tomografia por emissão de pósitrons quantifica disfunção metabólica, neuroinflamação, permeabilidade de barreira e perda de SV2A ao longo do período pré-ictal, permitindo rastreio de progressão e avaliação de resposta antiepileptogênica com sensibilidade temporal (Martin et al., 2025). Em complemento, o mapeamento quantitativo de suscetibilidade por ressonância magnética detecta acúmulo de ferro em focos específicos, marcador coerente com o eixo cálcio-ferro descrito e com o papel do estresse oxidativo na consolidação de circuitos pró-epileptogênicos (Zhang et al., 2024).

As estratégias experimentais antiepileptogênicas organizam-se, de um lado, em abordagens que visam neuroinflamação e epigenética no período pré-ictal, e, de outro, em abordagens de precisão ancoradas em variantes e assinaturas de rede, com ênfase em canais de cálcio, sódio e potássio enquanto mediadores nodais da excitabilidade (Lauerer et al., 2023). A restauração da homeostase de glutamato após trauma fornece racional preventivo imediato e pode ser articulada a moduladores de permeabilidade de barreira e de inflamação nos primeiros dias, conectando fisiopatologia e intervenção com alinhamento de janela terapêutica (Gao et al., 2023). Em horizonte translacional, terapia gênica e modulação de expressão ampliam possibilidades de interromper a progressão, amparadas por plataformas celulares humanas e por métricas de rede que capturam a evolução antes da manifestação espontânea de crises (Walker, 2025).

Em síntese, a integração dos níveis de análise indica que mecanismos moleculares, como plasticidade glutamatérgica, modulação GABAérgica e canalopatias, confluem com

neuroinflamação, estresse oxidativo e proteostase alterada para produzir, no nível celular, aumento de ganho excitatório e perda de travas inibitórias, o que, em rede, favorece sincronização com acoplamento de longa distância e expressão fenotípica ictal, cenário no qual modelos de kindling e pentilenotetrazol, biomarcadores de líquido cefalorraquidiano e de imagem e plataformas celulares humanas sustentam o desenho de intervenções com potencial de modificação do curso no período pré-ictal, sem necessidade de reintroduzir a definição geral previamente estabelecida (Eiro et al., 2023; Avoli et al., 2022; Li et al., 2025).

1.4. *Caenorhabditis elegans*

C. elegans é um nematódeo de vida livre e de hábitos saprófitos, amplamente empregado como organismo modelo nos campos da neurobiologia, farmacologia experimental e biologia do desenvolvimento. Os adultos medem cerca de 1 mm, são ectotérmicos e não representam risco patogênico para seres humanos. Na natureza, ocorrem em solos úmidos e em matéria vegetal em decomposição, ambientes que favorecem o acesso à sua dieta primária, composta por microrganismos, sobretudo bactérias da microbiota ambiental (Wang,et al., 2024). O ciclo reprodutivo de *C. elegans* é caracterizado pela predominância de hermafroditas autofecundantes, capazes de produzir tanto gametas masculinos quanto femininos (Figura 2). Durante a última transição larval (L4) ocorre a diferenciação dos espermatozoides, seguida pela produção de ovócitos quando o animal atinge a fase adulta. Esse arranjo permite a manutenção estável da população por autofecundação, resultando em uma média de 300 descendentes por indivíduo. Em condições de acasalamento com machos, que surgem de forma espontânea em baixa frequência populacional (0,1 a 0,2%), a progênie pode ultrapassar 1000 indivíduos (WormBook, 2005).

A reprodução do *C. elegans* tem início cerca de 12 horas após a última muda larval, com a postura de ovos concentrada nos primeiros dias da vida adulta. O declínio da fertilidade está associado ao envelhecimento da linhagem germinativa, que impacta a qualidade oocitária e reduz a viabilidade embrionária (Scharf et al., 2021).

Sob uma perspectiva evolutiva, *C. elegans* apresenta um sistema androdioico incomum entre metazoários. A predominância de hermafroditas, associada à ocorrência esporádica de machos férteis, permite tanto a manutenção do genótipo parental por autofecundação quanto a introdução de variabilidade genética por cruzamento. Essa configuração favorece o equilíbrio entre estabilidade e adaptabilidade populacional, reforçando o valor do organismo como modelo para investigar estratégias reprodutivas e plasticidade evolutiva (Braendle et al., 2024). Assim, o ciclo reprodutivo de *C. elegans* representa não apenas um recurso de alta eficiência experimental, mas também um paradigma para compreender os mecanismos celulares e moleculares que sustentam a reprodução e o envelhecimento.

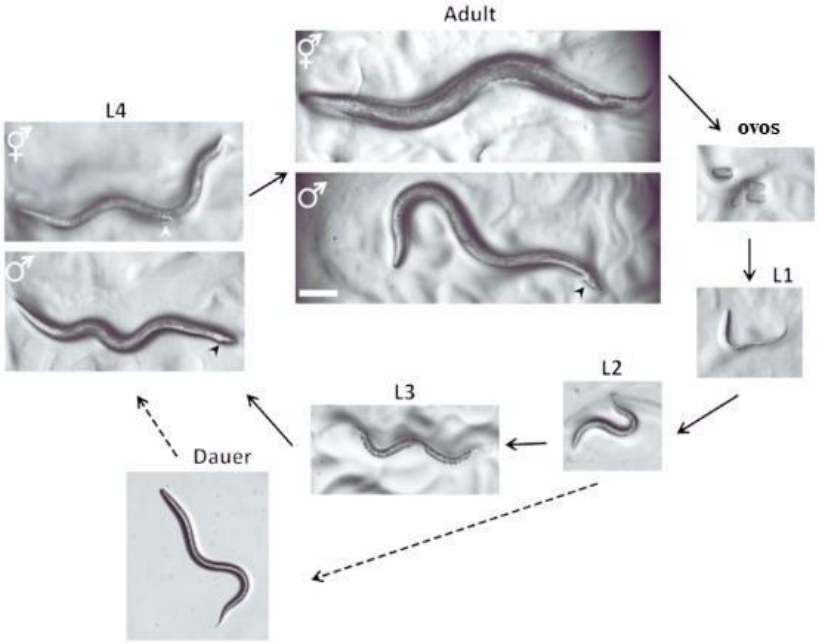


Figura 2: Ciclo de vida e reprodutivo de *Caenorhabditis elegans*. Adaptado de Corsi et al. (2015).

O ciclo de desenvolvimento do *C. elegans* inicia a partir da eclosão do embrião, que progride sequencialmente pelos quatro estágios larvais (L1–L4) até alcançar a fase adulta. Em condições ambientais favoráveis, os indivíduos completam o desenvolvimento em aproximadamente três dias a 20 °C. Durante o estágio L4 ocorre a diferenciação sexual, originando hermafroditas autofecundantes e, em menor proporção, machos. Os adultos iniciam a reprodução cerca de 12 horas após a última muda, com intensa postura de ovos nos primeiros dias da vida adulta. Em situações de estresse nutricional ou densidade populacional elevada, a espécie pode adotar o estágio alternativo de Dauer, caracterizado por metabolismo reduzido e maior resistência ambiental, retomando o desenvolvimento quando as condições voltam a ser adequadas (WormBook, 2005).

1.5. Estrutura Neuronal de *Caenorhabditis elegans*

O sistema nervoso de *C. elegans* foi bem caracterizado, constituindo-se por 302 neurônios no adulto hermafrodita e 385 no macho. Essa organização é altamente invariante, o que permitiu o mapeamento integral da conectividade sináptica (White et al., 1986). Apesar da relativa simplicidade estrutural quando comparado a organismos superiores, apresenta complexidade funcional capaz de sustentar comportamentos locomotores, reprodutivos e sensoriais de elevada sofisticação.

A maioria dos neurônios possui apenas um ou dois prolongamentos neuríticos pouco ramificados, nos quais se formam sinapses do tipo *en passant* (lado a lado, os neuritos passam

um pelo outro). Essa disposição anatômica garante transmissão sináptica eficiente em circuitos compactos (Varshney et al., 2011). Determinados neurônios, como posterior ventral dendriten (PVD) e Filiform Labial Papillae (FLP), exibem arborizações mais complexas e atuam como sensores multimodais, integrando estímulos táteis e térmicos. A formação dessas ramificações está associada à regulação de moléculas de superfície celular e à dinâmica do citoesqueleto, o que confere especificidade e plasticidade às conexões (Jin e Kim, 2020).

O sistema nervoso do *C. elegans* não é organizado em divisões centrais e periféricas, como ocorre em vertebrados, mas é compartimentalizado em duas unidades funcionais: o sistema nervoso faríngeo (SNF) e o sistema nervoso somático (SNS). O SNF é formado por 20 neurônios localizados nos bulbos anterior e posterior da faringe, relacionados ao controle da ingestão alimentar. O SNS, por sua vez, é composto pelos 282 neurônios restantes, responsáveis pelas funções sensoriais e motoras do organismo (Altun e Hall, 2011).

No SNS, os corpos celulares estão agrupados em gânglios localizados principalmente na cabeça e na cauda. Na região cefálica, esses gânglios circundam a faringe e formam o anel nervoso, principal centro integrador da atividade neuronal. Já na região caudal, os gânglios se organizam no neurópilo. Os prolongamentos axonais desses neurônios constituem feixes longitudinais, conhecidos como cordões nervosos ventral e dorsal, que atuam como centros fundamentais de processamento de informações e de geração de sinapses interneuronais (Byrd, 2021). Uma pequena fração de neurônios somáticos não está nesses agrupamentos, permanecendo isolados ou distribuídos em pequenos gânglios laterais ao longo do corpo do verme.

A neurotransmissão em *C. elegans* ocorre por meio de aproximadamente 6.400 sinapses químicas, 900 junções comunicantes e 1.500 junções neuromusculares (Altun e Hall, 2011). Além disso, há modulação neuroendócrina realizada por determinados neurônios através da liberação de neuropeptídeos (Li e Kim, 2008). O sistema nervoso do nematoide apresenta características peculiares em relação a vertebrados. Os neurônios não são mielinizados, apresentam elevada resistência de membrana e não geram potenciais de ação dependentes de sódio, uma vez que não possuem genes codificadores para canais de sódio voltagem-dependentes (Goodman et al., 1998; Bargmann, 1998). Suas conexões sinápticas são formadas de modo lateral, do tipo *en passant*, em contraste com os terminais sinápticos do tipo botão encontrados em vertebrados. Outra particularidade está nas junções neuromusculares: ao invés dos neurônios projetarem prolongamentos diretamente para os músculos, são as fibras musculares que se estendem em direção aos neurônios para receber estímulos (White et al., 1986).

Além dos neurônios, o SNS conta com células de suporte. A glia desse organismo é formada

por 56 células, das quais 50 são derivadas do ectoderma (células da bainha e do soquete anfidiais) e seis derivam do mesoderma, conhecidas como células gliais semelhantes do anel nervoso (Zhang e Yan, 2022). A relação glia-neurônio em *C. elegans* é distinta daquela observada em outros metazoários, pois os neurônios podem sobreviver *in vivo* mesmo na ausência de suporte trófico da glia (Bacaj et al., 2008; Yoshimura et al., 2008). Apesar disso, evidências apontam que essas células têm papel fundamental no desenvolvimento, manutenção e estabilidade sináptica (Stout, Verkhratsky e Parpura, 2014).

Dessa forma, o sistema nervoso somático de *C. elegans* evidencia uma arquitetura simples em número celular, mas altamente especializada na sua organização estrutural e nos mecanismos de transmissão sináptica, configurando-se como um modelo de grande valor para compreender princípios gerais da neurobiologia.

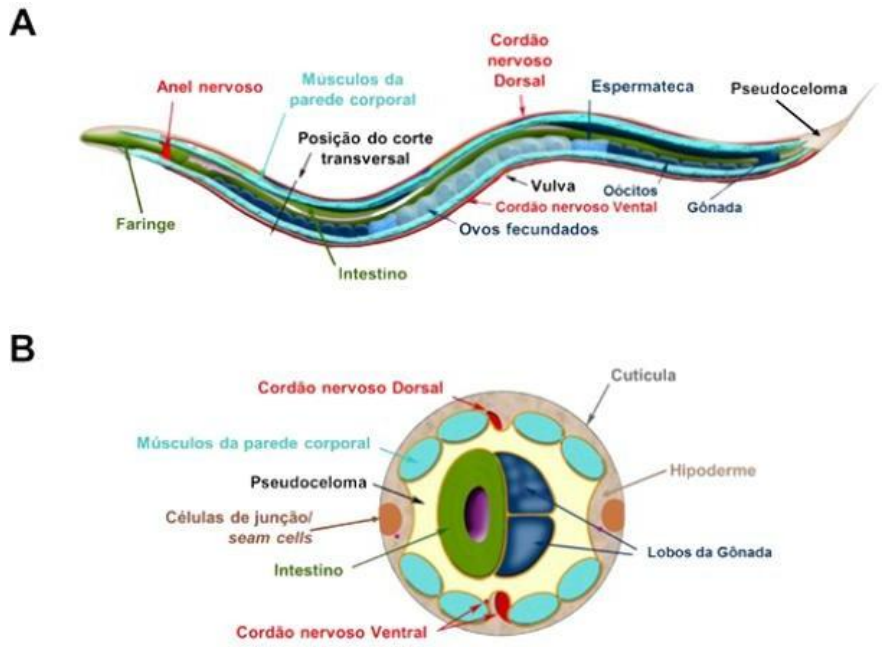


Figura 3 – Estrutura neuronal e organização do sistema nervoso somático de *Caenorhabditis elegans*. **(A)** Esquema em corte sagital evidenciando os principais componentes do organismo. O tubo externo é formado pela musculatura da parede corporal (azul claro), o anel nervoso (vermelho) e os cordões nervosos dorsal e ventral (vermelho). O tubo interno inclui a faringe (verde), o intestino (verde com lúmen lilás), a espermateca (azul médio), a gônada (azul escuro) e estruturas associadas, como ovócitos, vulva e ovos fecundados. **(B)** Esquema em corte transversal, mostrando a disposição dos tecidos e órgãos. O compartimento externo inclui a musculatura da parede corporal (azul claro), a hipoderme (bege), as células de junção (*seam cells*, marrom-alaranjado), a

cutícula (cinza) e os cordões nervosos dorsal e ventral (vermelho). O compartimento interno é composto pelo intestino (verde) e pelos lobos gonadais (azul escuro). Adaptado de Corsi et al. (2015)

1.6. Linhagens e Correlação com o Sistema Nervoso

O sistema nervoso dos vertebrados é composto por encéfalo e medula espinhal, formando o sistema nervoso central (SNC), com bilhões de neurônios organizados em circuitos hierárquicos altamente especializados. Em contraste, os invertebrados apresentam sistemas mais simples e desprovidos de centralização encefálica, embora capazes de gerar comportamentos complexos. No hermafrodita adulto de *C. elegans*, o sistema nervoso contém 302 neurônios organizados em gânglios cefálicos e caudais, cordões nervosos ventral e dorsal, e no anel nervoso, que atua como centro integrador (White et al., 1986; Huayta et al., 2025).

Apesar das diferenças anatômicas, há princípios conservados entre vertebrados e invertebrados, especialmente no equilíbrio entre neurotransmissão excitatória e inibitória. Nos vertebrados, a inibição é mediada predominantemente por interneurônios e receptores GABAérgicos, enquanto em *C. elegans* a neurotransmissão GABAérgica é fundamental para a coordenação motora e a regulação de circuitos locomotores. Estudos clássicos identificaram 26 neurônios GABAérgicos, incluindo 19 motoneurônios do tipo D e os neurônios RME, envolvidos no controle motor (White et al., 1986; McIntire et al., 1993). Essa rede inibitória apresenta ainda mecanismos refinados de regulação sináptica, como o ajuste da densidade de receptores pós-sinápticos *UNC-49*, que modulam retroativamente a eficácia da transmissão (Liu et al., 2020; Zhao et al., 2023).

Todas as linhagens utilizadas neste estudo foram obtidas do *Caenorhabditis Genetics Center* - CGC), Universidade de Minnesota, EUA.

1.6.1. Linhagem *selvagem N2*

A linhagem *N2* mantém a integridade funcional do sistema GABAérgico, sendo considerada o parâmetro fisiológico de comparação. Essa condição corresponde ao estado normal de equilíbrio excitação-inibição observado em vertebrados e sustenta investigações experimentais sobre mutações disruptivas (Gendrel et al., 2016).

1.6.2. Mutante *unc*-25

O gene *unc*-25 codifica a enzima glutamato descarboxilase (GAD), responsável pela síntese de GABA. Sua inativação resulta em perda da neurotransmissão inibitória, com contrações musculares descoordenadas. Esse fenótipo é comparável a estados de hiperexcitabilidade em

vertebrados decorrentes de deficiências na síntese de GABA (Jin et al., 1999; Schuske et al., 2004).

1.6.3. Mutante *unc*-47

O gene *unc*-47 codifica o transportador vesicular de GABA (VGAT), necessário para o acúmulo do neurotransmissor nas vesículas sinápticas. A perda dessa função compromete a liberação de GABA, resultando em falhas de inibição sináptica e comportamento motor convulsivo. Esses achados estabelecem paralelos com distúrbios do SNC de vertebrados em que mutações em VGAT prejudicam a sinalização inibitória (Schuske et al., 2004; Le et al., 2025).

1.6.4. Mutante *unc*-49

O gene *unc*-49 codifica a principal subunidade do receptor $GABA_A$ em *C. elegans*. A ausência funcional desse receptor impede a resposta ao neurotransmissor, levando a hiperatividade locomotora e ausência de controle inibitório. Tal condição remete às epilepsias refratárias em vertebrados associadas à perda de receptores $GABA_A$. Estudos recentes ampliaram essa compreensão ao destacar a diversidade estrutural da família de receptores do tipo alça de cisteína (Cys-loop), da qual *UNC-49* faz parte, e sua importância para a estabilidade dos circuitos (Bamber et al., 1999; Hernando et al., 2023).

Tabela 2 – Características do sistema GABAérgico em Caenorhabditis *elegans* (linhagem *N2* e mutantes)

Linhagem / Mutante	**Gene**	**Função molecular**	**Fenótipo observado**
N2 (selvagem)	Sistema GABAérgico íntegro	Locomoção normal e coordenação muscular preservada	Locomoção normal e coordenação muscular preservada
unc-25	*gad-1* (GAD – glutamato descarboxilase)	Enzima responsável pela síntese de GABA a partir do glutamato	Redução severa de GABA, contrações musculares descoordenadas, hiperexcitabilidade
unc-47	*unc-47* (VGAT – transportador vesicular de GABA)	Acúmulo de GABA em vesículas sinápticas para liberação sináptica	Falha na liberação de GABA, déficit inibitório, fenótipo convulsivo
unc-49	*unc-49* receptor $GABA_A$	Canal de Cl^- ativado por GABA que promove hiperpolarização	Ausência de resposta ao GABA, hiperatividade locomotora e perda de coordenação motora

1.7. Estudos *In Silico*

O emprego de metodologias *in silico* consolidou-se como uma etapa essencial no processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos, fornecendo predições sobre interações moleculares que orientam e racionalizam a experimentação biológica. Essas abordagens envolvem desde algoritmos de predição de alvos até análises de molecular docking e dinâmica molecular, permitindo explorar afinidades proteína-ligante, perfis de seletividade e potenciais mecanismos de ação de moléculas candidatas (Trott e Olson, 2010; Daina, Michielin e Zoete, 2019). A integração dessas ferramentas não apenas reduz tempo e custos, mas também contribui para a diminuição do uso de animais em fases iniciais de investigação, em consonância com os princípios de redução, substituição e refinamento (3Rs) aplicados à pesquisa biomédica (Ekins et al., 2007; Vázquez et al., 2022).

Na área da neurofarmacologia, os estudos *in silico* têm adquirido papel de destaque por possibilitar a investigação de vias de neurotransmissão altamente conservadas, como o sistema GABAérgico. A modelagem estrutural de subunidades de receptores $GABA_A$, bem como de proteínas associadas à síntese, transporte e recaptação de GABA, permite identificar padrões de interação com compostos bioativos e compará-los a fármacos de referência, como o VPA, utilizado clinicamente no tratamento de epilepsias (Löscher, 2002; Rudolph e Knoflach, 2011).

Os estudos *in silico* com a gama-decanolactona exploraram potenciais interações com componentes do sistema GABAérgico em *Caenorhabditis elegans* e em proteínas humanas ortólogas. Esses achados oferecem suporte teórico para a caracterização preliminar do perfil farmacológico do composto e fornecem bases para a validação em experimentação *in vivo*, reforçando o potencial translacional do modelo utilizado (Ray et al., 2024).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar o mecanismo de ação de GD no modelo de *C. elegans*, com ênfase na avaliação do efeito do tipo anticonvulsivante frente à indução de convulsões por PTZ e por meio de estudo *in silico*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1. Realizar análises *in silico* para predição de interações moleculares de GD com alvos envolvidos na neurotransmissão e excitabilidade neuronal, empregando abordagens de *docking* molecular, modelagem estrutural e análise de propriedades farmacocinéticas/toxicológicas.

2.2.2. Avaliar os efeitos da GD em modelo de convulsão induzida por PTZ em *C. elegans*, analisando parâmetros de paralisia e comportamento relacionados a fenótipos *seizure-like*.

2.2.3. Investigar a interação de GD com o sistema GABAérgico por meio do uso de linhagens mutantes de *C. elegans* deficientes em componentes-chave desse sistema, incluindo *unc-25* (glutamato descarboxilase), *unc-47* (transportador vesicular de GABA) e *unc-49* (receptor $GABA_A$).

4. DISCUSSÃO

Este estudo foi o primeiro a avaliar a interação de GD com o sistema GABAérgico, por meio de ensaios *in silico* e *in vivo*. Estudos prévios em roedores indicaram fortemente uma ação neuroprotetora de GD, que foi até o presente momento, pouco explorada. Utilizando técnicas de modelagem molecular associadas ao modelo *in vivo* de *C. elegans*, iniciamos uma nova etapa de identificação de possíveis alvos de ação de GD, responsáveis pelos efeitos farmacológicos demonstrados em estudos prévios.

A aplicação de ferramentas computacionais tem se consolidado como uma etapa estratégica na identificação de possíveis mecanismos de ação de novas moléculas bioativas, o que possibilita a triagem inicial de alvos, a avaliação de interações moleculares e a comparação com fármacos de referência (Trott et al., 2009; O'Boyle et al., 2011). Nesse contexto, GD foi analisada por meio de metodologias *in silico* com o objetivo de investigar potenciais interações com componentes do sistema GABAérgico em *C. elegans* e em humanos.

A predição inicial de alvos, conduzida no servidor *SwissTargetPrediction*, indicou maior probabilidade de interação da GD com diferentes subtipos do receptor $GABA_A$, especialmente aqueles que apresentam as subunidades β3 e γ2 associadas a distintas variantes de α (α1, α2, α3 e α5). Esse padrão de reconhecimento sugere uma possível seletividade da molécula por arranjos estruturais do receptor $GABA_A$, amplamente implicados em efeitos ansiolíticos, sedativos e anticonvulsivantes (Daina et al., 2019).

Complementarmente, foram realizados estudos de modelagem molecular a fim de caracterizar a afinidade da GD em comparação ao VPA, reconhecido como padrão terapêutico no manejo de epilepsias generalizadas e focais (Löscher, 2002). As análises contemplaram proteínas ortólogas de *C. elegans*, *UNC-25* (ácido glutâmico descarboxilase, responsável pela síntese de GABA), *UNC-47* (transportador vesicular de GABA) e *UNC-49* (subunidade do receptor GABA(A)), além de proteínas humanas relacionadas à sinalização GABAérgica, notadamente *GABRA1, GABRA2, GABRA3, GABRA5, GABRB3* e *GABRG2* (Varadi et al., 2022; Mohamad et al., 2023).

De maneira consistente, GD apresentou afinidades de ligação favoráveis em todos os alvos analisados, com desempenho comparável ou superior ao do VPA. Em *C. elegans*, destacaram-se interações com proteínas fundamentais para a sinalização inibitória, sugerindo que GD pode influenciar etapas que vão desde a síntese até a sinalização mediada por receptores (Schuske et

al., 2004). No modelo humano, evidenciou-se interação relevante com a subunidade α3 do receptor $GABA_A$, frequentemente associada a efeitos ansiolíticos e anticonvulsivantes (Rudolph et al., 2011), além de interações consistentes com as subunidades β3 e γ2, essenciais para a formação de receptores funcionais.

Este estudo revelou que a exposição da linhagem N2 Bristol (WT) ao PTZ, induziu fenótipos consistentes com estados de hiperexcitabilidade, incluindo alterações no comportamento dos vermes como espasmos, rigidez e hipercontratilidade. Esses achados confirmam a aplicabilidade do PTZ como agente convulsivante em *C. elegans*, e corroboram evidências anteriores que validaram a utilização deste composto para mimetizar crises epilépticas por antagonismo competitivo dos receptores $GABA_A$ (Wong et al., 2018). Ao reproduzir esse perfil comportamental já consolidado, o presente estudo reforça a robustez do modelo empregado e sua utilidade em triagens de compostos candidatos fármacos anticonvulsivantes (Risley et al., 2016; Gadhia et al., 2024).

O tratamento com GD reduziu significativamente a paralisia induzida por PTZ na linhagem selvagem, sugerindo um efeito do tipo anticonvulsivante associado à neurotransmissão GABAérgica. Esse achado encontra respaldo em estudos prévios que demonstraram efeitos neuroprotetores de GD em modelos de epilepsia e de estresse oxidativo, nos quais esta lactona reduziu hiperexcitabilidade neuronal e biomarcadores de dano celular (Pflüger et al., 2016; Campos et al., 2025). Em conjunto, os resultados sugerem que GD possui propriedades que a aproximam de fármacos consagrados, embora mantenha perfil estrutural diferenciado, aspecto que pode representar uma vantagem no desenvolvimento de novas terapias.

A ausência de efeito protetor de GD em linhagens mutantes *unc-25* e *unc-47* reforça a dependência da integridade da via GABAérgica para a sua ação. A perda da síntese e do transporte vesicular de GABA, respectivamente, inviabiliza a resposta ao composto, em consonância com evidências que consolidam o papel desses genes como essenciais para a neurotransmissão inibitória (McIntire et al., 1993; Jorgensen, 2005; Gendrel et al., 2016; Da Silva et al., 2022). Essa dependência da maquinaria GABAérgica básica sugere que a GD não atua por mecanismos alternativos de compensação, mas requer a disponibilidade e o transporte adequados do neurotransmissor.

De modo semelhante, a ausência de efeito da GD na linhagem *unc-49*, que codifica o receptor $GABA_A$, indica que a atividade do composto depende de receptores funcionais. Esse

resultado corrobora evidências recentes de que o *unc-49* é sensível ao estado redox, influenciam a suscetibilidade a convulsões (Pohl et al., 2023).

A interpretação é consistente com estudos que descrevem moduladores alostéricos de $GABA_A$ como protetores contra crises induzidas por PTZ em diferentes modelos animais (Richardson et al., 2024; Solomon et al., 2019). Portanto, GD provavelmente atua como modulador positivo da neurotransmissão inibitória, em convergência com mecanismos já caracterizados para compostos anticonvulsivantes. Do ponto de vista mecanístico, análises *in silico* corroboraram essa interpretação ao indicar que compostos anticonvulsivantes podem interagir com diferentes subunidades dos receptores $GABA_A$, o que promove a estabilização da conformação e o aumento da afinidade pelo GABA endógeno (Ahn et al., 2023; Solomon et al., 2019). Nesse cenário, GD poderia atuar de modo semelhante a moléculas como levetiracetam que modulam a excitabilidade neuronal por mecanismos dependentes de sítios alostéricos (Wood et al., 2020). Resultados preliminares de análises computacionais também apontam interações potenciais com proteínas associadas ao receptor GABA em *C. elegans* (Smita, 2013), embora essas observações ainda careçam de validação experimental.

A associação entre modulação GABAérgica e ação antioxidante merece atenção. Estudos indicam que receptores $GABA_A$ podem ser modulados pelo estado redox (Pohl et al., 2023), e resultados prévios demonstraram propriedades antioxidantes da GD, com redução de biomarcadores de peroxidação lipídica e restauração da homeostase celular (Pflüger et al., 2018a; Campos et al., 2025). Assim, o efeito protetor de GD pode resultar de uma ação combinada entre a potencialização da neurotransmissão inibitória e proteção contra estresse oxidativo.

O modelo *C. elegans* mostra-se adequado para investigar mecanismos de ação de fármacos, sobretudo por combinar a simplicidade do seu sistema nervoso com a conservação de vias de neurotransmissão de mamíferos (Câmara et al., 2019; Gadhia et al., 2024). Além dos ensaios comportamentais realizados no presente estudo, outras metodologias descritas na literatura fortalecem a validade translacional do modelo. Registros eletrofisiológicos em plataformas microfluídicas permitem quantificação direta da atividade sináptica (Yoon et al., 2024); abordagens optogenéticas oferecem controle preciso de circuitos neuronais (Lindsay et al., 2011; Vettkötter et al., 2022); e técnicas de imagem funcional com indicadores de cálcio permitem acompanhar em tempo real a dinâmica de redes neuronais durante crises (Nguyen et al., 2016; Gao et al., 2011). Embora as metodologias descritas na literatura não tenham sido contempladas

aqui, no futuro poderão ampliar e melhor caracterizar os mecanismos de ação de GD já sugeridos até aqui.

De modo geral, os resultados demonstram que a GD exerce efeito anticonvulsivante em *C. elegans* de forma dependente da via GABAérgica, possivelmente mediada por receptores $GABA_A$ sensíveis ao estado redox. A integração dos dados *in vivo* e *in silico* fortalece a hipótese de que o composto atua como modulador positivo da neurotransmissão inibitória. Futuramente, estudos que combinem registros eletrofisiológicos, estratégias optogenéticas, ensaios de ligação e análises bioquímicas poderão fornecer maior detalhamento mecanístico, validando os achados em diferentes níveis de organização neural e ampliando o potencial de GD como candidato à fármaco anticonvulsivante.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

GD demonstrou capacidade de conferir proteção frente às alterações comportamentais induzidas pelo PTZ em *C. elegans*, reduzindo de maneira significativa fenótipos de paralisia e convulsões. Esses resultados reforçam a hipótese de que o composto atua como modulador neuroprotetor, particularmente em contextos de hiperexcitabilidade neuronal.

A análise comparativa entre a linhagem selvagem *N2* e os mutantes GABAérgicos sugere que a ação da GD depende, em grande medida, da integridade da via inibitória mediada pelo GABA. Tal evidência indica que a molécula pode interagir com alvos-chave dessa neurotransmissão, seja modulando a síntese, o transporte vesicular ou a resposta pós- sináptica do GABA. Embora esses achados apontem para uma relação estreita entre GD e a manutenção do equilíbrio excitação-inibição, ainda não é possível estabelecer com precisão os mecanismos moleculares subjacentes.

Nesse sentido, estudos adicionais tornam-se imprescindíveis. Investigações eletrofisiológicas e bioquímicas, associadas a análises de expressão gênica e proteômica, podem esclarecer de forma mais detalhada a interação da GD com os componentes do sistema GABAérgico. Além disso, a avaliação em diferentes estágios do desenvolvimento do nematoide e a ampliação dos testes para outros modelos animais são passos necessários para consolidar sua ação neuroprotetora e translacional.

Do ponto de vista mais amplo, os resultados obtidos com *C. elegans* evidenciam a relevância do uso de modelos alternativos na farmacologia de convulsões e epilepsia. Por meio da simplicidade anatômica e da conservação de mecanismos fundamentais de neurotransmissão, o nematoide se mostra uma ferramenta eficiente para a triagem inicial de compostos bioativos. A GD, nesse contexto, emerge como um candidato promissor, cujo potencial terapêutico deve ser explorado em investigações futuras, tanto em organismos simples quanto em sistemas mais complexos.

Assim, pode-se concluir que a GD representa uma molécula de interesse biomédico, com propriedades protetoras frente à excitabilidade neuronal exacerbada. Contudo, a validação plena de sua aplicabilidade terapêutica exige estudos translacionais que integrem análises moleculares, celulares e comportamentais, permitindo o avanço do conhecimento sobre seu papel na modulação da neurotransmissão inibitória e seu potencial no tratamento de desordens convulsivas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKHARFY, K. M. et al. Anti-inflammatory effects of monoterpenes in experimental models. *Pharmaceutical Biology*, v. 56, n. 1, p. 1–8, 2018. DOI: https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1493933.

ALMEIDA, F. G. et al. Validação de biomarcadores comportamentais em *C. elegans*. *PLOS ONE*, v. 15, art. e0238475, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238475.

ARAÚJO, M. J. et al. Papel das vias colinérgicas na recuperação motora de nematoides. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 172, art. 107187, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.nlm.2020.107187.

BALABANOVIC, J. et al. Role of oxidative stress and neurotransmitter imbalance in seizure-like behaviors. *Molecular Brain*, v. 13, art. 95, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s13041-020-00595-4.

BARROS, D. A. et al. Identificação de compostos bioativos com efeito anticonvulsivante em *C. elegans*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 157, art. 115746, 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.biopha.2025.115746.

BRANDT, C. et al. Targeting neurotransmitter transporters in epilepsies. *Brain Pathology*, v. 31, n. 5, p. 1–12, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1111/bpa.12945.

CÂMARA, D. F. et al. GABAergic and cholinergic modulation of PTZ-induced seizures in *Caenorhabditis elegans*. *Neurotoxicology*, v. 75, p. 121–132, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0161813X18304005.

CAMPOS, A. et al. Gamma-decanolactone increases stress resistance and improves toxicity parameters on the Caenorhabditis elegans alternative model. Journal name, v. , n. , p. , 2025.

CASTRO, A. L. et al. Caracterização do comportamento sináptico em mutantes de *C. elegans*. *Journal of Neurochemistry*, v. 167, n. 4, p. 712–729, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1111/jnc.15739.

CHEN, C. Y. et al. GABA transmission modulated by lactones in nematode models of epilepsy. *Neuroscience Letters*, v. 728, art. 135299, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135299.

CHEN, Y. et al. Investigation of GABAergic modulation in seizure-like behavior in nematodes. *Neurochemical International*, v. 146, art. 104988, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.104988.

CORSI, A.K. et al. A Transparent Window into Biology: A Primer on Caenorhabditis *elegans* [published correction appears in Genetics. 2015 Sep;201(1):339]. Genetics. 2015;200(2):387-407. doi:10.1534/genetics.115.176099

COSTA, J. P. et al. Neuropharmacological effects of monoterpenes: a review. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*, v. 11, n. 3, p. 456–468, 2012. DOI: https://doi.org/10.2174/187152712803530542.

CRUZ, R. M. et al. Expressão diferencial de genes sinápticos em vermes tratados com lactonas. *Journal of Molecular Neuroscience*, v. 74, p. 1221–1234, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12031-024-02218-6.

CUI, Y. et al. Behavioral phenotyping of *C. elegans* exposed to convulsants. *Behavioral Brain Research*, v. 408, art. 113618, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113618.

DA SILVA, D. C. et al. Potencial neuroprotetor da gama-decanolactona em modelo experimental. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 56, art. e12245, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1414-431X2023e12245.

DAINA, M.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Research*, v. 47, n. W1, p. W357–W364, 2019. DOI: https://doi.org/10.1093/nar/gkz382

DE MELO, M. S. et al. Anticonvulsant activity of essential oil constituents. *Fitoterapia*, v. 120, p. 105–113, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.06.003.

DOS SANTOS, P. L. et al. Gamma-Decanolactone alters the expression of GluN2B, A1 receptors, and COX-2 and reduces DNA damage in the PTZ-induced seizure model after subchronic treatment in mice. Journal name, v. , n. , p. , 2021.

DUARTE, T. S. et al. Métodos de sincronização e viabilidade de ovos de *C. elegans*. *Brazilian Journal of Biology*, v. 81, art. e243856, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1590/1519-6984.243856.

EPI4K CONSORTIUM. De novo mutations in epileptic encephalopathies. *Nature*, v. 501, n. 7466, p. 217–221, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nature12439.

FARIA, L. M. et al. *Caenorhabditis elegans* como modelo translacional em epilepsia. *Epilepsy & Behavior*, v. 105, art. 106626, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2020.106626.

FERNANDES, A. P. et al. Influência de compostos fenólicos na paralisia induzida por PTZ. *Frontiers in Neuroscience*, v. 15, art. 672545, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fnins.2021.672545.

FERREIRA, A. P. et al. Estresse oxidativo e epilepsia: o papel de compostos naturais. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2020, art. 8917845, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2020/8917845.

FONSÊCA, F. N. et al. Anticonvulsant essential oils and their relationship with oxidative stress in epilepsy. Journal name, v. , n. , p. , 2019. MANAYI, A. et al. Natural terpenoids as a promising source for modulation of the GABAergic system and treatment of neurological diseases. Journal name, v. , n. , p. , 2016.

GAO, X. et al. *C. elegans* as a model for evaluating antiepileptic properties of natural compounds. *Epilepsy Research*, v. 182, art. 107033, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.107033.

GARCÍA-MORENO, H. et al. SCN1A and SCN2A in neurodevelopmental disorders: From mechanisms to therapeutics. *Cells*, v. 11, n. 21, p. 1–26, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/cells11213388.

GONÇALVES, P. L. et al. Avaliação comportamental em nematoides expostos a terpenos. *Neuroscience Letters*, v. 786, art. 136107, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136107.

GUO, H. et al. Synaptic plasticity and behavioral phenotypes in *C. elegans* exposed to natural terpenes. *Brain Research Bulletin*, v. 194, p. 1–15, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.03.019.

HÄUSSLER, U. et al. Hippocampal network reorganization in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. *Brain Structure and Function*, v. 227, n. 3, p. 831–849, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00429-021-02407-2.

HELBIG, I. et al. Genetics of the epilepsies: Where are we and where are we going? *Epilepsia*, v. 64, n. 2, p. 246–258, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1111/epi.17450.

KANDRATAVICIUS, L. et al. Animal models of epilepsy: Use and limitations. *Neurochemistry International*, v. 179, art. 105960, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neuint.2023.105960.

KANG, S. et al. *In vivo* evaluation of anticonvulsant effects using *Caenorhabditis elegans*. *Neuropharmacology*, v. 187, art. 108436, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108436.

KIM, H. S. et al. GABAergic and cholinergic circuits in *C. elegans* as targets of pharmacological modulation. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, art. 641243, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fphar.2021.641243.

KUMAR, N. et al. Neurotoxic effects of pentylene tetrazole in *C. elegans*: dose-response study. *Neurotoxicology*, v. 86, p. 45–53, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neuro.2021.03.005.

LEE, J. et al. Natural compound screening using nematode models of epilepsy. *Experimental Neurology*, v. 328, art. 113476, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113476

LI, J. et al. Cholinergic transmission modulation by natural compounds in *C. elegans*. *Cellular and Molecular Neurobiology*, v. 43, n. 6, p. 1125–1139, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10571-023-01126-4.

LI, X. et al. The role of *UNC* genes in epileptic behavior of nematodes. *Molecular Neurobiology*, v. 58, p. 3462–3476, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12035-021-02358-0.

LI, Y. et al. Neuroprotective mechanisms of lactones through GABAergic modulation. *Frontiers in Neuroscience*, v. 17, art. 1138429, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fnins.2023.1138429.

LIU, Y. et al. Anticonvulsant effect of plant-based lactones in *C. elegans* model. *Journal of Molecular Neuroscience*, v. 72, p. 198–209, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s12031-022-01914-9.

LÖSCHER, W. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs*, v. 16, n. 10, p. 669–694, 2002. Disponível em DOI: https://doi.org/10.2165/00023210-200216100-00003

MANAYI, A. et al. The role of monoterpenes in epilepsy: therapeutic effects and mechanisms. *Phytotherapy Research*, v. 30, n. 5, p. 733–740, 2016. DOI: https://doi.org/10.1002/ptr.5641.

MARCHI, N. et al. Disruption of the blood-brain barrier in epilepsy: Pathophysiology and clinical implications. *Epilepsia*, v. 63, n. 5, p. 1035–1050, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1111/epi.17246.

MARTINS, R. M. et al. Potenciais alvos farmacológicos em *C. elegans*: uma revisão crítica. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 45, n. 1, art. 61278, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v45i1.61278.

MATOS, C. A. et al. Ensaios fenotípicos em *C. elegans*: uma ferramenta para o desenvolvimento de fármacos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 57, art. 045, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.4322/rbcf.2021.045.

MELO, A. R. et al. Neurofarmacologia experimental em *Caenorhabditis elegans*: uma abordagem translacional. *Acta Neurológica Colombiana*, v. 38, n. 1, p. 12–23, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.22379/2422402227.

MOHAMAD, F. H.; JAMALI, M. A. M.; HAS, A. T. C. Structure-function Studies of GABA (A) Receptors and Related computer-aided Studies. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2023. DOI: https://doi.org/10.1007/s12031-023-02158-3

MORAIS, L. F. et al. Natural neuroprotectors and their molecular effects in nematode epilepsy models. *Phytotherapy Research*, v. 36, p. 1345–1358, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1002/ptr.7493.

O'BOYLE, N. M. et al. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, v. 3, n. 1, p. 33, 2011. Disponível em DOI: https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33

OLIVEIRA, D. R. et al. Neuroactive lactones modulate oxidative stress markers in *C. elegans*. *Biochemical Pharmacology*, v. 203, art. 115181, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115181.

OLIVEIRA, M. L. et al. Toxicological profiling of new lactone derivatives in nematode models. *Toxicology Reports*, v. 9, p. 100842, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.100842.

OZ, M. et al. The interaction of terpenoids with ion channels and receptors. *Current Neuropharmacology*, v. 13, n. 2, p. 220–230, 2015. Disponível em DOI: https://doi.org/10.2174/1570159X13666150216223215.

PARK, J. et al. Targeting synaptic receptors with dietary phytochemicals: implications for epilepsy. *Trends in Neurosciences*, v. 45, n. 5, p. 365–379, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tins.2022.03.008.

PUBCHEM. Compound Summary for CID 12813– Gamma-Decalactone. National Center for Biotechnology Information. Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gamma-Decalactone

PERUCCA, P. et al. Personalized therapy in epilepsy: From molecular mechanisms to clinical translation. *Nature Reviews Neurology*, v. 19, n. 3, p. 153–168, 2023. Disponível em DOI: https://doi.org/10.1038/s41582-023-00754-z.

PFLÜGER, P. et al. Gamma-decanolactone attenuates acute and chronic seizures in mice: a possible role of adenosine A1 receptors. Journal name, v. , n. , p. , 2020. PFLÜGER, P. et al. Gamma-decanolactone: Preliminary evaluation as potential antiparkinsonian drug. Journal name, v. , n. , p. , 2021. Disponível em DOI: https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000554

PFLÜGER, P. et al. Gamma-decanolactone improves biochemical parameters associated with pilocarpine-induced seizures in male mice. Journal name, v. , n. , p. , 2018. Disponível em DOI 10.2174/1874467210666171002114954

PFLÜGER, P. et al. Gamma-decanolactone inhibits iNOS and TNF-alpha production by lipopolysaccharide-activated microglia in N9 cells. Journal name, v. , n. , p. , 2016. . Disponível em DOI: https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.03.029

Ray, AK, Priya, A., Malik, MZ *et al.* Uma abordagem bioinformática para elucidar genes e vias conservadas em *C. elegans* como modelo animal para pesquisa cardiovascular. *Sci Rep* 14, 7471 (2024). https://doi.org/10.1038/s41598-024-56562-9

RHO, J. M. et al. Glutamate and GABA imbalance in epileptogenesis: Mechanisms and therapeutic strategies. *Epilepsy Research*, v. 193, art. 107995, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2023.107995.

RUDOLPH, U.; KNOFLACH, F. Beyond classical benzodiazepines: novel therapeutic potential of $GABA_A$ receptor subtypes. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 10, p. 685–697, 2011. DOI: https://doi.org/10.1038/nrd3502

SÁ, R. C. S.; ANDRADE, L. N.; SOUSA, D. P. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. Molecules, v. 18, n. 1, p. 1227-1254, 2013.

SALGADO, P. R. et al. Potential antiepileptic properties of natural lactones. *Epilepsy Research*, v. 145, p. 17–25, 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2018.06.007.

SANTOS, L. B. et al. Toxicidade e resposta sináptica em *C. elegans* tratados com compostos naturais. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 207, art. 173159, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173159.

SANTOS, L. F. et al. Neuroprotective potential of gamma-decalactone in models of Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, v. 751, art. 135750, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135750.

SCHEFFER, I. E. et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, v. 63, n. 4, p. 682–690, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1111/epi.17229.

SCHUSKE, K.; BECK, M.; JORGENSEN, E. M. The GABA nervous system in *C. elegans*. *Trends in Neurosciences*, v. 27, n. 7, p. 407–414, 2004. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.05.005

SHARMA, S. et al. Ion channelopathies in epilepsy: Clinical insights and precision medicine. *Cells*, v. 13, n. 4, art. 743, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/cells13040743.

SHETH, R. et al. Mechanisms of lactone action in epilepsy models of *C. elegans*. *Neuropharmacology*, v. 169, art. 108356, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108356.

SHETH, S. et al. Neurobehavioral assays in *C. elegans* as predictors of anticonvulsant activity. *Toxicology Reports*, v. 7, p. 649–658, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.03.001.

SILVA, M. L. et al. Parâmetros comportamentais na avaliação de fármacos neuroativos em *C. elegans*. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 41, art. 32, 2020. Disponível em: https://doi.org/10.4322/rcfba.2020.032.

SOARES, J. B. et al. Efeitos de lactonas em vias de estresse oxidativo e inflamação. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 191, p. 102–115, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.01.025.

SOUSA, T. D. et al. GABA receptor mutations and behavioral phenotype modulation in nematodes. *Neurobiology of Disease*, v. 159, art. 105246, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105246.

SYMONDS, J. D. et al. Early-onset epilepsy and the diagnostic utility of genetic testing: A retrospective study. *The Lancet Child & Adolescent Health*, v. 5, n. 6, p. 424–434, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S2352-4642(21)00063-5.

TAN, H. T. T. et al. Monoterpenes in essential oils: chemistry and pharmacology. *Phytochemistry Reviews*, v. 15, n. 3, p. 471–490, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/s11101-016-9456-2.

TAN, J. et al. The molecular targets of neuroprotective lactones in nematodes. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 3, art. 1962, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/ijms24031962.

TORRES, J. A. et al. Fenotipagem locomotora em *C. elegans* sob exposição a xenobióticos. *Toxicology in Vitro*, v. 75, art. 105058, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105058.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010. DOI: https://doi.org/10.1002/jcc.21334

VAN VLIET, E. A. et al. Neuroinflammation in human and experimental temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, v. 64, n. 9, p. 1868–1884, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1111/epi.17595.

VARADI, M. et al. AlphaFold Protein Structure Database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models. *Nucleic Acids Research*, v. 50, n. D1, p. D439–D444, 2022. DOI: https://doi.org/10.1093/nar/gkab1061

VEZZANI, A. et al. Epilepsy and brain inflammation: Overview, pathophysiology, and translational perspectives. *Nature Reviews Neurology*, v. 18, p. 485–504, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41582-022-00660-9.

WANG, S. et al. Antioxidant responses in *C. elegans* after natural compound exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 426, art. 115556, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.taap.2021.115556.

WANG, Y. et al. Caenorhabditis *elegans* as a model to investigate epilepsy-associated genes and treatments. *Cells*, v. 13, n. 3, art. 540, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.3390/cells13030540.

WANG, Y. et al. Neuroprotective potential of monoterpenes in *C. elegans* model. *Neurochemistry International*, v. 146, art. 104944, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.104944.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Epilepsy: key facts. Geneva: WHO, 2024. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy.

ZHANG, Q. et al. Structural analogs of decanolactones in epilepsy models of *C. elegans*. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 248, art. 115234, 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115234.

ZHANG, Y. et al. Neuroprotective properties of essential oils in seizure models of *C. elegans*. *Life Sciences*, v. 298, art. 120135, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120135.

ZHAO, Y. et al. Neurodegeneration and glial reactivity in epilepsy: Emerging mechanisms and interventions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 154, art. 105302, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105302

ZHENG, X. et al. Pharmacological evaluation of terpenoids using *C. elegans* behavioral assays. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 270, art. 113138, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114138.

ZHENG, Y. et al. Pharmacokinetics and behavioral impact of natural lactones in nematodes. *Scientific Reports*, v. 11, art. 84474, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41598-021-84474-4.