

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ - UFPA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - ICS
CURSO DE MEDICINA

ARIEL CHAVES DIAS

VIVIANE GARCIA PANTOJA DE AZEVEDO FERREIRA

ALTERAÇÕES ELETROCORTICOGRÁFICAS E
ELETROCARDIOGRÁFICAS PROVOCADAS POR ALTAS DOSES DE
VITAMINA A EM RATOS WISTAR

BELÉM

2022

ARIEL CHAVES DIAS

VIVIANE GARCIA PANTOJA DE AZEVEDO FERREIRA

**ALTERAÇÕES ELETROCORTICOGRÁFICAS E ELETROCARDIOGRÁFICAS
PROVOCADAS POR ALTAS DOSES DE VITAMINA A EM RATOS WISTAR**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Ciências da Saúde
da Universidade Federal do Pará para a
obtenção de grau de Bacharel em Medicina.
Orientador: Profº Drº Moisés Hamoy**

BELÉM

2022

ARIEL CHAVES DIAS

VIVIANE GARCIA PANTOJA DE AZEVEDO FERREIRA

**ALTERAÇÕES ELETROCORTICOGRÁFICAS E ELETROCARDIOGRÁFICAS
PROVOCADAS POR ALTAS DOSES DE VITAMINA A EM RATOS WISTAR:**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau em Medicina pela
Universidade Federal do Pará.**

Banca examinadora:

Prof. Dr. Moisés Hamoy (ICB - UFPA)

Profa. Dra. Vanessa Jóia de Mello (ICB - UFPA)

Prof. Me. Rômulo Augusto Feio Farias (ICB - UFPA)

Prof. Dr. Nilton Akio Muto (ICB -UFPA)

Aprovado em: ____ / ____ / ____

Conceito: _____

Dedico à minha família, principalmente ao meu irmão e à minha mãe, que sempre me apoiaram e foram fonte de infinita inspiração, e aos amigos, em cujos ombros me segurei em momentos de dificuldade.

ARIEL CHAVES DIAS

Dedico este trabalho, primeiramente a Deus que me presenteia todos os dias com a energia da vida que me dá força e coragem para atingir meus objetivos, e a minha família por acreditar em mim e sempre me incentivar.

VIVIANE GARCIA PANTOJA DE AZEVEDO FERREIRA

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por ter chegado até aqui, para ele toda honra e toda glória para todo o sempre.

Agradeço a todos os professores que nos acompanharam durante a graduação, em especial ao Prof. Dr. Moisés Hamoy, por quem tenho imenso apreço e admiração, não só pelo grande profissional que é, mas pelo ser humano maravilhoso. Meu muito obrigada, professor, por nossas conversas durante e para além dos grupos de estudos foram fundamentais na minha caminhada e na realização deste trabalho e de muitos outros que realizaremos.

Agradeço a minha doce e guerreira mãe, Edelvira Garcia, que é meu exemplo máximo de superação. De origem humilde, nascida em Salvaterra, não conseguiu concluir seus estudos, mas me ensinou a amar os livros, a vida e sobre persistir no que eu sonhasse.

Agradeço ao meu esposo Bruno de Azevedo Ferreira, por está incansavelmente ao meu lado, me incentivando, segurando minhas mãos e enxugando minhas lágrimas nos momentos difíceis, que não foram raros nesses últimos anos. Amor, esse período reforçou o que já sabia: somos uma Família!

Quero agradecer imensamente aos meus filhos, Leandro, Lucas e Bruna, que abrilhantam meus dias e me incentivam com sorrisos, carinho e muito amor, sem mesmo terem conhecimento disso, restauram minha força e determinação inúmeras vezes, me levando em busca do conhecimento.

Agradeço a minha irmã Evelyne e sobrinhas pelo apoio e carinho. Agradeço ainda, as pessoas que de forma muito especial contribuíram muito durante essa caminhada, Vera Azevedo, Patrick Azevedo, Renata Trindade e Cláudio Pontes, obrigada pelo carinho e apoio incondicional.

E por fim agradeço, aos Professores Doutores Vanessa Jóia de Mello, Newton Akio Muto e Rômulo Augusto Feio Farias, pela disponibilidade de avaliarem meu trabalho e por acrescentarem com suas considerações.

Viviane Garcia Pantoja de Azevedo Ferreira

Agradeço aos Mestres que fizeram essa obra ser possível, em especial o Prof. Dr. Moisés Hamoy, por nos direcionar e esclarecer, e por sua disponibilidade. Sem ele e sua paciência, esse trabalho não existiria. À profa. Joia agradeço pelo humor, energia inspiradora e dedicação, francamente presentes desde o nosso primeiro contato. Aos professores Rômulo e Nilton por suas contribuições e avaliações.

Agradeço à minha mãe, Marly, por ser exemplo moral, profissional e pessoal, por me ensinar e zelar; ao meu irmão, Ulisses, pelas conversas, discussões, intervenções e por se dispor a ter tempo de qualidade comigo. A vocês dois eu digo, “eu amo vocês” exprime muito pouco do que sinto internamente, palavras não são suficientes para o que sinto.

Agradeço ao meu pai, Nilton, por ser exemplo profissional e acadêmico, por disponibilizar os momentos livres, quando possível, desde a minha infância até a atualidade, para nos divertirmos com uma boa conversa ou um bom filme.

Agradeço especialmente ao meu tio, Cleidinaldo, através do qual essa graduação, e portanto, esse trabalho, não seriam possíveis. Sob o seu cuidado, a fundação do que hoje é meu conhecimento não seria construído.

Aos meus tios Reginaldo, Marcos, agradeço pela motivação e inspiração. Inspiração pelas suas jornadas pessoais, por serem diligentes profissionais e pela motivação constante durante toda a graduação.

À minha avó, Maria, e ao meu avô João, agradeço por serem os arquitetos de tudo, por serem infinita fonte de sabedoria, de carinho, mas também meus exemplos máximos de disciplina e esforço mesmo diante das dificuldades que a vida, em seus inúmeros percalços, nos coloca.

À minha amada companheira, Anna, agradeço pela paciência, humor e compreensão. Por me alegrar nos momentos de estresse, e por me fornecer luz em momentos de escuridão.

Agradeço, por fim, aos primos, amigos, e demais membros da família, pelas inúmeras ajudas, ombro amigo, conversas irreverentes e conselhos diversos.

Ariel Chaves Dias

Alguns homens vêem as coisas como são, e dizem porquê? Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo por que não?

Geroge Bernard Shaw

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura. 1 - Principais moléculas que compõem a vitamina A. p. 21
- Figura. 2 - Estrutura química de alguns dos principais retinóides com atividade de vitamina A. p. 22
- Figura. 3 - Modelo de metabolismo do retinol. p. 24
- Figura. 4 - Representação Esquemática de Potenciais Pós-Sinápticos. p. 42
- Figura. 5 - Bandas de Onda do Eletroencefalograma . p. 44
- Figura. 6 - Demonstrativos de registros eletrocorticográficos com duração de 2 minutos. p. 58
- Figura. 7 - Gráfico de distribuição de potência linear entre os grupos com frequência de até 40 Hz, Delta e Teta. p. 60
- Figura. 8 - Gráfico de distribuição de potência linear para as oscilações em Alfa, Beta e Gama. p. 62
- Figura. 9 - Eletrocardiograma controle em derivação D-II no rato com duração de 2 minutos e suas respectivas ampliações nos grupos controle e veículo. p. 63
- Figura. 10 - Eletrocardiograma na derivação D-II no rato com duração de 2 minutos para os animais tratados com acetato de retinol e suas respectivas ampliações de registro. p. 64
- Figura. 11 - Médias de frequência cardíaca, amplitude do complexo QRS e intervalo R-R registradas nos grupos controle, veículo e tratados com acetato de retinol. p. 65
- Figura. 12 - Médias de intervalo P-Q, duração de QRS e intervalo Q-T registradas nos grupos controle, veículo, após 3, 7 e 14 dias de tratamento com vitamina A. p. 66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

11cRAL: 11- cis -retinoldeído
AR: Ácido retinóico
ARAT : Acil-Coa acil transferase
atRA: Ácido all- trans retinóico
AV: Atrioventricular
CEUA: Comitê de ética em uso de animais experimentais
c-Raf: proto-oncogene serina/treonina-proteína quinase
CRABP-I e II: Proteínas celulares de ligação ao ácido retinóico I e II
CRBP-I e II: Proteínas citoplasmáticas ligadoras de retinol I e II
CREB: cAMP response element-binding protein
CRPBP II: Proteína celular carreadora de palmitato de retinol II
DNA: Ácido desoxirribonucleico
EAR: equivalente de atividade de retinol
ECG: Eletrocardiograma
ECoG: Eletrocorticograma
Erk: Extracellular signal-regulated kinases
GSH: Glutathiona reduzida
GST: Glutathiona-S transferase
LRAT: Lecitina retinol aciltransferase
MAO: Monoamina oxidase
MAPKs: proteínas quinase ativadas por mitógenos
Mn-SOD: Superóxido dismutase de manganês
SNC: Sistema nervoso central
PLR: proteína plasmática específica de ligação ao retinol
RAGE : Receptor for Advanced Glycation End Products
RAR: Receptores de ácido retinóico
RARE: Retinoic acid response elements
RDA: Ingestão dietética recomendada
RXR: Retinoid X Receptor
PKB/Akt: Proteína quinase B
PKC: Proteína quinase C
REH: Retinol hepático
SA: Sinoatrial
SDH: Succinato desidrogenase
siRNA: Small interfering RNA
SOD mitochondrial: Superóxido dismutase mitochondrial
TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa
VA: Vitamina A

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	13
1.1 HIPÓTESE	16
1.2 OBJETIVOS	16
1.2.1 Objetivo geral	16
1.2.2 Objetivos específicos	16
2. JUSTIFICATIVA	18
3. REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 VITAMINA A (RETINOL).	19
3.1.1 Síntese e obtenção do retinol e estrutura química.	19
3.1.2 Metabolismo da vitamina A	22
3.1.2.1 Absorção	22
3.1.2.2 Distribuição tecidual	24
3.1.2.2.1 Transporte através da barreira hemato-encefálica	26
3.1.2.2.2 Armazenamento	26
3.1.2.3 Funções metabólicas da vitamina A	27
3.1.2.4 Mecanismo de ação	28
3.1.2.4.1 Ação Clássica – Nuclear ou genômica	28
3.1.2.4.2 Ações não-clássicas – Não-genômicas	29
3.1.2.5 Eliminação	30
3.1.3 Recomendações de dose da vitamina A	31
3.1.4 Aplicação clínica da vitamina A	32
3.1.5 Interações medicamentosas	32
3.1.6 Efeitos adversos da vitamina A	33
3.1.6.1 Hipervitaminose A aguda	34
3.1.6.2 Hipervitaminose A crônica	35
3.1.6.3 Vitamina A e teratogênese	36
3.1.7 Vitamina A no sistema nervoso central	37
3.1.8 Neurotoxicidade da vitamina A (retinol)	37
3.1.9 Efeito antioxidante e pró-oxidante da vitamina A	39
3.2 ELETROENCEFALOGRAMA	41
3.2.1 Definições e Breve Histórico	41
3.2.2 Ondas Eletroencefalográficas	43
3.2.2.1 Ondas Delta	45

3.2.2.2 Ondas Teta	45
3.2.2.3 Ondas Alfa	46
3.2.2.4 Ondas Beta	47
3.2.2.5 Ondas Gama	47
3.3 ELETROCARDIOGRAMA	48
3.3.1 Morfologia do sinal eletrocardiográfico	48
3.3.2 Descritores morfológicos do sinal eletrocardiográfico	49
3.3.2.1 Frequência cardíaca	49
3.3.2.2 Onda P	
3.3.2.3 Segmento P-R	49
3.3.2.4 Intervalo P-Q	50
3.3.2.5 Complexo QRS	50
3.3.2.6 Segmento S-T	51
3.3.2.7 Onda T	51
3.3.2.8 Onda U	51
3.3.2.9 Intervalo Q-T	52
3.3.2.10 Intervalo R-R	52
4. METODOLOGIA	53
4.1 ANIMAIS	53
4.2 DROGAS	53
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	53
4.3.1 Experimento 1: Eletrocorticograma (ECoG)	54
4.3.2 Experimento 2: Eletrocardiograma (ECG)	54
4.3.3 Cirurgia para colocação de eletrodos	55
4.3.4 Registros eletrocorticográficos	55
4.3.5 Análise de dados	55
4.3.6 Eletrocardiograma	56
4.4 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS	56
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
5. RESULTADOS	58
5.1 RESULTADOS ELETROCORTICOGRÁFICOS	59
5.2 RESULTADOS ELETROCARDIOGRÁFICOS	63
6. DISCUSSÃO	68
7. CONCLUSÃO	73
8. REFERÊNCIAS	74

RESUMO

A vitamina A está envolvida na função imunológica, comunicação celular, crescimento e desenvolvimento e reprodução masculina e feminina. Tendo papel fundamental no crescimento e na diferenciação celular, bem como na formação e manutenção normais do coração, pulmões, olhos e outros órgãos. O acesso à vitamina A através de suplementos é uma estratégia importante para evitar a deficiência dessa vitamina lipossolúvel em humanos, principalmente, para os que não alcançam as taxas diárias pelos alimentos. No entanto, a neurotoxicidade por vitamina A, já vem sendo demonstrada há bastante tempo, como um possível efeito colateral do consumo inadvertido ou sob recomendação médica de vitamina A. Por sua vez, o presente estudo objetiva analisar o perfil eletrocorticográficos e eletrocardiográficos mediante administração de doses supra fisiológicas de Vitamina A em ratos da linhagem Wistar por meio registro de padrões de frequência de oscilações cerebrais e da atividade cardíaca através do Eletrocardiograma-ECG. Desse modo, a pesquisa consistiu em experimento envolvendo duas fases: Experimento 1: Análise Eletrocorticografia da atividade das ondas nas bandas de frequência Delta, Teta, Alfa, Beta e Gama; e Experimento 2: Análise do Eletrocardiograma, ambos, após 3, 7 e 14 dias de tratamento com vitamina A na dose 50.000UI/kg dia V.O. Dessa forma, o presente estudo observou evidências importantes sobre alterações cerebrais e cardíacas causadas por altas doses de vitamina A. A exposição a doses supra fisiológicas de Vitamina A (Retinol) causou alterações Sistema Nervoso Central. As oscilações alteraram agudamente nas forças das bandas das ondas cerebrais no intervalo de frequências de 1 a 12 Hz. O aumento da frequência cardíaca, o aumento de amplitude do complexo QRS, a redução do intervalo Q-T e a redução do intervalo R-R, representaram alterações da atividade cardíaca, decorrentes da intoxicação por doses supra fisiológicas de Vitamina A, onde essas alterações ocorreram, possivelmente, em consequência do aumento da concentração sérica de cálcio. No entanto, mais estudos são necessários para melhor compreender as alterações causadas em neurônios e cardiomiócitos.

Palavras-chave: ECoG. EEG. Vitamina A. Doses supra fisiológicas. Ratos wistar.

ABSTRACT

Vitamin A is involved in immune function, cell communication, growth and development, and male and female reproduction. Having a fundamental role in cell growth and differentiation, as well as in the normal formation and maintenance of the heart, lungs, eyes and other organs. Access to vitamin A through supplements is an important strategy to avoid the deficiency of this fat-soluble vitamin in humans, especially for those who do not reach their daily rates through food. However, vitamin A neurotoxicity has been demonstrated for a long time as a possible side effect of inadvertent or medically recommended consumption of vitamin A. In turn, the present study aims to analyze the electrocorticographic and electrocardiographic profile by administering supraphysiological doses of Vitamin A in Wistar rats by means of recording patterns of frequency of brain oscillations and cardiac activity through the Electrocardiogram-ECG. Thus, the research consisted of an experiment involving two phases: Experiment 1: Electrocorticographic analysis of wave activity in the Delta, Theta, Alpha, Beta and Gamma frequency bands; and Experiment 2: Electrocardiogram analysis, both, after 3, 7 and 14 days of treatment with vitamin A at a dose of 50,000UI/kg day V.O. Thus, the present study observed important evidence on brain and cardiac alterations caused by high doses of vitamin A. Exposure to supraphysiological doses of Vitamin A (Retinol) caused alterations in the Central Nervous System. The oscillations sharply altered the strength of the brainwave bands in the frequency range from 1 to 12 Hz. The increase in heart rate, the increase in the amplitude of the QRS complex, the reduction of the Q-T interval and the reduction of the R-R interval, represented changes in the cardiac activity, resulting from intoxication by supraphysiological doses of Vitamin A, where these alterations occurred, possibly, as a consequence of the increase in the serum concentration of calcium. However, more studies are needed to better understand the changes caused in neurons and cardiomyocytes.

Keywords: ECoG. EEG. Vitamin A. Supraphysiological doses. Wistar rats.

1. INTRODUÇÃO

O acesso à vitamina A através de suplementos é uma estratégia importante para evitar a deficiência dessa vitamina lipossolúvel em humanos, principalmente para os que não alcançam as taxas diárias de alimentação. No entanto, é necessário monitorar o impacto de excessos dessa prática na saúde humana, devido ao risco induzidos por altas doses de vitamina A, retinóides e carotenoides (SNODGRASS, 1992; NAPOLI, 1999; MYHRE, 2003; NAPOLI, 2012).

A principal característica das vitaminas é o fato de não poder ser sintetizada pelo organismo e deve ser obtida da dieta. A vitamina A é indiscutivelmente a vitamina mais multifuncional no corpo humano e é fornecida como vitamina A pré-formada em alimentos de origem animal (fígado) e como carotenóide pró-vitamina A encontrados em alimentos derivados de plantas (HARRISON, 2012).

A vitamina A (retinol) e seus análogos, conhecidos como retinóides, exercem um papel central na modulação de diversos eventos celulares como proliferação, diferenciação e morte (GUDAS, 1994). O termo “retinóide” se compreende como derivado do retinol, sendo considerado o precursor primário do retinol, o ácido retinóico, que é formado no meio intracelular durante o metabolismo oxidativo do retinol, além de outros metabólitos naturais como o retinaldeído e o 11-*cis*-ácido retinóico e também análogos sintéticos com similaridade estrutural e funcional (BOLLAG, 1983). A maioria dessas funções pleiotrópicas não é exercida pelo próprio retinol, mas sim por metabólitos ativos. Entre esses metabólitos ativos há o 11- *cis* -retinoldeído (11cRAL) que participa da fototransdução, através da ligação de opsina, para formar rodopsina e pigmentos de cone. Outro metabólito ativo predominante é o ácido all- *trans* retinóico (atRA), que regula a expressão de uma bateria de genes-alvo envolvidos no crescimento e diferenciação celular, desenvolvimento e homeostase (ALTUCCI, 2001).

Animais obtêm Vitamina A a partir da dieta, sob a forma de pró- vitamina A ou como vitamina A pré-formada. Uma das formas de pró-vitamina A mais comumente encontradas na dieta são os carotenóides, ao passo que a principal forma de vitamina A pré formada encontrada na dieta é o retinol esterificado com ácidos graxos de cadeia longa (estearato ou palmitato), o qual pode ser obtido através de uma dieta composta de fígado, leite e derivados (OLSON, 2001). Além disso, diversos alimentos industrializados são, atualmente, enriquecidos com vitamina A, e ainda há possibilidade de obtenção desta vitamina em

suplementos vitamínicos.

Apesar da grande diversidade de moléculas presentes na família retinóide, pode-se considerar o retinol como o principal composto obtido na dieta, e o ácido retinóico como o principal e mais abundante metabólito intracelular em mamíferos. Em geral, os retinóides naturais são compostos isoprenóides de 20 carbonos com um anel beta-ionilideno, uma cadeia lateral de carbonos contendo ligações duplas conjugadas que possibilitam diversas configurações isoméricas, e um grupo funcional terminal em um dos três estados de oxidação (BOLLAG, 1983).

É sabido que a vitamina A ou retinol é essencial para a sobrevivência humana, em todos os momentos, desde a embriogênese até a idade adulta. Esse papel, tão importante, foi revelado tanto por abordagens experimentais quanto por observações clínicas. De fato, a deficiência de vitamina A leva ao retardo do crescimento neonatal e a uma grande variedade de malformações congênitas coletivamente chamadas de síndrome fetal de “deficiência de vitamina A” (VAD). Além disso, em adultos, sabe-se que a vitamina A é essencial para várias funções, como visão, imunidade e reprodução. (CLAGETT-DAME, 2011).

Dessa forma, o consumo de vitamina A através de suplementos é uma estratégia importante para evitar a deficiência dessa vitamina lipossolúvel em humanos, principalmente para os que não alcançam as taxas diárias, desse nutriente, via alimentação. No entanto, é necessário monitorar o impacto de excessos dessa prática na saúde humana, devido ao risco induzidos por altas doses de vitamina A, retinóides e carotenóides (SNODGRASS, 1992; NAPOLI 1999; MYHRE, 2003; NAPOLI, 2012).

A Vitamina A apresenta em seu amplo grupo de compostos, a isotretinoína, representada quimicamente pelo ácido-13-cisretinóico, que é utilizada terapeuticamente em casos de distúrbios dermatológicos particularmente da acne cística e nodular, bem como em outros tipos de afecções cutâneas (como por exemplo, pitíriase rubra, queratose e lúpus eritematoso), de forma experimental (DRUGDEX, 2001), e como inibidor de proliferação de células neoplásicas de leucemias, por exercer efeito regulador sobre a diferenciação celular (TSUNATI, 1990, 1991; ROSS, 2002).

No estudo de Fenaux (2001), doses terapêuticas de vitamina A, variando de 150.000 a 300.000 UI / kg.dia⁻¹ ou mais, foram utilizadas no tratamento de crianças leucêmicas de diferentes idades com resultados positivos. Ainda convém relatar que Fisker (2014) fez uso da suplementação de vitamina A de 100.000 a 200.000 UI para tratar crianças, na tentativa de prevenir a mortalidade na Guiné-Bissau. Além disso, a vitamina A em doses superiores a

8500 UI / kg.dia foi administrada a prematuros com muito baixo peso durante a terapia de ganho de peso (MACTIER, 2005).

Vale lembrar que, a vitamina A pode ser obtida por meio da dieta quanto pela suplementação com uso clínico ou mesmo inadvertidamente. Alguns autores discutem que é raro observar toxicidade resultante da ingestão excessiva de vitamina A (ALLEN, 2002). No entanto, os parâmetros mais comuns analisados nos casos de intoxicação por vitamina A incluem a observação de sinais e sintomas agudos, entre os quais náusea, vômito, diarreia, dor de cabeça, abaulamento da fontanela em bebês (como resultado do aumento da pressão intracraniana), e febre, para citar alguns (ALLEN, 2002; LAM, 2006). Também é sabido que os efeitos adversos envolvendo o uso de isotretinoína estão relacionados à pele e membranas mucosas, sistemas nervoso, músculo esquelético, linfático, gastrointestinal, cardio respiratório e geniturinário.

Em 1992, Snodgrass relatou que distúrbios relacionados às funções nervosas também foram relatados e aparecem na lista de efeitos colaterais resultantes da ingestão excessiva de vitamina A, os mais observados foram confusão, irritabilidade, ansiedade, depressão e ideação suicida. Esses efeitos centrais são mais comumente observados após a exposição crônica à vitamina A. Por outro lado, foi relatado comprometimento comportamental agudo em indivíduos que apresentaram altas concentrações de vitamina A devido ao consumo de fígado de urso. Esse comportamento alterado foi chamado de "histeria polar" e foi comparado à esquizofrenia (RODAHL, 1943; RESTAK, 1972). Não o bastante, a intoxicação aguda por vitamina A pode levar a visão embaçada e diminuição da coordenação muscular (OLSON, 2001).

Alguns aspectos da intoxicação por vitamina A podem ser facilmente avaliados, como por exemplo, através de análises da função hepática e renal (PENNISTON, 2006). No entanto, com exceção das observações morfológicas ou o consequente comportamento resultante da dor, como ocorre durante a cefaléia, é muito difícil afirmar que a exposição aguda à vitamina A não levará a sequelas que podem afetar negativamente a função neuronal posteriormente. Além disso, sexo, idade e qualidade nutricional, entre outros fatores, influenciam o grau de intoxicação de quase todos os tóxicos existentes. Dessa forma, é prudente tomar cuidado ao concluir que a ingestão prévia de vitamina A em concentrações maiores que o normal não induz disfunção posterior, principalmente na análise do ambiente neuronal, uma vez que os neurônios não se dividiram durante a idade adulta (com exceção de algumas áreas do hipocampo e outras regiões) e sua perda seria levar a alterações

irreversíveis da função cerebral (AIMONE, 2014).

Sendo assim, a neurotoxicidade foi demonstrada há bastante tempo, como um possível efeito colateral do consumo inadvertido ou mesmo sob recomendação médica de vitamina A em doses moderadas e altas. Embora, o mecanismo exato pelo qual essas moléculas exercem um papel neurotóxico ainda não seja claro.

Neste estudo experimental, as alterações eletrocorticográficas provocadas por altas doses da vitamina A nas células neuronais de ratos Wistar serão descritas através de eletrocorticografia e eletrocardiografia, e discutidas para mostrar que a vitamina A pode exercer efeitos nas áreas do cérebro que facilitam (efeito indireto) ou induzem (efeito direto) o mau funcionamento do sistema nervoso central.

1.1 HIPÓTESE

A exposição a doses suprafisiológicas de Vitamina A (Retinol) causa toxicidade ao Sistema Nervoso Central sob diversos mecanismos fisiopatológicos, podendo ser corroborada com alterações eletroencefalográficas durante a intoxicação do mesmo que podem ser identificados através do traçado eletrocorticográficos e eletrocardiográficos da predominância das forças cerebrais.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Descrever o perfil eletrocorticográfico e eletrocardiográficos mediante administração de doses suprafisiológicas de Vitamina A em ratos da linhagem Wistar através de padrões de frequência de oscilações cerebrais.

1.2.2 Objetivos específicos

- 1) Investigar as alterações eletroencefalográficas (ECoG) decorrentes da intoxicação por doses suprafisiológicas de Vitamina A.

- 2) Analisar as frequências das ondas cerebrais nas bandas: Delta, Teta, Alfa, Beta, e Gama, durante o quadro de intoxicação por Vitamina A.
- 3) Investigar as alterações da atividade cardíaca através do eletrocardiograma (ECG) decorrentes da intoxicação por doses suprafisiológicas de Vitamina A.

2. JUSTIFICATIVA

Devido a essa possível associação de vitamina A, administrados para suplementação ou tratamento de afecções, com repercussões neurológicas (SNODGRASS, 1992; OLSON, 2001; HERSHEY, 2014); esse estudo se torna imprescindível à elucidação das implicações de uso de retinol na prática clínica tanto para o paciente e o médico, comunidade científica em geral e ao sistema de saúde. O presente estudo pode se justificar pela escassez de dados na literatura os quais demonstram possíveis alterações eletrocorticográficas e eletrocardiográficas associadas a altas doses de vitamina A.

A partir do exposto acima, pela toxicidade que altas doses de Vitamina A possui, e o risco de exposição dessa substância para os seres humanos, é necessário compreender os mecanismos fisiopatológicos de lesão ao SNC. Dessa forma a monitorização do eletrocorticograma em ratos wistar pode corroborar para melhor elucidação dessas ações.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 VITAMINA A (RETINOL)

A Vitamina A foi descoberta em 1913 quando cientistas suspeitaram de sua relação com a manutenção dos epitélios e crescimento. Posteriormente, foi confirmado que ela também era essencial para a visão. Em 1930, foi possível identificar a estrutura química do retinol - composto básico do grupo da vitamina A. O retinol é um álcool, que, ao sofrer modificações químicas, pode dar origem a uma série de outros compostos, como éteres de retinol (palmitato e estearato de retinol), tretinoína (ácido retinóico) e vários outros. A estrutura básica da molécula, no entanto, não se altera, mantendo as características básicas da vitamina A.

As vitaminas A desempenham papéis importantes durante o desenvolvimento de mamíferos e a idade adulta através da manutenção de várias funções dos tecidos, incluindo o sistema nervoso central como um todo (TAFTI, 2007). Dessa forma, o retinol e seus derivados participam da regulação, da proliferação, diferenciação, sobrevivência e morte celular (desencadeando apoptose), tendo importante função na embriogênese, organogênese e fisiologia dos tecidos (DAS, 2014). Bem como, em alguns processos biológicos, incluindo, visão, estrutura e função da pele e ossos, defesas imunológicas e atividade neuronal, dependerão do acesso regular à vitamina A durante toda a vida humana (HUANG, 2014).

O β -caroteno é a principal fonte de vitamina A nos vegetais, e os ésteres de retinol (palmitato e estearato de retinol) são a principal fonte de vitamina A em animais (VAN LOO-BOUWMAN, 2014). Após a digestão, o retinol (de origem vegetal ou animal) e os retinóides devem se ligar às proteínas para serem solúveis em soluções aquosas como sangue e citosol (NAPOLI, 2012). O retinol é convertido em retinal ou em ácido retinóico através da oxidação do grupo hidroxila (OLSON, 2001). No organismo humano a vitamina A pode ser encontrada de três formas, retinol, retinal e ácido retinoico, sendo o último o principal e mais abundante metabólito intracelular em mamíferos (ZANOTTO-FILHO, 2009).

3.1.1 Síntese e obtenção do retinol e estrutura química

A síntese de retinol é restrita às plantas e a alguns microorganismos (GOODWIN,

1963). A partir da dieta, os animais têm acesso a vitamina A, sob a forma de pró- vitamina A, ou como vitamina A pré-formada. Os carotenóides são uma das formas de pró-vitamina A (origem vegetal) mais comumente encontradas na dieta, ao passo que a principal forma de vitamina A pré-formada encontrada na dieta é o retinol esterificado com ácidos graxos de cadeia longa (estearato ou palmitato), o qual pode ser obtido através de uma dieta composta de fígado, leite e derivados (OLSON, 2001).

Quando o precursor retinóide é o betacaroteno, a formação do retinol ocorre por meio de dois passos enzimáticos envolvendo a clivagem do betacaroteno em duas moléculas de retinal catalisado pela betacaroteno monoxidase, e a subsequente oxidação do ácido retinol a ácido retinóico pela retinaldeído desidrogenase. Porém, quando precursor da vitamina são os ésteres de retinol (origem animal) estes são hidrolisados no lúmen intestinal, por enzimas pancreáticas e da mucosa intestinal, a retinol e ácido graxos, conhecido como estearato ou palmitato. Seja qual for a molécula precursora o retinol recém-formado, este será absorvido pela mucosa intestinal e novamente esterificado a éster de ácidos graxos de cadeia longa através da enzima lecitina retinol acetiltransferase o LRAT (MCDONALD, 1988). Os ésteres resultantes são incorporados aos quilomícrons e liberados no sistema linfático (HARRISON, 2001).

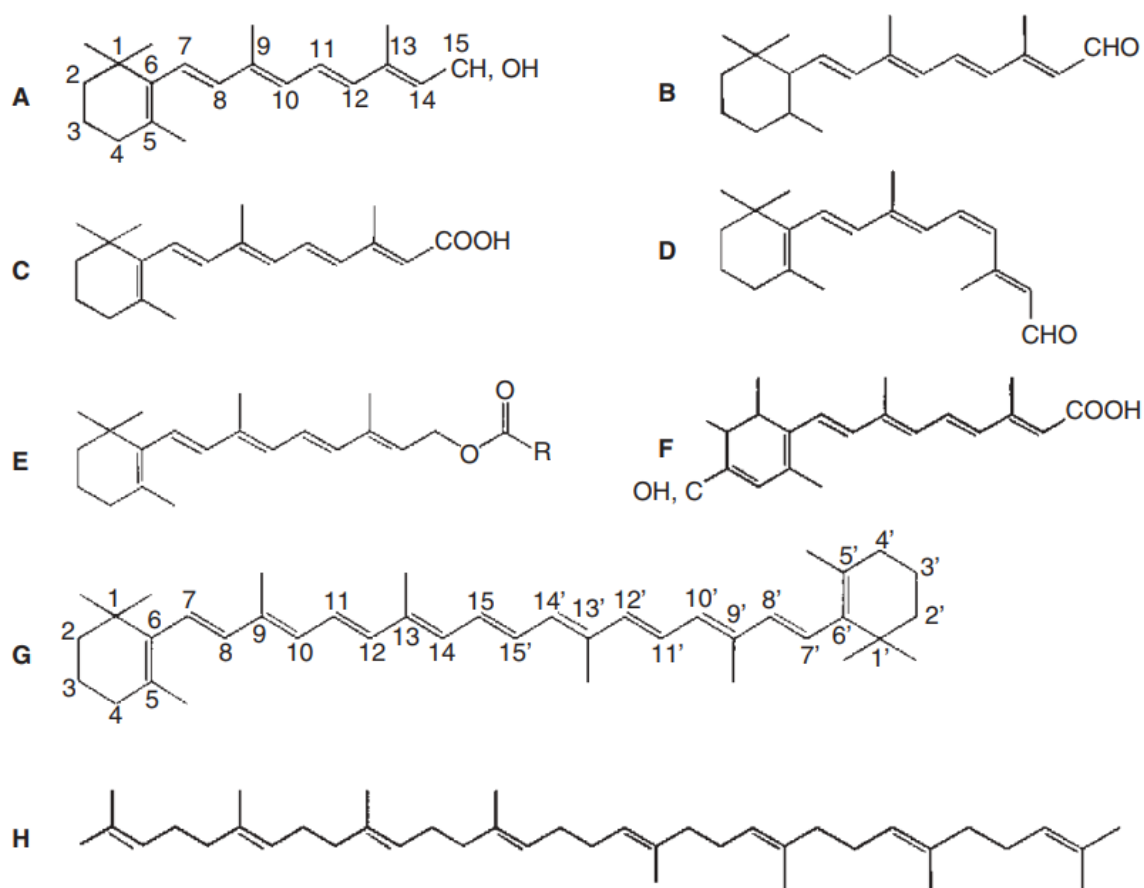
O retinol pode ser esterificado por lecitina retinol aciltransferase (LRAT) ou acil-Coa acil transferase (ARAT), levando à formação de palmitato retinol, bem como outras formas químicas, por exemplo, oleato de retinol, linoleato de retinol e muito mais (SAUVANT, 2003). Os ácidos retinóicos (principalmente ácido all- trans- retinóico e ácido 9- cis-retinóico) exercem seus efeitos pela ligação a receptores que atuam como fatores nucleares quando translocados para o núcleo (NAPOLI, 1996). No entanto, um crescente corpo de evidências mostra que o retinol e os retinóides podem desencadear sinais específicos através de eventos não genômicos (ROCHETTE, 2015).

A estrutura molecular da vitamina A foi determinada em 1931 por Karrer e colaboradores que propuseram o nome de axeroftol para a mesma, baseado na ação preventiva da vitamina A contra a xerofthalmia, uma afecção caracterizada pelo ressecamento e espessamento da conjuntiva. Wald (1934) isolou da retina animal uma substância por ele denominada de retinina. Mortom, em 1944, afirmou que este composto era um aldeído da vitamina A e o denominou de retinaldeído ou retinal (GUNDERSEN, 2001).

A vitamina A ou retinol é um isoprenóide contendo uma cadeia de hidrocarbonetos com um grupo hidroxila em uma extremidade da molécula que pode ser obtida por meio da

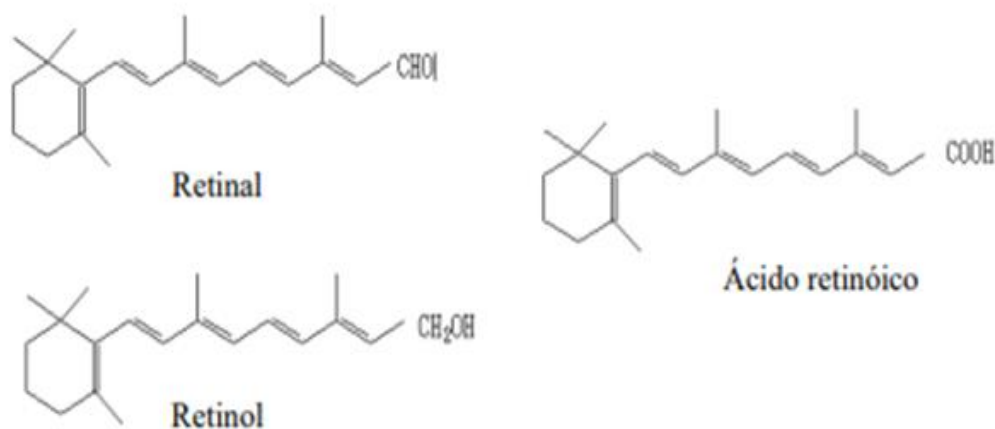
dieta vegetal na forma de da chamada “provitamina A”, designação dada a vários carotenóides, cujo membro de maior impacto na dieta humana é o B-caroteno (**FIGURA 1, F**) e da dieta animal na forma de vitamina A pré-formada, também cujos principais membros são os ésteres de retinol, com destaque para o palmitato de retinol (**FIGURA 1, E**), que é encontrada em peixes de água doce e anfíbios (OLSON, 2001; NAPOLI, 2012).

FIGURA 1 - Principais moléculas que compõem a vitamina A.



Fonte: Present Knowledge in Nutrition, 10a ed. p. 150. (A) All-trans-retinol; (B) all-trans-retinal; (C) ácido all-trans retinóico; (D) 11-cis-retinal; (E) ésteres de retinol, principalmente palmitato de retinol; (F) all-trans β-caroteno; (G) ácido trimetil metoxifenol retinoico (etrin, acitretin); (H) licopeno.

FIGURA 2 - Estrutura química de alguns dos principais retinóides com atividade de vitamina A.



Fonte: http://www.cromatografialiquida.com.br/Arquivos/Suellen_dissertacao.pdf

3.1.2 Metabolismo da vitamina A

3.1.2.1 Absorção

As vitaminas lipossolúveis, dentre elas a vitamina A, são absorvidas quando há presença de lipídeos, bile e suco pancreático, que de forma semelhante a outros lípidos da dieta, formará micelas que permitirão a absorção através da mucosa do intestino delgado (ZANOTTO-FILHO, 2009; REBOUL, 2019).

Quando adquirida através de alimentos de origem animal, a vitamina A é mais comumente consumida sob a forma de palmitato de retinila. Para que possam ser absorvidos no intestino delgado estes ésteres sofrem uma hidrólise catalisada pela enzima retinil éster hidrolase, situada na superfície externa da membrana celular da mucosa intestinal, formando retinol. Esse retinol produzido é absorvido, através de células da mucosa por processo ativo, para o interior da célula, onde se liga a uma proteína citoplasmática de ligadora de retinol (CBRP), e posteriormente volta a combinar-se com um ácido graxo, geralmente o palmitato ou o estearato, gerando novamente um éster de retinil como palmitato de retinol, que será transportado pelos quilomícrons (ZANOTTO-FILHO, 2009).

Já quando o precursor retinóide ingerido ocorre tem origem vegetal, como o betacaroteno, ocorre a entrada no enterócito ou por difusão passiva ou através de

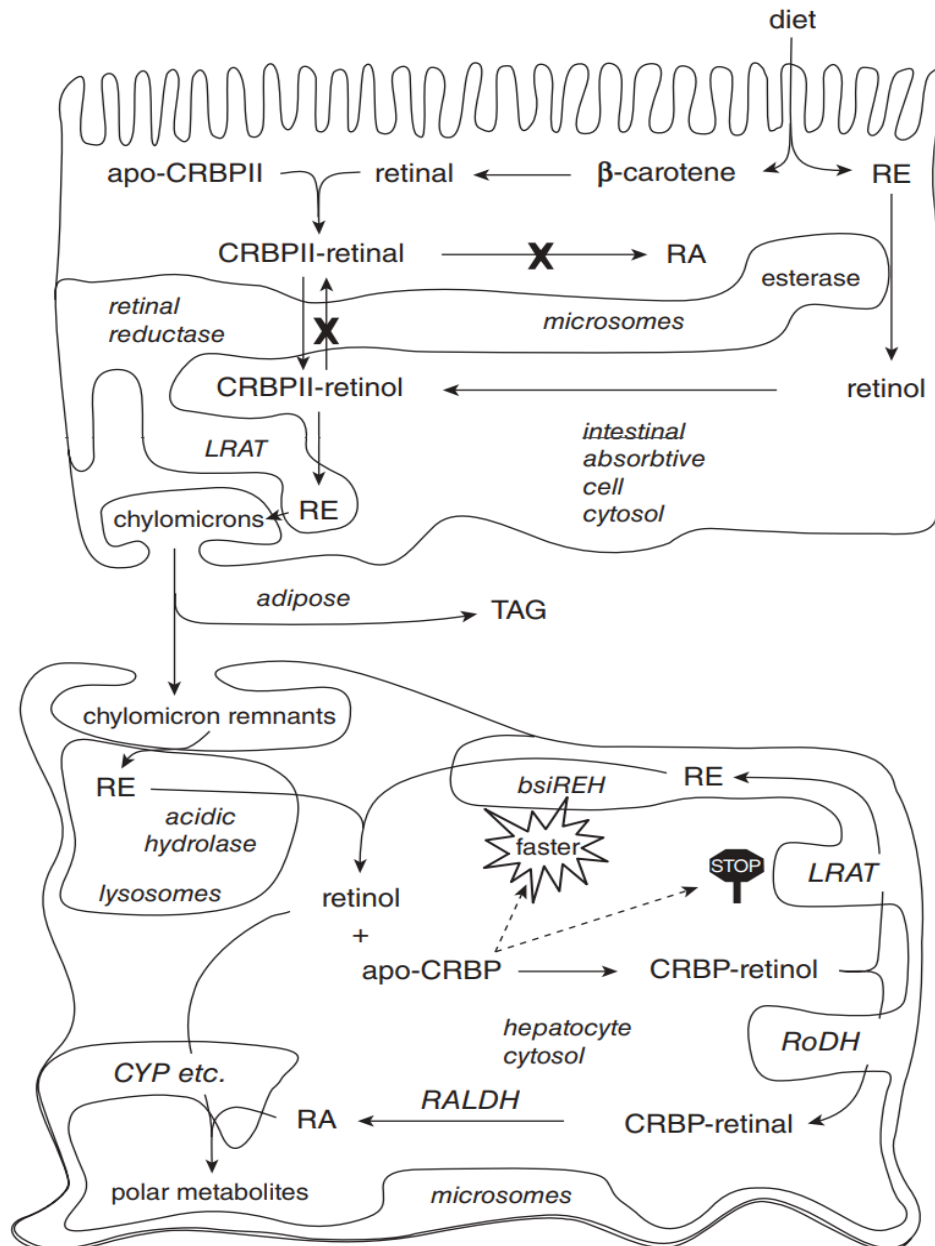
transportadores lipídicos localizados na borda em escova dos enterócitos. Dentro do citoplasma a formação de retinol ocorre através da clivagem de beta-caroteno em duas moléculas de retinal através da β -caroteno oxigenase 1, e se vincula a uma CBRP. O retinal assim produzido é posteriormente convertido a retinol e esterificado a ésteres de retinol como palmitato de retinol pela lecitina retinol acetil transferase (LRAT), que também será transportado pelos quilomícrons (REBOUL, 2019). Cabe ressaltar que a ligação de retinal a CBRP previne a oxidação de retinol e retinal, que geraria retinal e ácidos retinóicos, respectivamente. Portanto, a CBRP leva a uma otimização da formação de ésteres de retinol (SOLOMON, 2012).

Os quilomícrons são as principais lipoproteínas intestinais. Estas grandes lipoproteínas (100 – 2000 nm de diâmetro) consistem em agregados de milhares de moléculas de triacilglicerol e fosfolipídios unidas a ésteres de retinila e outras vitaminas lipossolúveis, ésteres colesteril e algumas poucas apolipoproteínas específicas, de modo característico (ITF, 2021).

O éster de retinil é então transportado, nos quilomícrons, junto com outros lipídeos como triglicerídeos, fosfolipídeos e colesterol, através do sistema linfático e da corrente sanguínea até o fígado, onde é armazenado. As reservas de vitamina A no fígado são hidrolisadas pelas enzimas em retinol livre que é transportado por um complexo proteico ligante de retinol (Retinol Binding Proteins - RBP) aos tecidos do organismo onde existirem necessidades metabólicas.

A vitamina A na forma de retinol é tóxica ao organismo humano, por este motivo sempre que é transportada aos tecidos deve estar ligada a RBP e quando no meio intracelular encontra-se ligada a CBRPs (ZANOTTO-FILHO, 2009; SOLOMONS, 2012).

FIGURA 3 - Modelo de absorção e metabolismo hepático do retinol.



Fonte: Present Knowledge in Nutrition, 10a ed. p. 155. (RE) ésteres de retinol; (RA) ácido retinóico; (TAG) triacilglicerol; (CRBP) Proteínas citoplasmáticas ligadoras de retinol; (LRAT) lecitina retinol aciltransferase; (bsiREH) bile sais-independent RE hidrolase; (RoDH) retinol desidrogenase; (RALDH) retinal desidrogenase; (CYP) citocromo P450.

3.1.2.2 Distribuição tecidual

Uma vez no sistema linfático, os ésteres de retinol nos quilomícrons tornam-se biodisponíveis a todos os tecidos. Nos tecidos extra-hepáticos, algumas células absorvem

retinol pela ação da lipase lipoprotéica, que cliva os ésteres de retinol liberando o retinol no meio intracelular (MIANO, 2000). Nesses tecidos, o retinol pode ser oxidado a ácido retinóico, ou estocado sob a forma de ésteres de retinol em gotas de gordura. Os quilomícrons remanescentes são captados pelo fígado. Junto com o fígado, algumas células testiculares como as células de Sertoli, também possuem alta capacidade de estocar retinol.

Além disso, o retinol em excesso também é captado pelas células hepáticas estreladas, onde é reesterificado pela ação da acil-coa: retinol aciltransferase (ARAT) e pela LRAT, sendo armazenado em gotas lipídicas no citosol. As células estreladas hepáticas armazenam cerca de 80% do retinol presente no organismo. O retinol hepático (REH) é mobilizado através da ação de uma REH nas células estreladas hepáticas, e o retinol hidrolisado é complexado com proteínas ligadoras de retinol plasmáticas (retinol binding proteins, RBP) nos hepatócitos, e secretados na circulação (SOPRANO, 1994).

Os quilomícrons atingem então a circulação geral via linfa intestinal e quilomícrons remanescentes são formados como resultado da hidrólise do triacilglicerol e da troca de apolipoproteínas nos vasos capilares. Os quilomícrons remanescentes são removidos principalmente pelo fígado, mas sua captação extra-hepática é importante na distribuição do Palmitato de Retinol para os tecidos com intensa proliferação e diferenciação celular, tais como medula óssea e baço. Tem sido demonstrado que os leucócitos periféricos obtêm ésteres de retinila desta fonte, e sido sugerido que as células pulmonares também obtêm ésteres de retinila através dela (ITF, 2021). O fluido lacrimal também contém Palmitato de Retinol ligado a proteína plasmática específica de ligação ao retinol (PLR), o qual é provavelmente a fonte de vitamina A do epitélio ocular absolutamente dependente (ITF, 2021).

As RBP são as principais proteínas envolvidas no transporte extra-hepático de retinol. Uma vez nos tecidos extra-hepáticos, o retinol é captado pelas células e pode ter diversos destinos metabólicos. Neste contexto, foram propostos dois modelos de captação de retinol pelos tecidos extra-hepáticos, embora, atualmente, o mecanismo exato ainda permaneça desconhecido. O primeiro modelo propõe que o passo-limitante da captação de retinol é a lenta dissociação do complexo retinol-RBP no ambiente extracelular (HUSSAIN, 2001); o segundo sugere uma captação mediada por receptor de membrana específico para o complexo retinol-RBP, embora este receptor ainda não tenha sido descrito (ROSS, 1993). Uma vez dentro das células, o retinol complexa-se novamente com as CRBPs.

O retinol citoplasmático pode ter diversos destinos metabólicos, dependendo do tipo e das funções de cada tipo celular. Em células da retina, o retinol é oxidado a 11-cis- retinal, o

qual tem um papel central na transmissão do estímulo visual. No hepatócito, o retinol pode ser metabolizado pelo complexo citocromo P450 (NOY, 2000), ao passo que, em testículos, a formação de ácido retinóico a partir do retinol através de dois passos enzimáticos envolvendo a retinol desidrogenase e a retinaldeído desidrogenase tem um papel fundamental na manutenção das funções reprodutivas masculinas (SPORN, 1994). O ácido retinóico (forma *all trans*) formado pode, ainda, ser isomerizado a formas *cis*, como o ácido 9-*cis* retinóico, ou ser degradado pela ação de enzimas da família 26 do complexo citocromo P450 (NOY, 2000).

3.1.2.2.1 Transporte através da barreira hemato-encefálica

Macdonald e colaboradores (1990) mostraram por meio de teste com imunohistoquímicas, a presença de CRBP em tecidos cerebrais humanos e de ratos, e também observou a presença dessa proteína, especificamente, nas células endoteliais da microcirculação sanguínea cerebral, bem como, em células epiteliais cubóides do plexo coróide. Sendo estes, os dois principais locais mais vulneráveis da barreira hemato-encefálica em mamíferos, além de sítios de ligação para CRBP no epitélio coróide. Por isso, se acredita na movimentação significativa de retinol através da barreira hemato-encefálica.

3.1.2.2.2 Armazenamento

Os locais de armazenamento de vitamina A em mamíferos são o fígado e o tecido adiposo (VAN LOO-BOUWMAN, 2014). O conteúdo de vitamina A no fígado de humanos adultos é de cerca de 100 µg / g (equivalentes a 333,3 UI / g) (FURR, 1989). Há relatos de que concentração de aproximadamente 300 µg / g (equivalentes a 1000 UI / g) de vitamina A, no fígado, revela intoxicação (OLSON, 2001).

O principal órgão de armazenamento de vitamina A é o fígado, com 80% da vitamina do corpo no fígado, e 50% – 80% disso localizado nas células estreladas de armazenamento de gordura (SENOO, 2010). Os ésteres de retinil recém-absorvidos são embalados em quilomicra, circulam pela linfa mesentérica para o sistema de circulação sistêmica e eventualmente absorvida pelas células do fígado (hepatócito) (NAPOLI, 1999), como mostrado na **FIGURA 3**. Sua captação pelo fígado segue o metabolismo normal e degradação

dos quilomícrons em seus remanescentes. Envelhecimento retarda muito a taxa de depuração de ésteres de retinil da circulação.

3.1.2.3 Funções metabólicas da vitamina A

A vitamina A tem três funções metabólicas conhecidas: como grupo prostético dos pigmentos visuais, carreador de unidades manosil na síntese de glicoproteínas hidrofóbicas e como um hormônio com ação no núcleo, no controle da proliferação e diferenciação celular. O ácido retinóico tem função específica própria, distinta do retinol (COZZOLINO, 2016).

Os testículos e o útero contêm RBP (retinol-binding protein) celular para retinol e ácido retinóico, e ambos são essenciais para a função desses órgãos. Embora o ácido retinóico garanta a síntese de testosterona, ele não garante a espermatogênese nem o desenvolvimento da placenta em experimentos com animais deficientes em vitamina A (COZZOLINO, 2016).

O retinol e seus derivados participam da regulação, da proliferação, diferenciação, sobrevivência e morte celular - desencadeando apoptose - levando à formação da forma normal do embrião, organogênese e fisiologia do tecido (DAS, 2014). Importante ressaltar, que alguns processos biológicos, incluindo, por exemplo, visão, estrutura e função da pele e ossos, defesas imunológicas e atividade neuronal, dependerão do acesso regular à vitamina A durante toda a vida humana (HUANG, 2014).

O retinol e o ácido retinóico têm ações distintas nas células de ossos em cultura, portanto ambos são necessários para o desenvolvimento normal dos ossos. O retinol inibe a síntese de colágeno, ao passo que o ácido retinóico estimula a síntese de proteínas não colágenas. A vitamina A desempenha papéis importantes durante o desenvolvimento de mamíferos e a idade adulta, através da manutenção de várias funções dos tecidos, incluindo o sistema nervoso central como um todo (TAFTI, 2007).

Na verdade, o ácido retinoico é encontrado no interior das células, onde desempenha funções relacionadas ao ciclo celular. Sendo assim a modulação da expressão gênica pelo ácido retinóico é mediada pela ativação dos receptores nucleares para hormônios esteróides/tireoidianos/vitamina D, que são divididos em dois grupos os receptores de ácido retinóico (Retinoic Acid Receptors - RAR) e receptores X retinóides (Retinoid X Receptor - RXR). Dessa forma, a ativação destes receptores depende da interação entre a molécula retinóide e seu sítio de ligação no respectivo receptor. No entanto, é sabido que o retinol e o

retinal possuem baixa atividade pelos receptores nucleares para retinóides, servindo basicamente como precursores diretos do ácido retinóico *in vivo*. Mesmo assim, a ligação do ácido retinóico formado a partir do retinol aos RAR promove a interação deste receptor com RXR, e o heterodímero formado, pode então ligar-se a regiões do ácido desoxirribonucléico (DNA) responsivas ao ácido retinóico denominadas elementos responsivos ao ácido retinóico (retinoic acid response elements - RARE), modulando a expressão gênica, produzindo alterações biológicas significativas através de ativação gênica, transcrição, tradução e acumulação de novas proteínas (ZANOTTO-FILHO, 2009).

3.1.2.4 Mecanismo de ação

3.1.2.4.1 Ação Clássica – Nuclear ou genômica

Durante muito tempo, a comunidade científica detinha o consenso de que todas as ações celulares da vitamina A eram mediadas pela ativação de receptores nucleares, os quais agiriam diretamente como fatores de transcrição modulando a expressão gênica e regulando processos como a diferenciação e o crescimento celular. Esse mecanismo foi elucidado a partir de 1987, com a clonagem dos receptores nucleares para retinóides, e a identificação dos elementos responsivos (A/G)G(G/T)TCA-(n)-(A/G)G(G/T)TCA contendo alta afinidade por esses receptores na região promotora de diversos genes (CHAMBON, 1994). Esses receptores pertencem à grande família de receptores nucleares para hormônios esteróides/tireoideanos/vitamina D, e são subdivididos em dois grupos: RAR (retinoic acid receptors) and RXR (retinoid X receptors). Os receptores RAR e RXR possuem 3 isoformas, alpha, beta e gama, sendo codificadas por diferentes genes, e podendo interagir na forma de homo e heterodímeros. Isso proporciona uma gama de possibilidades de combinação, as quais podem regular diferentes genes e desencadear efeitos biológicos muito distintos (KASTNER, 1997).

A modulação da expressão gênica pela vitamina A é mediada pela ativação de RARs e RXRs a qual é dependente da interação entre a molécula retinóide e seu sítio de ligação no respectivo receptor. Entre os metabólitos do retinol, o ácido retinóico é o que detém a maior importância biológica, sendo citado em muitos trabalhos com a “forma ativa da vitamina A” (ZILE, 2001). O retinol e o retinal possuem baixa afinidade pelos receptores nucleares para

retinóides, servindo basicamente como precursores diretos do ácido retinóico *in vivo*. A ligação do ácido retinóico formado a partir do retinol aos RAR promove a interação deste receptor com RXR, e o heterodímero formado pode, então, ligar-se a regiões do DNA responsivas ao ácido retinóico denominadas RARE (retinoic acid response elements), modulando a expressão gênica (MANGELSDORF, 1995). Os eventos modulados pela ação genômica da Vitamina A podem demorar horas ou, até mesmo, dias para produzir alterações biológicas significativas, uma vez que estes preconizam ativação gênica, transcrição, tradução e acumulação de novas proteínas (AGGARWAL, 2006). Esse mecanismo de ação via receptores retinóides RAR/RXR é referido, atualmente, como mecanismo “genômico”, ou “clássico”, de ação biológica dos retinóides.

3.1.2.4.2 Ações não-clássicas – Não-genômicas

O tratamento com retinóides pode induzir a ativação rápida de fatores citoplasmáticos em um mecanismo independente da ativação gênica mediada pelos receptores retinóides, e da síntese de novas proteínas. Esses efeitos são caracterizados principalmente pela sua insensibilidade aos inibidores da transcrição e síntese proteica (siRNA), bem como pela velocidade de ação incompatível com o tempo necessário para se observarem alterações dependentes da ativação/supressão gênica. Tais mecanismos têm sido denominados “não-genômicos” ou “não clássicos”. Aggarwal e colaboradores (2006) demonstraram que o tratamento com ácido retinóico (1 μ M) induziu uma rápida ativação de ERK1/2 em células com RAR e RXR silenciados por siRNA, sugerindo que os receptores retinóides não são requeridos na ação do ácido retinóico sobre a ERK1/2.

Hoyos e colaboradores (2000) caracterizaram sítios de ligação para retinol em PKC (proteína quinase C) e c-Raf, cuja ligação promove a ativação dessas vias de sinalização classicamente citosólicas. Estes fenômenos indicam que os retinóides são capazes de exercer funções de maneira independente da ativação dos seus receptores nucleares. Além disso, observou-se que outros agonistas de receptores nucleares como hormônios esteróides, vitamina D e hormônios da tireóide também exercem funções similares (PEDRAM, 2002). Atualmente, tem-se sugerido que estas ações não-genômicas da vitamina A possuem uma importância fisiológica que permaneceu negligenciada durante muito tempo. Por exemplo, estudos demonstraram que o ácido retinóico pode bloquear canais de potássio em linfócitos (SIDELL, 1986) e ativar canais de cálcio em células de Sertoli (WASSERMANN, 1995).

Estudos mais recentes têm demonstrado que o tratamento com retinóides afeta significativamente o estado de ativação de diversas vias de sinalização celular como as MAPKs, PKB/Akt e CREB (GELAIN, 2006; MASIÁ, 2007).

Masiá e colaboradores (2007) demonstraram que a ativação rápida e não- genômica de PKB é requerida para a diferenciação neuronal induzida por ácido retinóico em células SHSY-5Y. Recentemente, foi demonstrado que o tratamento com retinol induz a ativação por fosforilação da tirosina hidroxilase, a enzima marca-passo da síntese de catecolaminas, em um mecanismo mediado por ERK e PKC em células cromafins (GELAIN, 2008). Nesse estudo foi demonstrado o envolvimento de espécies reativas de oxigênio na ativação de ERK e PKC por retinol.

O mecanismo de ação não-genômica mediado por espécies reativas de oxigênio foi também observado em modelos de células de Sertoli, nas quais a ativação não-genômica de ERK1/2 modulou fenômenos de transformação fenotípica (GELAIN, 2006). Apesar de inovadores, esses estudos não contemplaram a possibilidade de outros retinóides como, por exemplo, o ácido retinóico também possuem ações não-genômicas mediadas por espécies reativas. Considerando importantes eventos celulares modulados por ações não-clássicas, acreditamos que o melhor entendimento das ações não-genômicas da vitamina A pode ter um papel importante na elucidação das ações biológicas deste micronutriente.

3.1.2.5 Metabolismo hepático

Embora o catabolismo do Palmitato de Retinol e do ácido retinóico tenha sido, minuciosamente investigados, ainda não foi bem compreendida a contribuição quantitativa destas duas vias, dos intermediários, assim como, das enzimas envolvidas. A maior parte do catabolismo do Palmitato de Retinol envolve a produção de ácido retinoico como um intermediário que não pode ser reconvertido ao Palmitato de Retinol ou retinal (ITF, 2021).

Alguns metabólitos mais polares também são formados a partir do Palmitato de Retinol e parte deles foi identificada. O citocromo P450 parece estar envolvido nesta conversão. Glucuronídeos também são formados a partir do Palmitato de Retinol para excreção biliar e solubilizados para excreção urinária (ITF, 2021).

3.1.2.6 Eliminação

A via preferencial de excreção dos metabólitos da vitamina A do corpo humano é por meio da bile. Em modelos de roedores (SKARE, 1983; HICKS, 1984), a vitamina A é excretada com concentração fixa na bile, com perdas líquidas dependendo do volume biliar. Com o aumento das reservas hepáticas, a produção aumenta de maneira responsiva (SKARE, 1983). A perda fracionária de vitamina A na urina é minúscula em circunstâncias normais. No entanto, frente a situações patológicas como: eclâmpsia, insuficiência renal aguda, mieloma múltiplo e infecções febris, aumentam as perdas urinárias de vitamina A. Se estima que de 20% a 40% da reserva hepática de vitamina A de uma criança possa ser perdida durante a diurese em períodos com episódio de diarreia (MITRA, 2002).

3.1.3 Recomendações de dose da vitamina A

A ingestão dietética recomendada (RDA) para homens adultos foi fixada em 900 µg/dia de equivalentes de retinol (equivalentes a 3000 UI/dia), com recomendação fisiológica mínima de equivalente de atividade de retinol (EAR) de 627 µg/dia (equivalentes a 2090 UI/dia) (HARRISON, 2005). Como os sinais da deficiência aparecem vagarosamente, se acredita que os estudos de depleção/repleção superestimam as recomendações.

No estudo de Fenaux (2001), doses terapêuticas de vitamina A, variando de 150.000 a 300.000 UI / kg. dia⁻¹ ou mais, foram utilizadas no tratamento de crianças leucêmicas de diferentes idades com resultados positivos. Fisker em 2014 fez uso da suplementação de vitamina A de 100.000 a 200.000 UI para tratar crianças, na tentativa de prevenir a mortalidade na Guiné-Bissau. Além disso, a vitamina A em doses superiores a 8500 UI / kg.dia foi administrada em prematuros com muito baixo peso durante a terapia de ganho de peso (MACTIER, 2005).

A OMS (2011) recomendou a suplementação em crianças de 6 a 59 meses de idade, na forma de suplemento único de 100.000 UI (em crianças de 6 a 11 meses) e 200.000 UI (em crianças de 12 a 59 meses) a cada 4 a 6 meses, em forma oleosa oral em populações com uma prevalência de 1% de cegueira noturna, retinol sérico menor que 20% do esperado para indivíduos sem hipovitaminose, ou igual a 0.70 µmol/l (equivalente a 666,6 UI/l ou 3330,83 UI em um indivíduo com volemia de 5 L). Também foi, recomendado para reduzir, a morbimortalidade e a cegueira noturna, suplementação de vitamina A na forma de xarope

oleoso, em dose diária de 10.000 UI ou semanal de 25.000 UI, em mulheres com um mínimo de 12 semanas até o parto (OMS, 2011a).

3.1.4 Aplicação clínica da vitamina A

A presença de vitamina A no organismo em doses adequadas, é essencial para o processo de crescimento ósseo e dos dentes, segundo Mason (1994). Também, desempenham um papel de extrema importância, no processo de visão, sendo necessária na síntese de rodopsina, um pigmento da retina, e a recepção da Luz de fraca intensidade (visão corpuscular), e ao funcionamento normal das células epiteliais (FALÉ, 2002).

Ademais, a vitamina A desempenha, também, um papel essencial na diferenciação celular proliferação e homeostase (JENNING, 2000). O retinol apresenta, entre outros, o papel fundamental sobre a manutenção da saúde da pele, no que diz respeito às afecções dermatológicas, tais como: acnes nodular cística, dermatites (JEE, 2006), bem como em outros tipos de afecções cutâneas, por exemplo, a pitíriase rubra, a queratose e lúpus eritematoso, já descrito, por Diniz (2002).

De acordo com Instituto de Tecnologia em Fármacos (2021), que produz o suplemento Farmanguinhos Vitamina A ®, que consta nos registros de consultas ANVISA (2021), o Palmitato de Retinol é destinado ao tratamento da deficiência de vitamina A quando esta ocorrer como resultado de transporte ou armazenamento alterado em pacientes com abetalipoproteinemia, deficiência protéica, diabetes *mellitus*, hipertireoidismo, febre, doenças hepáticas ou fibrose cística com envolvimento hepático. Além disso, também, deve ser administrado nos casos de hipovitaminose A (deficiência de vitamina A), caracterizada por lesões oculares próprias da deficiência desta vitamina, como: cegueira noturna, xerofthalmia (ressecamento dos olhos), ceratomalácia (amolecimento da córnea, que se torna seca e opaca) e manchas de Bitot (manchas oculares brancas acinzentadas), além de ressecamento da pele e deficiência de crescimento (ITF, 2021).

3.1.5 Interações medicamentosas

A vitamina A tem o potencial de interagir com certos medicamentos por antagonismo ou sinergismo. Vários tipos de medicamentos podem afetar negativamente os níveis de

vitamina A, principalmente os inibidores da lipase, onde seu efeito é reduzir absorção de lipídios, e conseqüentemente, reduz absorção das vitaminas lipossolúveis (vitamina A, D, E, K e betacaroteno). Como por exemplo: Orlistat (Xenical®), amplamente utilizado no tratamento para perda de peso, pode diminuir a absorção de vitamina A, outras vitaminas lipossolúveis e betacaroteno, resultando em baixos níveis plasmáticos em alguns pacientes (ZHI, 1996). Os fabricantes de Xenical® recomendam que os pacientes em uso de orlistat tomem um suplemento multivitamínico contendo vitamina A e betacaroteno, bem como outras vitaminas lipossolúveis (GENENTECH USA, 2017).

Vários retinóides sintéticos derivados da vitamina A são usados por via oral como medicamentos prescritos. Exemplos incluem o tratamento de psoríase Acitretina e a Isotretinoína usado no tratamento de formas graves acne ou nas formas resistentes de acne. Os retinóides podem aumentar o risco de hipervitaminose A quando tomados em combinação com suplementos de vitamina A (EMS, 1999; ANVISA, 2021).

3.1.6 Efeitos adversos da vitamina A

A vitamina A é solúvel em gordura e que pode ser ingerida como moléculas pré-formadas (vitamina A ativada) ou como precursores da vitamina A (“provitamina A”) chamados carotenóides, que o corpo converte em retinóides. Sendo assim, a vitamina A pré-formada é derivada naturalmente de produtos de origem animal e a sua toxicidade resulta da ingestão excessiva dessa vitamina A pré-formada, e não da exposição aos precursores da vitamina A. Logo, a eficiência de absorção da vitamina A pré-formada através das proteínas de transporte intestinal é alta – na faixa de 70% a 90% independentemente da quantidade ingerida. Sendo mais frequente efeito adverso pela ingestão de vitamina A pré-formada do que pela ingestão de pro-vitamina A, visto que, somente de 8 a 22% da quantidade ingerida é absorvida (NIH, 2022).

Os parâmetros mais comuns analisados nos casos de intoxicação por vitamina A incluem a observação de sinais e sintomas agudos, entre os quais náusea, vômito, diarreia, dor de cabeça, abaulamento da fontanela em bebês (como resultado do aumento da pressão intracraniana), e febre, para citar alguns (LAM, 2006).

Em 1992, Snodgrass relatou que distúrbios relacionados às funções nervosas também foram relatados e aparecem na lista de efeitos colaterais resultantes da ingestão excessiva de vitamina A, os mais observados foram confusão, irritabilidade, ansiedade, depressão e

ideação suicida. Esses efeitos centrais são mais comumente observados após a exposição crônica à vitamina A. Por outro lado, foi relatado comprometimento comportamental agudo em indivíduos que apresentaram altas concentrações de vitamina A devido ao consumo de fígado de urso. Esse comportamento foi chamado de "histeria polar" e foi comparado à esquizofrenia (RESTAK, 1972).

Alguns aspectos da intoxicação por vitamina A podem ser facilmente avaliados, como por exemplo, através de análises da função hepática e renal (PENNISTON, 2006). No entanto, com exceção das observações morfológicas ou o consequente comportamento resultante da dor (como ocorre durante a cefaléia), é muito difícil afirmar que a exposição aguda à vitamina A não levará a sequelas que podem afetar negativamente a função neuronal posteriormente (AIMONE, 2014).

O retinol é tóxico nas formas aguda e crônica. Na forma aguda, altas doses de retinol causam náuseas, vômitos, dor de cabeça e aumento da pressão no fluido cerebrospinal; sinais que desaparecem dentro de poucos dias. Doses extremamente altas podem ser fatais. (COZZOLINO, 2016).

A toxicidade crônica de vitamina A é a causa mais comum de preocupação. Ingestões habituais e prolongadas superiores a 7,5 a 9 mg/dia (equivalentes a 25.000 e 30.000 UI/dia) para adultos, causam sinais de toxicidade, afetando o sistema nervoso central manifestando sinais e sintomas como: cefaléia, náusea, ataxia e anorexia, todas associadas com o aumento da pressão do fluido cerebrospinal; no fígado (hepatomegalia, hiperlipidemia e mudanças histológicas, incluindo aumento da formação de colágeno), nos ossos (dores nas articulações, espessamento dos ossos longos, hipercalcemia e calcificação de tecidos moles) e na pele (secura excessiva, descamação e rachaduras, descamação e alopecia) (COZZOLINO, 2016).

3.1.6.1 Hipervitaminose A aguda

A quantidade de vitamina A necessária para produzir hipervitaminose A varia, pois diversos fatores estão relacionados tais como: estado nutricional, idade, forma farmacêutica, via de administração, além da presença de comorbidades. Toxicidade aguda ocorre quando o adulto ou a criança ingere de 20 a 100 vezes a Ingestão Dietética Recomendada (RDA) de vitamina A em um período de horas a dias (OLSON, 2001).

A intoxicação aguda é caracterizada clinicamente por cefaléia intensa, tontura, hepatomegalia, vômitos, irritabilidade, sonolência, além de afecções na pele, mucosas e anexos. Outros sintomas produzidos por uma única superdose incluem sintomas gastrintestinais (dor abdominal, náusea e vômitos) e de pseudotumor cerebral que se traduzem em cefaléia, tontura, letargia (rebaixamento do nível de consciência) e edema de papila (SHEKELLE, 1981) e em crianças, pode ocorrer também abaulamento transitório da fontanela seguido por uma descamação generalizada da pele. Geralmente os sinais e sintomas de toxicidade de vitamina A se resolvem rapidamente após a interrupção do tratamento.

3.1.6.2 Hipervitaminose A crônica

A ingestão crônica de vitamina A até níveis de 10 a 20 vezes maiores que a dose diária recomendada pode levar à hipervitaminose A. A dose tóxica efetiva depende da idade, dose e duração do tratamento. Em adultos, a ingestão crônica de mais de 30 mg por dia de retinol (equivalentes a 100.000 UI/dia) frequentemente leva à hipervitaminose A, entretanto, sintomas leves podem aparecer com a ingestão crônica, em níveis baixos como 10mg por dia (equivalentes a 33.000 UI/dia). Em crianças a intoxicação pode ocorrer com doses ainda mais baixas de retinol (PENNISTON, 2006)

Os sintomas de intoxicação crônica por vitamina A são diversos e variáveis e, incluem cefaleia, náuseas e vômitos (devido ao aumento da pressão intracraniana), dor óssea, sinais e sintomas cutâneos mucosos, hepatomegalia, hipercalcemia e alterações hematológicas (MORRICE JR, 1960). A hipercalcemia pode ser facilmente visualizada em causar alterações no eletrocardiograma, sobre tudo na duração do segmento S-T e do intervalo Q-T, devido a alterações na duração do "plateau" do potencial de ação (HALL, 2011). Pode também ocorrer ressecamento da pele com prurido, dermatite eritematosa, fissuras labiais, anorexia, edema, hemorragia, irritabilidade e fadiga. Outros sintomas incluem sudorese noturna, desconforto abdominal, retardo do crescimento, fechamento prematuro das epífises, vertigem, alopecia, descamação da pele, aumento da pigmentação, inflamação da língua, lábios e gengiva (ITF, 2021).

Reações hepatotóxicas estão presentes em cerca de metade dos casos de hipervitaminose A crônica. Além dos sinais clínicos como hepatoesplenomegalia, nevus telangiectásicos, leuconíquia, eritrose palmar e icterícia, há aumento das transaminases hepáticas (as enzimas aspartato e alanina amino-transferases). Pode ser observada elevação da

fosfatase alcalina, e colestase com hiperbilirrubinemia podem estar presentes. Pode ocorrer uma síndrome reversível com hipertensão portal e ascite (JORENS, 1992; BETHESDA, 2012).

Achados histopatológicos incluem hipertrofia e hiperplasia das células estreladas com acúmulo de lipócitos perissinusoidais associado à fibrose. Tem sido relatada atrofia dos hepatócitos e cirrose. Outros achados podem incluir hepatite e esteatose. O risco pode aumentar com doenças hepáticas ou renais, baixo peso corpóreo, desnutrição proteica, hiperlipoproteinemia, consumo de álcool e deficiência de vitamina C. (BETHESDA, 2012). Em análise laboratorial de hipervitaminose A é possível observar a elevação dos níveis séricos de retinol, principalmente na forma de ésteres de retinol, em jejum (PENNISTON, 2006).

Geralmente, os sinais e sintomas de toxicidade por vitamina A se resolvem rapidamente após a interrupção do tratamento. O prognóstico é geralmente favorável em pacientes com comprometimento da função hepática e hepatomegalia. Entretanto, a síndrome pode persistir se houver desenvolvimento de ascite e hipertensão portal. (JORENS, 1992; PENNISTON, 2006).

3.1.6.3 Vitamina A e teratogênese

Há um corpo importante de pesquisas que vinculam doses altas de vitamina A e teratogênese, principalmente em modelos animais. Robens (1970) observou que a administração de 25.000 UI de vitamina A em hamsters e porquinhos-da-índia (equivalente a 25.000.000 UI dessa vitamina em humanos), em períodos críticos da organogênese, levou a variáveis malformações viscerais e esqueléticas, incluindo anormalidades craniais, membros e caldas encurtadas, ânus imperfurado, hidronefrose e agenesia renal. Olson (2001) observou que uma única dose de 75.000 UI a 150.000 UI de vitamina A em ratas no período inicial da gestação resultou em prole com anormalidades estruturais, como anencefalia, fissuras labiais e malformações em membros, dentes e olhos.

Já em humanos, Martínez-Frías (1990) observou, que mães que consumiram mais de 40.000 UI dia diariamente tiveram um risco maior de terem crianças com malformações congênitas, a depender da dose usada e do período de gestação. Do mesmo modo, o estudo de Werler e colaboradores (1990), observou risco aumentado de malformações na crista neural de crianças cujas mães utilizaram suplementação maior que 25.000 UI diariamente.

A teratogenicidade atribuída a vitamina A, ocorre por meio de seus metabolitos, entre eles o subproduto do ácido retinóico, mais especificamente, os metabolitos como o ácido all-trans retinóico e o ácido 13-cis retinóico, cujos efeitos genômicos seria maior no primeiro trimestre de gestação, onde ocorre a embriogênese e organogênese, aumentando assim as chances de má formação congênitas (TZIMAS, 2001).

Por conta desses achados, a Organização Mundial de Saúde publicou recomendações para reduzir a exposição de mães a altas doses de vitamina A, principalmente através da suplementação, mas desde 1987 o Center for Disease Control já recomendava a restrição do uso de suplementação com vitamina A durante a gestação (CDC, 1987; OMS, 2001). Porém, a partir de 2011 a OMS não recomenda suplementação de vitamina A em gestantes, exceto em grávidas pertencentes a zonas em que a deficiência de vitamina A é um grave problema de saúde pública (WHO, 2011a)

3.1.7 Vitamina A no sistema nervoso central

Shearer (2012) publicou que os astrócitos podem participar da manutenção da homeostase dos níveis de retinóides no cérebro, regulando sua síntese. Além disso, proteínas de ligação a retinóides foram detectadas em todo o cérebro (LANE, 2005). As proteínas celulares de ligação ao retinol (CRBP-I e II) e as proteínas celulares de ligação ao ácido retinóico (CRABP-I e II) solubilizam os retinóides no citoplasma e evitam interações inespecíficas e até a oxidação de tais moléculas (NAPOLI, 2012).

No entanto, mesmo sendo um alvo biológico da vitamina A e seus derivados, a capacidade da vitamina A de induzir efeitos graves que podem comprometer a função neuronal foi descrita. Tais efeitos incluem parâmetros bioenergéticos prejudicados relacionados à função mitocondrial, estresse oxidativo e nitrosativo, alterações na sinalização da dopamina e distúrbios comportamentais.

3.1.8 Neurotoxicidade da vitamina A (retinol)

O retinol é tóxico nas formas aguda e crônica. Na forma aguda, altas doses de retinol causam náuseas, vômitos e dor de cabeça, com aumento da pressão no fluido cerebrospinal; sinais que desaparecem dentro de poucos dias. Doses extremamente altas podem ser fatais.

(COZZOLINO, 2016). A toxicidade crônica de vitamina A é a causa mais geral de preocupação; ingestões habituais superiores a 7,5 a 9 mg/dia (equivalentes a 25.000 e 30.000 UI/dia) para adultos causam sinais de toxicidade, afetando o sistema nervoso central (causando dor de cabeça, náusea, ataxia e anorexia, todas associadas com o aumento da pressão do fluido cerebrospinal) (COZZOLINO, 2016).

Oliveira (2012) demonstrou-se que a suplementação de vitamina A de 500 a 2.500 UI / kg.dia⁻¹ induziu disfunção mitocondrial e aumento do conteúdo de peptídeo β -amilóide 1-40 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) na substância negra e no estriado de ratos adultos. Além disso, foi observada atividade enzimática da monoamina oxidase (MAO), diminuição da atividade enzimática de enzimas mitocondriais da cadeia de transferência de elétrons (complexo I-III, II, succinato desidrogenase (SDH), complexo II-III e IV complexo) o que pode levar não apenas a taxas reduzidas de produção de ATP, mas também favorecer o vazamento de elétrons desse sistema, que pode levar a formação de O₂ - • (HALLIWELL, 2006). Além disso, observou-se aumento da atividade da enzima Mn-SOD (SOD de manganês - SOD mitocondrial) (EDMONDSON, 2014).

Foi relatado por Hüttemann (2011), que níveis mais altos do que o normal de peroxidação lipídica mitocondrial podem levar à liberação do citocromo c por oxidação da cardiolipina. No citoplasma, o citocromo c pode desencadear apoptose (GREEN, 2014). No entanto, a liberação de citocromo c das mitocôndrias está associada com o aumento das taxas de produção de O₂ - •, devido à fuga de elétrons da cadeia de transferência de elétrons mitocondrial (HUTTEMANN, 2011). Como explicado, a vitamina A (retinol) altera a função mitocondrial e pode induzir a morte celular por uma via dependente da mitocôndria (KLAMT, 2008).

Para explicar parte do comportamento semelhante ao da ansiedade e depressão encontrado em suplementação de vitamina A, têm-se como hipóteses o aumento da atividade enzimática de caspase-3 (OLIVEIRA, 2010), as ações do ácido 13 - cis - retinóico na supressão da sobrevivência celular no hipocampo de camundongos (SAKAI, 2004) e na divisão celular, demonstrado in vivo (CRANDALL, 2004), além da alteração dos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (OLIVEIRA, 2011), que regula plasticidade neuronal, bioenergética, biogênese mitocondrial, para citar alguns, também no hipocampo (MAROSI, 2014).

A suplementação subaguda de vitamina A também aumentou os conteúdos de 3-nitrotirosina (total e mitocondrial) e α -sinucleína na substância negra e no estriado de ratos

(OLIVEIRA, 2012) que podem resultar de altas taxas de produção de $O_2 \cdot^-$ e NO (RADI, 2013). De fato, foi demonstrado que a ingestão de vitamina A aumentou a produção mitocondrial de $O_2 \cdot^-$ em diferentes tecidos de ratos, incluindo o cérebro (OLIVEIRA, 2007b, 2008, 2009a,b, 2011, 2012).

Em outro estudo, observou-se que a vitamina A administrada diariamente em ratos é capaz de aumentar o receptor do imuno conteúdo avançado de produtos finais de glicação (RAGE) no córtex cerebral de ratos (OLIVEIRA, 2009b). que causa amplificação do estresse oxidativo por um mecanismo relacionado à neuroinflamação (BIERHAUS, 2005). O RAGE pode, também, desempenhar um papel crucial no aparecimento e progressão da doença de Alzheimer, como previamente postulado (SATO, 2006) através do transporte de peptídeos β -amilóides do sangue para o cérebro através da barreira hematoencefálica (DEANE, 2003) e possivelmente desempenha um papel no aparecimento da doença de Alzheimer em pacientes diabéticos. É, no entanto, uma questão de dosagem e de outros fatores, como idade, sexo, nutrição, e exposição a tóxicos ambientais.

No geral, embora a vitamina A seja um micronutriente essencial para o cérebro, deve-se tomar cuidado ao administrar essa vitamina a indivíduos sem qualquer sinal de deficiência ou com histórico de doenças neurodegenerativas na família, por exemplo. Seu uso no tratamento de alguns tipos de câncer e distúrbios dermatológicos baseia-se no fato de que essas moléculas podem desencadear a morte celular ou retardar a progressão do ciclo celular, levando à diminuição das taxas de crescimento do tumor. No entanto, seria catastrófico se um indivíduo com histórico de doença neurodegenerativa na família excedesse a ingestão de vitamina A (OLIVEIRA, 2015).

O aumento de atividade da enzima glutathione-S transferase (GST) por suplementação de vitamina A, que conjuga glutathione reduzida (GSH) com xenobióticos apolares (essa por sua vez, o principal antioxidante não enzimático dentro das células e organelas, incluindo mitocôndrias) (HALLIWELL, 2006), pode explicar o aumento não só de $O_2 \cdot^-$, mas também o enfraquecimento do poder antioxidante das células.

3.1.9 Efeito antioxidante e pró-oxidante da vitamina A

As propriedades redox-ativas da vitamina A vem despertando atenção de pesquisadores desde meados da década de 80, quando começou-se a especular que alguns de

seus efeitos biológicos poderiam estar ligados à propriedade de alterar o estado redox celular (BROWN, 1998). Devido a sua capacidade de reagir com os até então temidos radicais livres, a vitamina A, junto com outros micronutrientes como as vitaminas C e E, foi considerada por muito tempo um composto antioxidante, que poderia desempenhar funções importantes na prevenção e tratamento de patologias como o câncer, doenças neurodegenerativas e, até mesmo, combater o envelhecimento (JEANDEL, 1989). Não apenas o conceito de radicais livres como “vilões celulares”, mas também o conceito de vitamina A como antioxidante caíram por terra nas últimas décadas. Atualmente, está bem estabelecido que as espécies reativas são fisiológicas e essenciais para a manutenção e equilíbrio das funções celulares, e que a vitamina A pode agir como um composto pró-oxidante (MURATA, 2000; OLIVEIRA, 2007b). Neste contexto, estudos epidemiológicos que foram realizados visando a avaliar o efeito da suplementação com vitamina A na prevenção do câncer em fumantes tiveram que ser interrompidos devido à elevada incidência de neoplasia pulmonar (OMENN, 2007).

A vitamina A pode exercer um papel pró-oxidante, aumentando inclusive a incidência de dano oxidativo ao DNA (MURATA, 2000), e induzindo a ativação de proto-oncogenes (OMENN, 2007). Entretanto, é consenso entre os pesquisadores que a deficiência de vitamina A também é capaz de promover dano oxidativo a biomoléculas, o que caracterizaria-a como antioxidante. Portanto, a observação de que a vitamina A pode exercer tanto ações pró-oxidantes como antioxidantes (CHIU, 2008), indica que a mesma pode ser considerada uma molécula redox-ativa, ou seja, ela apresenta atividade redutora ou oxidante dependendo do microambiente.

Apesar de alguns estudos apontarem a classe “retinóides” como possíveis agentes pró-oxidantes, nenhum estudo comparou as propriedades redox-ativas de diferentes moléculas desta família. Além disso, a maioria dos estudos que relatam efeitos pró-oxidantes *in vivo* está centrado na administração de palmitato de retinol e beta-caroteno, não sendo possível determinar se a atividade redox-ativa está relacionada a essas moléculas ou aos produtos da metabolização destes compostos. Considerando os compostos mais comumente encontrados no meio intracelular - retinol, retinal e ácido retinóico- os estudos apontam as formas oxidáveis (retinol e retinal) como os principais candidatos a serem os protagonistas da ação pró-oxidante da vitamina A (GELAIN, 2008).

Utilizando preparações de mitocôndrias isoladas, Klamt e colaboradores (2005) demonstraram que a incubação com retinol era capaz de aumentar a taxa de produção de superóxido pela cadeia de transporte de elétrons, promovendo o inchamento (swelling) desta

organela. Semelhante aumento na produção de superóxido foi verificado em mitocôndrias isoladas do SNC de ratos suplementados com palmitato de retinol (DE OLIVEIRA, 2007a).

O aumento de atividade da enzima glutathione-S transferase (GST) por suplementação de vitamina A, que conjuga glutathione reduzida (GSH) com xenobióticos apolares - essa por sua vez, o principal antioxidante não enzimático dentro das células e organelas, incluindo mitocôndrias - pode explicar o aumento não só de $O_2 \cdot^-$, mas também o enfraquecimento do poder antioxidante das células (HALLIWELL, 2006).

Zanotto-Filho e colaboradores (2008), demonstraram que o ácido retinóico, o principal metabólito ativo do retinol, não apresenta qualquer atividade pró-oxidante ou proliferativa. Ao contrário, o ácido retinóico possuiu efeitos antiproliferativos e indutores de diferenciação celular, o que corrobora com boa parte da literatura sobre este retinóide. Portanto, este modelo mostra que a capacidade pró-oxidante e moduladora de sinalização redox foi restrita ao retinol.

3.2 ELETROENCEFALOGRAMA

3.2.1 Definições e Breve Histórico

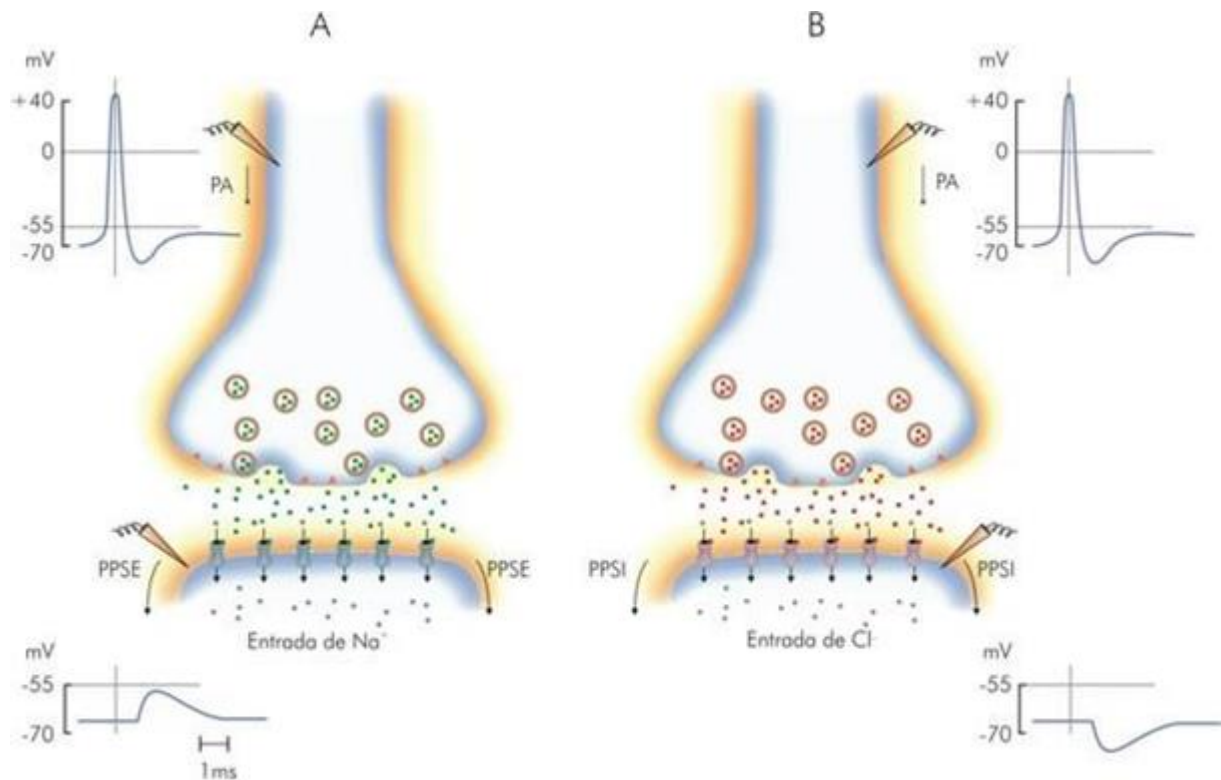
O eletroencefalograma (EEG) corresponde ao registro gráfico da atividade elétrica cerebral, ou qual pode ser o resultado de três formas introduzidas por eletrodos no interior do tecido cerebral (registro de profundidade), posicionando eletrodos diretamente na superfície exposta do núcleo cerebral (eletrocorticograma - EcoG) ou através de eletrodos na superfície do couro cabeludo (ARGOUD, 2001).

Para os registros de EEG em animais, a coletas de dados pode ser obtida através do implante de eletrodos diretamente sobre a superfície cortical (eletrocorticograma-EcoG) ou no interior do encéfalo no qual as bases de informações da experimentação são detectadas por eletrodos dispostos em derivações bipolares (CARDOSO, 2017). A leitura eletroencefalográfica aplicada através de dois eletrodos nada mais é que uma análise amostral da atividade cerebral, usando as estatísticas de atividade (voltagem e frequência) entre dois pontos equidistantes do cérebro do rato (córtex motor primário e do giro pré-central) (CARDOSO, 2017).

Os sinais capturados através dos eletrodos registram diferentes potenciais elétricos

gerados por diferentes movimentos celulares simétricos e ordenados por um número significativo de neurônios do cérebro cerebral (SOUZA, 2012). Os acessórios elétricos utilizados são diferenciados em dois tipos: potencial de ação, decorrente dos impulsos elétricos pelos axônios, sem muita contribuição para o registro EEG, pois ocorrem de forma assíncrona; e o PPS (potencial pós-sináptico) de entrada excitatória e inibitória que define dipolos elétricos onde "fluxo corrente" para dendritos e corpos celulares (SOUZA, 2012). Os potenciais pós-sinápticos excitatórios e pós-sinápticos inibidores, Resultados de neurônios piramidais, são os principais campos registrados no EEG (RAMOS, 2017). Os potenciais pós-sinápticos excitatórios são gerados por corantes de Na^+ e Ca^{+2} que fluem para o meio intracelular; enquanto que os efeitos pós-sinápticos inibidores são provocados pelo fluxo Cl^- e K^+ . Essa constatação traz como consequência que os efeitos potenciais pós-sinápticos excitatórios provocam a despolarização da membrana, ao passo que nos potenciais pós-sinápticos inibidos desenvolve-se uma hiperpolarização da membrana neuronal (GOMES, 2015).

FIGURA 04 - Representação Esquemática de Potenciais Pós-Sinápticos.



Fonte: disponível em <https://slideplayer.com.br/slide/9957871/>, acesso em 19 / 04/2020. (A) Representação do potencial pós-sináptico (PPSE); (B) Representação do potencial pós-sináptico inibitório (PPSI).

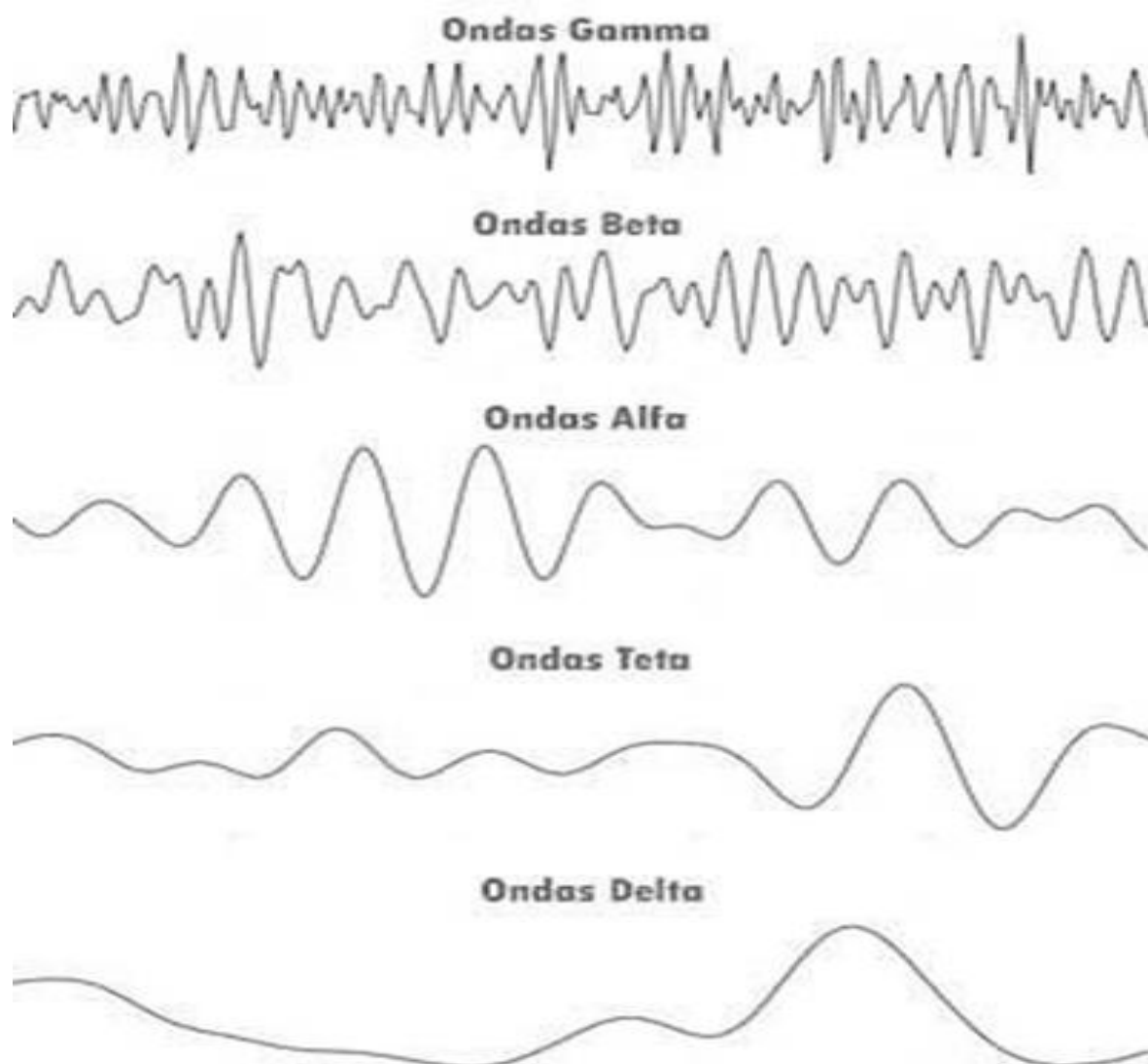
3.2.2 Ondas Eletroencefalográficas

As ondas cerebrais são classificadas de acordo com faixas de frequências chamadas de “atividades rítmicas cerebrais” e representadas por letras gregas. A presença excessiva ou ausência dessas ondas pode ser indicativo de alguma alteração neurofisiológica (CORREIA, 2018).

As faixas de frequência de ondas cerebrais nos seres humanos mais estudados são: Delta (0,5-4,0 Hz), Teta (4,0-8,0 Hz), Alfa (8,0-13,0 Hz), Beta (13,0-30,0 Hz) e Gama (acima de 30,0 Hz) (MEDEIROS 2015). As ondas Delta (0,5-4,0 Hz) correspondem a um ritmo comum em crianças pequenas em situação de sono profundo (ARGOUD, 2001). Os registros Delta também são obtidos em adultos, mas em condições de sono profundo, sendo anormal seu registro em indivíduos adultos acordados ou mesmo fora do ritmo. Tais variações observadas em Delta geralmente se caracterizam em uma patologia cerebral (SOUZA, 2012). Tumores cerebrais podem alterar os registros em ondas delta (RAMOS, 2017).

Os registros teta (4,0 - 8,0 Hz) estão relacionados a fases do sono típicas de estágios iniciais presentes em crianças e quando anotados em adultos acordados, podem representar fatores de anormalidades relacionadas a problemas cerebrais (RAMOS, 2017). As ondas Alfa detém de 8,0 a 13,0 Hz de frequência, variando de 20 a 200 microvolts em amplitude, e correspondem ao ritmo presente em indivíduo durante a vigília, em estados relaxados, conscientes e olhos fechados. A abertura ocular diminui a frequência das ondas Alfa (SOUZA, 2012). O ritmo Alfa apresenta maior amplitude nas regiões occipitais do córtex cerebral e sua ocorrência está na dependência da conexão entre tálamo e o córtex cerebral (RAMOS 2017).

FIGURA 05 - Bandas de Onda do Eletroencefalograma.



Fonte: disponível em <http://mente-quantica.com/aumente-sua-capacidade-mental-3>. Acesso em 10/04/2022. Gama (30-80 Hz), Beta (13-30 Hz), Alfa (8-13 Hz), Teta (4-8 Hz) e Delta (0,5-4 Hz).

As ondas Beta (13,0-30,0 Hz), comparativamente em relação às ondas Alfa, apresentam-se em menor amplitude, em geral, menor do que 30 microvolts. São ondas registradas a partir de potenciais oriundos do córtex motor e sensorial, resultantes do aumento de estados de alerta e atenção (MEDEIROS, 2015). As transcrições obtidas das ondas Beta são características de indivíduos em estado de tensão e ansiedade (SOUZA, 2012). As ondas Betas podem ser subdivididas em "Beta baixo" (13,0 - 25,0 Hz) e "Beta alto" (25,0 - 30,0 Hz). As ondas Beta alto são assinaladas em estados nos quais o indivíduo se encontra ativo, ocupado, excitado e ansioso; além de estar associado à contração muscular

(BRAGA, 2016).

Os ritmos Gama, que se encontram nas faixas de frequência superiores a 30,0 Hz no EEG, correlacionam-se a processamentos do córtex cerebral envolvidos na execução de atividades cognitivas, tais como processamento de informações e a manutenção da memória e do estado de consciência (RAMOS, 2017).

3.2.2.1 Ondas Delta

As ondas Delta são as ondas mais lentas já registradas no EEG, compreendendo a faixa de frequência de 0,5 a 4,0 Hz. Por isso, também são conhecidas pelo termo "slow wave". A atividade Delta pode ser verificada na fase de transição da vigília para o sono e durante o sono (LAL, 2001). Quanto ao seu sítio neuronal de origem, a banda Delta pode ser gerada a partir de diferentes estruturas, havendo dois tipos principais: lobo frontal (desde a zona orbital até a região medial do córtex pré-frontal) e tálamo (STERIADE, 2011).

Como as ondas Delta se encontram associadas preponderantemente às fases do sono, não é raro que sejam proeminentes em neonatos e indivíduos na primeira infância. Assim sendo, a alta incidência Delta em seres humanos que não estão nesta faixa etária está comumente correlacionada a casos de processamento cognitivo retardado, dificuldade de aprendizado, incapacidade de raciocínios mais complexos e até mesmo déficit de atenção (SHERLIN, 2009).

3.2.2.2 Ondas Teta

A frequência de ondas Teta compreende a faixa de 4,0 a 8,0 Hz no EEG. Elas são relatadas na literatura clássica como detentoras de um padrão de atividade rítmica lenta, sendo portanto também consideradas de frequência "slow wave" (FISCH, 2000). No entanto, observa-se que tal ritmicidade não é constante, havendo uma ocorrência relativamente comum de apresentações arrítmicas sobre o traçado no EEG. Seu nível mais básico de produção, manutenção e influência encontra-se provavelmente controlado pelo sistema colinérgico septo-hipocampal (STERIADE, 2011). Assim sendo, a atuação das ondas Teta são predominantemente sobre o hipocampo humano, mais precisamente sobre o giro cingulado anterior, podendo se estender superiormente até o córtex frontal (BUZSÁKI,

2005).

As ondas Teta se encontram associadas a estados neurofisiológicos e psicofisiológicos caracterizados por níveis baixos de alerta consciente e, conseqüentemente, por um decréscimo da capacidade de processamento de informações. Desse modo, quando uma pessoa entra em estado de sonolência, a prevalência da sua onda Teta aumenta, conferindo uma condição de relaxamento e desatenção. Por suas propriedades já conhecidas e seus efeitos previstos ao organismo humano, não raro se verifica esta frequência patologicamente aumentada em indivíduos que se queixam de falta de concentração devido a um crônico estado de dissociação. As ondas Teta anormalmente elevadas apresentam uma forte ligação com a ocorrência de casos de déficit de atenção e sono excessivo (GRANDJEAN, 1988; OKOGBAA, 1994).

3.2.2.3 Ondas Alfa

As ondas Alfa são o tipo de ondas de maior dominância durante o funcionamento do aparato cerebral adulto saudável e estão associadas aos estados neuronais de relaxamento, calma, descontração e baixa atenção. Sendo a primeira categoria de ondas descoberta e descrita por Hans Berger (1931), as ondas Alfa compreendem a faixa de frequência no EEG entre 8,0 e 13,0 Hz, podendo ser subdivididas entre "ondas Alfa 1 (8,0 - 10,0 Hz) e 'ondas Alfa 2 (10,0 - 13,0 Hz) (OTHMER, 2009). Ocorrem durante o período de vigília, principalmente sobre o córtex occipital, sendo sua presença mais notória após o ato de fechar os olhos. Logo, quando se realiza o movimento contrário de abertura ocular e se procura manter um estado constante de atenção ativa, a atividade das ondas Alfa decresce (OKOGBAA, 1994).

De modo geral, as ondas Alfa encontram-se em atividade tanto no estado neurológico de alerta quanto no período de relaxamento (GRANDJEAN, 1988). Uma alta atividade Alfa durante o período de vigília, sob um estado constante de relaxamento, leva a uma lentificação da velocidade de resposta do indivíduo quando submetido a estímulos. Assim sendo, embora a atividade das ondas Alfa seja alta durante a "vigília relaxada", não significa que elas provoquem um estado altamente receptivo sobre o indivíduo (LAL, 2001).

Convencionou-se que o aumento das amplitudes Alfa correlaciona-se com uma maior variedade de queixas neuropsicofisiológicas. O achado mais frequente e melhor estabelecido

é a prevalência de casos de humor deprimido (transtorno depressivo maior). Demonstrou-se que tanto uma frequência Alfa elevada na região cerebral central (JOHN, 1988) quanto uma assimetria de Alfa no lobo frontal ($F3 > F4$) (DAVIDSON, 2004) pode ser uma indicação de deficiência na aplicação emocional. Sob esse mesmo raciocínio, casos de amplitudes diminuídas de Alfa associam-se a um melhor prognóstico no tratamento de transtornos do espectro de ansiedade (PRICHEP, 1994).

3.2.2.4 Ondas Beta

As ondas Beta apresentam uma frequência no EEG entre 13,0 e 30,0 Hz, sendo caracterizadas por uma velocidade de propagação alta. A sua ocorrência está associada a um estado neurológico de excitação ou alerta (GRANDJEAN, 1988). A atividade Beta ocorre em seres humanos comuns durante a execução de uma tarefa motora que causa um tempo de reação elevado (LAL, 2001). Caracterizando-se, conseqüentemente, como uma frequência determinante na manutenção da atenção e foco na realização completa da atividade (GALINSKY, 1993). Uma banda Beta também pode ser subdividida em dois componentes: 'Beta baixo' (13,0-25,0 Hz) e "Beta alto" (25,0-30,0 Hz). Alguns estudos relatam a existência de uma banda extra no EEG, denominada "ondas sigma", como quais abrangem frequências de 11,78 a 14,44 Hz, sobrepostas entre bandas Alfa e Beta (TAGAYA, 2000):

Frequências Beta elevadas têm sido frequentemente associadas a uma maior quantidade de ansiedade, irritabilidade e agitação. Em casos mais crônicos, relacionado a distúrbios do sono e vícios (PRICHEP, 2007; O'NEIL, 2012).

3.2.2.5 Ondas Gama

As ondas Gama compreendem todas as faixas de frequência acima de 30,0 Hz no EEG. Compreendendo preponderantemente o córtex cerebral, como oscilações variadas profundamente relacionadas às atividades cerebrais mais refinadas e complexas, como o processamento de informações e a manutenção da memória e do estado de consciência, uma variação da região cortical em que estão relacionadas (HERRMANN, 2016). Assim sendo, alguns estudos já associaram ritmos variados aos estados de maior atividade do cérebro cerebral; os quais, por sua vez, ocorrem durante a programação e execução de atividades

cognitivas como audição, percepção visual e olfativa e também atenção (FINK, 2009). Desta forma, qualquer déficit de frequência Gama - seja por fatores biológicos, físicos e / ou químicos – pode provocar desde o atraso na velocidade do processamento cortical até uma completa incapacidade de executar tarefas que exigem um suporte cognitivo mais refinado (SLEWA-YOUNAN, 2002).

As ondas Gama caracterizadas por frequências maiores que 80 Hz foram denominadas genericamente de 'supergama', estão incluídas principalmente as patologias neurológicas, como por exemplo, a epilepsia. Alguns autores como classificam como "oscilações de alta frequência" (OAFS), as quais se encontram nas faixas entre 100,0 e 500,0 Hz (LÉVESQUE, 2011). Em outros estudos, verificados por OAFS situados mais precisamente entre 250,0 e 500,0 Hz, estão fortemente relacionados à epileptogênese, sendo nominadas por Urrestarazu e colegas (2007) de "fast ripples" (FR). As OAFS não são raras no funcionamento fisiológico normal, estando relacionadas ao processamento de raciocínio cognitivo e de memória. No entanto, elas não ultrapassam a faixa entre 100,0 e 200,0 Hz (PACHORI, 2011).

3.3 ELETROCARDIOGRAMA

3.3.1 Morfologia do sinal eletrocardiográfico

O início do ciclo cardíaco é caracterizado pela geração do pulso eletrocardiográfico no nódulo sinoatrial no coração. À medida que o pulso se propaga pelos átrios, mais células atriais são ativadas e uma pequena elevação no potencial elétrico pode ser visualizada na linha isoeletrica, formando a onda P. Quando o pulso atinge o nódulo atrioventricular, o sinal elétrico sofre um atraso antes de sua propagação pelos ventrículos, produzindo um segmento isoeletrico chamado de segmento P-Q ou P-R. O sinal elétrico é, então, propagado pelos ventrículos através do sistema His-Purkinje (GUYTON, 2002).

A contração das fibras musculares dos ventrículos gera uma sequência de ondas conhecida como complexo QRS, no qual a primeira onda apresenta polaridade negativa (onda Q), a segunda onda apresenta polaridade positiva (onda R) e a terceira onda é polarizada negativamente (onda S). Em seguida ao complexo QRS, um novo segmento isoeletrico pode ser visualizado, chamado segmento ST. A repolarização das fibras

musculares cardíacas gera uma onda de frequência mais baixa que as outras, chamada de onda T. Uma pequena onda excedente logo após a onda T, chamada de onda U, pode ser visualizada no eletrocardiograma de alguns indivíduos (BERBARI, 2000). Durante todo esse processo o sinal eletrocardiográfico apresenta uma amplitude de 2 mV, em média.

3.3.2 Descritores morfológicos do sinal eletrocardiográfico

3.3.2.1 Frequência cardíaca

A frequência cardíaca, normalmente medida através do intervalo de tempo entre duas ondas R consecutivas, é um fator importante na análise do ritmo cardíaco. A frequência cardíaca considerada normal para um indivíduo adulto é de 72 bpm, no entanto, em condições adversas, a frequência pode aumentar ou diminuir, sendo indicativo de situação anômala. Quando a frequência cardíaca se eleva acima de 100 bpm, atinge-se um estado denominado de taquicardia. A taquicardia pode indicar aumento da temperatura corporal, estimulação por nervos simpáticos e toxicidade do coração. A bradicardia é a condição contrária à taquicardia, caracterizada por valores de frequência cardíaca abaixo de 60 bpm, sendo, normalmente, indicativo de estimulação vagal. Em atletas, a bradicardia é uma situação normal para o indivíduo em repouso (GUYTON, 2002; BALTAZAR, 2009).

3.3.2.2 Onda P

A onda P é gerada no nódulo sinoatrial ou nódulo SA, próximo da veia cava, e está relacionada à condução elétrica nos átrios. A anormalidade na morfologia da onda P indica anomalias presentes nos átrios, como a taquicardia paroxística atrial, caracterizada pela inversão da polaridade da onda P durante o batimento acelerado. A ausência da onda P pode indicar bloqueio sinoatrial ou taquicardia paroxística nodal atrioventricular (A-V) (MARIEB, 2004).

3.3.2.3 Segmento P-R

Após a ativação dos átrios, a única via normal, por onde o estímulo elétrico pode

atingir os ventrículos é através do nodo atrioventricular (AV) e do sistema de condução interventricular. Este fluxo de corrente é representado no ECG pelo segmento P-R. Apesar de existir corrente elétrica, o segmento P-R é uma linha isoeétrica porque os potenciais gerados por estas estruturas são pequenos demais para produzir voltagem detectável na superfície do corpo com a amplificação normal. O segmento P-R é a parte isoeétrica do ECG que vai desde o fim da onda P até o início do complexo QRS. Dessa forma, o comprimento do segmento P-R corresponde ao tempo entre o fim da ativação atrial e o começo da ativação ventricular (GUYTON, 2002; BALTAZAR, 2009).

3.3.2.4 Intervalo P-Q

O intervalo P-Q ou intervalo P-R, corresponde ao tempo que o impulso cardíaco leva para despolarizar os átrios e percorrer as vias de condução internodais até alcançar os ventrículos em um tempo de 0,12 a 0,20 segundos. Desse modo, o intervalo P-Q é a atividade de toda despolarização e de repolarização ventricular, sendo representado eletricamente pelo período que vai da contração isovolumétrica até o relaxamento ventricular isovolumétrico. O intervalo médio entre o início da onda P e o início do complexo QRS é de 0,16s e frequência cardíaca de 72 bpm. Este intervalo pode ser utilizado para diagnosticar condições como o bloqueio incompleto cardíaco de primeiro grau e para determinar a gravidade de algumas doenças cardíacas, como a febre reumática. Quando, além do tempo prolongado do intervalo P-R, há a ausência de alguns batimentos, é possível diagnosticar o bloqueio cardíaco de segundo grau. Bloqueios de terceiro grau e contrações atriais prematuras também podem ser diagnosticados através da medição do intervalo P-Q (GUYTON, 2002; BALTAZAR, 2009).

3.3.2.5 Complexo QRS

Formado pelas Ondas Q, R e S, que, juntas, representam a despolarização ventricular. A duração do complexo não deve ultrapassar 120 ms (0,12 segundos). O fim do complexo QRS é chamado “ponto J”. Durante algumas condições, como o bloqueio intraventricular incompleto, o complexo QRS fica acentuadamente modificado. Durante a contração prematura dos ventrículos, o complexo QRS se prolonga e apresenta tensões mais altas que

as tensões normais (WIDMAIERS, 2006).

3.3.2.6 Segmento S-T

O segmento S-T representa o início da repolarização ventricular e corresponde a fase de repolarização lenta em ou plateau dos miócitos ventriculares. Sendo assim, ele representa um período de inatividade entre a despolarização e o início da repolarização ventricular. Em atividade cardíaca normal este segmento é isoelétrico, e é medido desde o final do complexo QRS (no ponto de junção J) e prossegue até início da onda T. Dessa forma, as alterações do segmento S-T são de grande importância no diagnóstico das síndromes coronarianas agudas (BALTAZAR, 2009). Segmentos S-T elevados e planos podem indicar infarto do miocárdio, enquanto segmentos S-T inclinados ou deprimidos podem ser indicativos de isquemia coronariana (GUYTON, 2002).

3.3.2.7 Onda T

A onda T corresponde à repolarização ventricular. Sua morfologia normal é assimétrica por apresentar uma ascendência lenta e descendência rápida. A inversão da polaridade da onda T, quando associada a mudanças na forma do complexo QRS, são um indicativo de contração prematura dos ventrículos (WIDMAIERS, 2006). O aumento da amplitude da onda T é a primeira alteração que surge no ECG quando níveis séricos de potássio começam a elevar. A onda T aumenta a amplitude e vai se tornando alta, pontiaguda e simétrica com base estreita inferior a 0.20 segundos. Dessa forma, está relacionada ao aumento da velocidade na fase 3 do potencial de ação transmembrana, que também acarreta redução do intervalo Q-T, no início da hiperpotassemia. Na hipopotassemia ocorre o inverso. A amplitude da onda T diminui em consequência a redução da velocidade na fase 3 do potencial de ação até se tornar achatada concomitante ao surgimento da onda U (FRIEDMANN, 2021).

3.3.2.8 Onda U

Embora a origem da onda U não tenha sido totalmente estabelecida, atribui-se a sua presença ao potencial de repolarização tardia de regiões do miocárdio ventricular (BERBARI,

2000). A pesquisa com células M apontou uma ligação entre a propagação lenta dos potenciais de ação nestas células com a presença da onda U. Há indícios da relação entre a hipopotassemia e mudanças no eletrocardiograma, com o aparecimento de ondas U e redução na amplitude de ondas T (RIBEIRO, 2004; FRIEDMANN, 2021).

3.3.2.9 Intervalo Q-T

O intervalo Q-T mede desde o início do complexo QRS até o final da onda T e representa a duração da sístole elétrica ventricular - despolarização e repolarização ventricular. O intervalo Q-T inclui o intervalo QRS, o segmento S-T e a onda T. A medição do intervalo Q-T apresenta aplicações práticas na detecção de algumas cardiopatias como a síndrome do Q-T longo e a síndrome do Q-T curto. Vale resaltar que a onda U deve ser excluída ao medir o intervalo Q-T, pois, a inclusão da onda U pode “aumentar” o Q-T em 80-200 ms e precipitar desnecessariamente um diagnóstico de síndrome do Q-T longo (SURAWICZ, 2008). Seus graus de dispersão também podem pré-diagnosticar arritmias ventriculares graves e risco de morte súbita. (BAUTISTA, 2004 apud PETRY, 2006; MAIA, 1998). O valor da dispersão temporal do intervalo Q-T é utilizado em um índice preditivo do risco de morte súbita, denominado índice da variabilidade do intervalo Q-T (BERGER, 1997).

3.3.2.10 Intervalo R-R

O intervalo R-R é a distância entre duas ondas R sucessivas (incluindo uma onda R). Consiste no tempo entre duas contrações consecutivas do coração – entre dois complexos QRS - e também a quantificação das flutuações dos ciclos R-R normais que permitem avaliar o perfil autonômico cardíaco (BALTAZAR, 2009). Sua duração depende da frequência cardíaca. Em eletrocardiogramas com ritmo regular ou sinusal pode ser calculado sabendo o valor da frequência cardíaca (BALTAZAR, 2009). O tempo entre cada excitação do coração difere levemente entre um pulso e outro. Contudo, baixas variabilidades indicam a existência de depressão da atividade vagal (ALEXANDER, 1989).

4. METODOLOGIA

4.1 ANIMAIS

O estudo foi realizado na cidade de Belém-Pará, no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais, Universidade Federal do Pará (UFPA). Foram utilizados 90 ratos (*Rattus norvegicus*) todos da linhagem wistar, com idade entre 7 e 9 semanas, pesando entre 180 a 200g provenientes do Biotério da UFPA. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade adequada, em torno de $55 \pm 10\%$ umidade relativa do ar, luminosidade artificial de um fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, considerando-se o período de luz das 6:00 às 18:00 horas e ruído controlados, acondicionados em gaiolas com água filtrada e ração oferecidos *ad libitum* durante todo o estudo, e com a limpeza das gaiolas sendo realizada duas vezes por semana. Os registros foram feitos no horário de 8:00 às 11:00 horas.

O estudo foi realizado após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação da UFPA (CEPAE-UFPA) Número 2252220321.

4.2 DROGAS

Para a realização do trabalho foram utilizadas as seguintes substâncias químicas: anestésico cloridrato de cetamina foi obtido do Laboratório Köing (Santana de Parnaíba, SP, Brasil), O cloridrato de xilazina foi obtido do laboratório Vallée (Montes Claros, MG, Brasil), o anestésico local lidocaína foi obtido pelo laboratório Hipolabor (Sabará, MG, Brasil) para implantes de eletrodo), Diazepam 10mg/2ml (União Química, Embu-Guaçu, SP, Brasil), Acetato de Retinol 100.000 UI/ml (Laboratório Bravet LTDA, Rio de Janeiro).

4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram tratados com acetato de retinol 50.000 UI/kg v.o., foi administrado uma vez ao dia durante 14 dias; e nos dias 3, 7 e 14 após o início do tratamento foram avaliados os parâmetros eletrocorticograma (ECoG) e eletrocardiograma (ECG).

4.3.1 Experimento 1: Eletrocorticograma (ECoG)

Para este experimento foi feito implante de eletrodos na região de córtex motor dois dias antes de iniciar o tratamento.

Grupo 1: controle, este grupo não recebeu droga (n = 9),

Grupo 2: controle veículo, este grupo recebeu óleo de amendoim durante quatorze dias no volume de 0,3 ml via oral (n=9);

Grupo 3: grupo que recebeu a vitamina A 50.000 UI/kg/V.O. de 24 em 24 horas durante 3 dias (n = 9) ;

Grupo 4: grupo que recebeu a vitamina A 50.000 UI/kg/V.O. de 24 em 24 horas durante 7 dias (n = 9) ;

Grupo 5: grupo que recebeu a vitamina A 50.000 UI/kg/V.O. de 24 em 24 horas durante 14 dias (n = 9).

4.3.2 Experimento 2: Eletrocardiograma (ECG)

Após a realização do exame eletrocorticograma, foi administrado 2,5 mg/kg i.p. de diazepam para evitar movimentação brusca durante a realização do exame eletrocardiograma, que foi realizado dez minutos após a administração desse fármaco.

Grupo 1: controle sem a utilização de drogas (n = 9);

Grupo 2: controle veículo, este grupo recebeu óleo de amendoim durante quatorze dias no volume de 0,3 ml via oral (n=9);

Grupo 3: grupo que recebeu a vitamina A 50.000 UI/kg/V.O. de 24 m 24 horas durante 3 dias (n = 9) ;

Grupo 4: grupo que recebeu a vitamina A 50.000 UI/kg/V.O. de 24 em 24 horas durante 7 dias (n = 9) ;

Grupo 5: grupo que recebeu a vitamina A 50.000 UI/kg/V.O. de 24 em 24 horas durante 14 dias (n = 9).

A aquisição de dados, das atividades eletrofisiológicas de EEG e ECG, tiveram duração de 2 minutos.

4.3.3 Cirurgia para colocação de eletrodos

Os animais foram anestesiados por injeção intraperitoneal de cloridrato de cetamina (50 mg/ kg) e cloridrato de xilazina (5 mg / kg). Após a abolição do reflexo interdigital, os animais foram posicionados em um aparelho estereotáxico. O procedimento cirúrgico para expor o crânio. Eletrodos de aço inoxidável (exposição da ponta de 1,0 mm de diâmetro) foram colocados na meninge dura-máter acima do córtex frontal nas coordenadas de bregma – 0,96 mm e $\pm 1,0$ mm lateral (PAXINOS, 2005). Um parafuso foi fixado no crânio occipital e os eletrodos foram fixados com cimento acrílico autopolimerizável.

4.3.4 Registros eletrocorticográficos

Após a cirurgia, os animais foram mantidos em gaiolas individuais. A aquisição de registro foi feita nos dias 3, 7 e 14 de tratamento com a vitamina A , os eletrodos foram conectados a um sistema digital de aquisição de dados composto por um amplificador de alta impedância (Grass technologies, P511), um osciloscópio (Protek, 6510) e uma placa para aquisição e digitalização de dados (National Instruments, Austin, TX). Os dados foram amostrados continuamente a 1 kHz em um passa baixa de 3 kHz e um passa alta de 0,3 Hz. Durante os registros, os animais foram confinados em caixas de acrílico com espaçamento restrito (20 x 45 x 15 cm). Para todos os tratamentos, as gravações de ECoG seguiram um protocolo padrão: 10 minutos de acomodação, seguida de registro com duração de 2 minutos.

4.3.5 Análise de dados

A análise off-line foi realizada por meio de uma ferramenta criada na linguagem de programação Python (versão 2.7). As bibliotecas "Numpy" e "Scipy" serão usadas para o processamento matemático, e a biblioteca "matplotlib" para obter gráficos e plotagens. Uma interface gráfica será desenvolvida usando a biblioteca PyQt4. Os espectrogramas serão calculados usando a janela de Hamming com 256 pontos (256/1000 s). Para densidade espectral de potência (DEP), cada quadro será gerado com uma sobreposição de 128 pontos por janela. Para cada quadro, o DEP será calculado pelo método do periodograma médio de Welch. Os histogramas de frequência serão obtidos calculando o DEP do sinal usando a janela

Hamming com 256 pontos sem sobreposição, produzindo uma resolução de 1 Hz por caixa. Cada onda exibida no DEP é uma média de um conjunto de experiências. Os DEP foram calculados em cada grupo e as médias são mostradas em caixas individuais. As análises foram realizadas em frequência de até 50 Hz e divididas em bandas de acordo com Jalilifar et al (2017) em Delta (1-4 Hz), Teta (4-8 Hz), Alpha (8-12 Hz), Beta (12-28 Hz) e Gama (28-40 Hz), para interpretação da dinâmica durante o desenvolvimento da intoxicação.

4.3.6 Eletrocardiograma

A atividade eletrocardiográfica foi obtida na derivação D-II, os eletrodos foram confeccionados de forma não conjugada, o eletrodo de referência foi posicionado em baixo da axila direita (0,5 cm) e o eletrodo de registro fixado no décimo espaço intercostal, 3,5 cm abaixo da axila esquerda, obedecendo ao vetor de registro. Todos os animais receberam 2,5 mg/kg i.p. de diazepam para evitar movimentações e ruído nos registros. Cada registro teve duração de 2 minutos e os dados que foram analisados: Frequência cardíaca (bpm), Amplitude do complexo QRS (mV), Intervalo R-R (ms), Intervalo P-Q (ms) duração do complexo QRS (ms) e Intervalo Q-T (ms).

4.4 EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

Após o período de registro, sob o efeito da hipervitaminose A, os animais foram sacrificados usando altas doses de cloridrato de cetamina (300 mg/kg i.p.) e xilazina (20 mg/kg i.p.) intraperitoneal, seguindo os requisitos institucionais para a eutanásia desses animais.

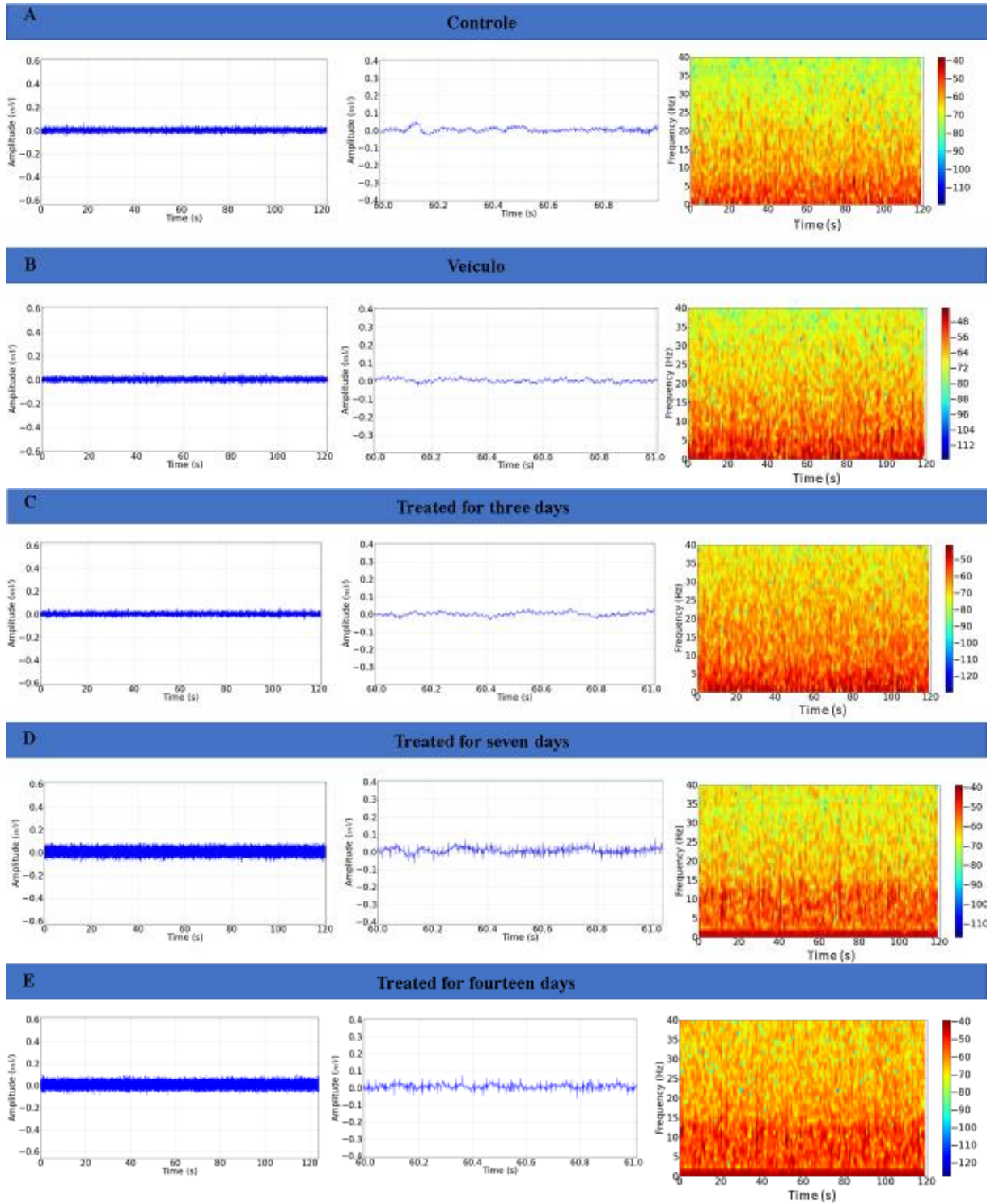
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A normalidade e a homogeneidade das variações foram verificadas usando os testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Como os resíduos foram normalmente distribuídos e as variações são iguais, as comparações entre a amplitude média dos traçados e os valores de controle foram feitas usando ANOVA seguida de Tukey. Valores médios foram seguidos pelos seus respectivos valores de desvio padrão (média \pm DP). O nível mínimo de

significância foi estabelecido em $p < 0,05$ em todos os casos. O software GraphPad® Prism 5 foi utilizado para testes estatísticos.

5. RESULTADOS

FIGURA 6 - Demonstrativos de registros electrocorticográficos com duração de 2 minutos.



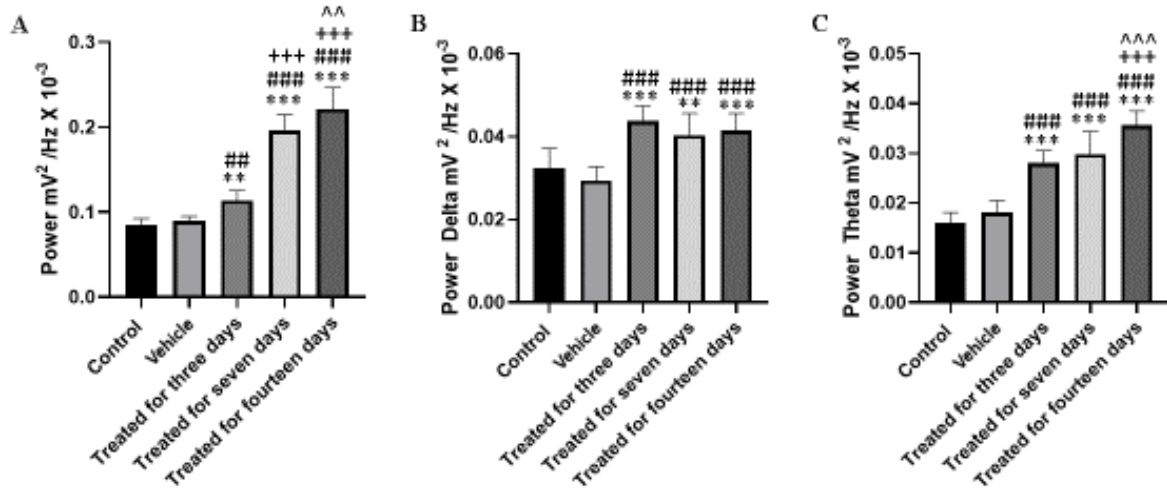
Fonte: os autores. (A) Traçado ECoG do grupo controle (esquerda), amplificação de 1 segundo do traçado (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita); (B) Traçado ECoG do grupo veículo (esquerda), amplificação de 1 segundo do traçado (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita); (C) Traçado ECoG do grupo vitamina A no terceiro dia de tratamento (esquerda), amplificação de 1 segundo do traçado

(centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita); (D) Traçado ECoG do grupo vitamina A no sétimo dia de tratamento (esquerda), amplificação de 1 segundo do traçado (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita); (E) Traçado ECoG do grupo vitamina A no décimo quarto dia de tratamento (esquerda), amplificação de 1 segundo do traçado (centro) e espectrograma de distribuição de energia (direita).

5.1 RESULTADOS ELETROCORTICOGRÁFICOS

Durante o trabalho, os animais tratados com vitamina A, através de acetato de retinol, não mostraram mudanças comportamentais e mantiveram sua ingestão de comida e água semelhante aos grupos controle e veículo (dados não mostrados). Os registros de ECoG do grupo de controle e veículo apresentaram amplitude abaixo de 0,1 mV normalmente baixa amplitude (**FIGURAS 6 A e B**), conforme demonstrado na amplificação de 1 segundo (**FIGURAS 6 A e B, CENTRO**) com espectrograma mostrou a maior intensidade de energia abaixo de 10 Hz (**FIGURAS 6 A e B, DIREITA**). Os registros de ECoG para o grupo tratado com vitamina A durante três dias teve maior distribuição de força nas frequência acima de 10 Hz quando comparado ao grupo controle (**FIGURA 6 C**), no grupo que recebeu vitamina A durante sete dias, pode ser observada alteração no traçado ECoG que aumentam a intensidade de potência nas frequências abaixo de 15 Hz (**FIGURA 6 D**), o que pode ser observado no espectrograma (**FIGURA 6 D, DIREITA**). Para o grupo que recebeu tratamento durante 14 dias apresentou alterações de traçado ECoG com maior intensidade nas frequências até 40 HZ (**FIGURA 6 E**), demonstrado no espectrograma a direita; entretanto, a amplitude do traçado foi mantida abaixo de 0,1 mV para os grupos tratados com a vitamina A (**FIGURAS 6 C, D e E**).

FIGURA 7 - Gráfico de distribuição de potência linear entre os grupos com frequência de até 40 Hz, Delta e Teta.



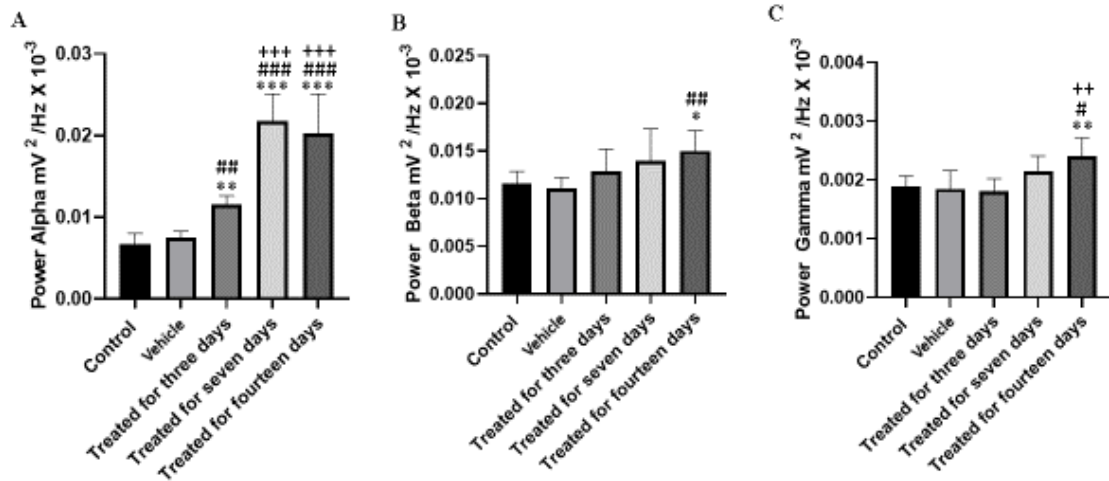
Fonte: os autores. (A) Gráfico de média de distribuição de força nas frequências de até 40 Hz; (B) Gráfico de média de distribuição de força nas frequências em Delta (1-4 Hz); (C) Gráfico de média de distribuição de força nas frequências em Teta (4-8 Hz). (*) indica diferença estatística para o grupo controle; (#) indica diferença estatística para o grupo veículo; (+) indica diferença estatística para o grupo tratado por três dias; (^) indica diferença estatística para o grupo tratado por sete dias. (Após ANOVA seguida de Tukey, * $P < 0,01$ ** $P < 0,001$ *** $P < 0,0001$, $n=9$).

A decomposição da distribuição da potência espectral total revelou mudanças no rastreamento das potências nas oscilações até 40 Hz nos animais tratados com vitamina A durante 3, 7 e 14 dias (**FIGURA 7 A**).

Variação significativa entre os tratamentos com a vitamina A e os demais grupos foi encontrada na análise da distribuição das frequências lineares de até 40 Hz ($F(4, 40) = 150,7$, $p < 0,0001$). Nesse caso, o grupo vitamina A tratado por quatorze dias teve maior potência espectral total do que os grupos controle, veículo, tratados por três dias e tratados por sete dias (controle: $0,08484 \pm 0,007803 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; veículo: $0,08981 \pm 0,004983 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; tratado por três dias: $0,1138 \pm 0,01167 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; Tratado por 7 dias : $0,1962 \pm 0,01862 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; tratado durante 14 dias : $0,2212 \pm 0,02501 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; $p < 0,001$ para todas as comparações; (**FIGURA 7 A**). A decomposição das ondas cerebrais também foi analisada quanto à distribuição dos níveis de potência no Delta (1-4 Hz), Teta (4-8 Hz), Alfa (8-12 Hz), Beta (12-28 Hz) e Gama (28-40 Hz). Nas frequências das ondas Delta houve variação significativa ($F(4, 40) = 19,16$; $p < 0,0001$), com aumento significativo observado para os animais tratados com vitamina A por três dias ($0,04382 \pm 0,003594 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$),

sete dias ($0.04039 \pm 0,005225 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), quatorze dias ($0.04145 \pm 0,003594 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) em comparação com o controle ($0,03240 \pm 0,004734 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$, $p < 0,0001$), e grupo veículo ($0,02943 \pm 0,003276 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; $p < 0,001$). Não foram observadas diferenças entre os grupos que receberam vitamina A (**FIGURA 7 B**). Para as ondas Teta, também foram observadas diferenças entre os grupos ($F(4, 40) = 68,10$; $p < 0,0001$). Os animais do grupo vitamina A apresentaram potência Teta média: para o grupo tratado por três dias ($0.02799 \pm 0,002529 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), grupo tratado por sete dias ($0.02984 \pm 0.004494 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e grupo tratado por quatorze dias ($0.03563 \pm 0.002879 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), maiores que o grupo controle ($0,01596 \pm 0,002157 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; $p < 0,0001$), grupo veículo ($0.01808 \pm 0.002383 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$; $p < 0,0001$) e nenhuma diferença foi observada entre o grupo com três dias de tratamento e o grupo de sete dias de tratamento, ($p = 0,1224$); **FIGURA 7 C**).

FIGURA 8 - Gráfico de distribuição de potência linear para as oscilações em Alfa, Beta e Gama.



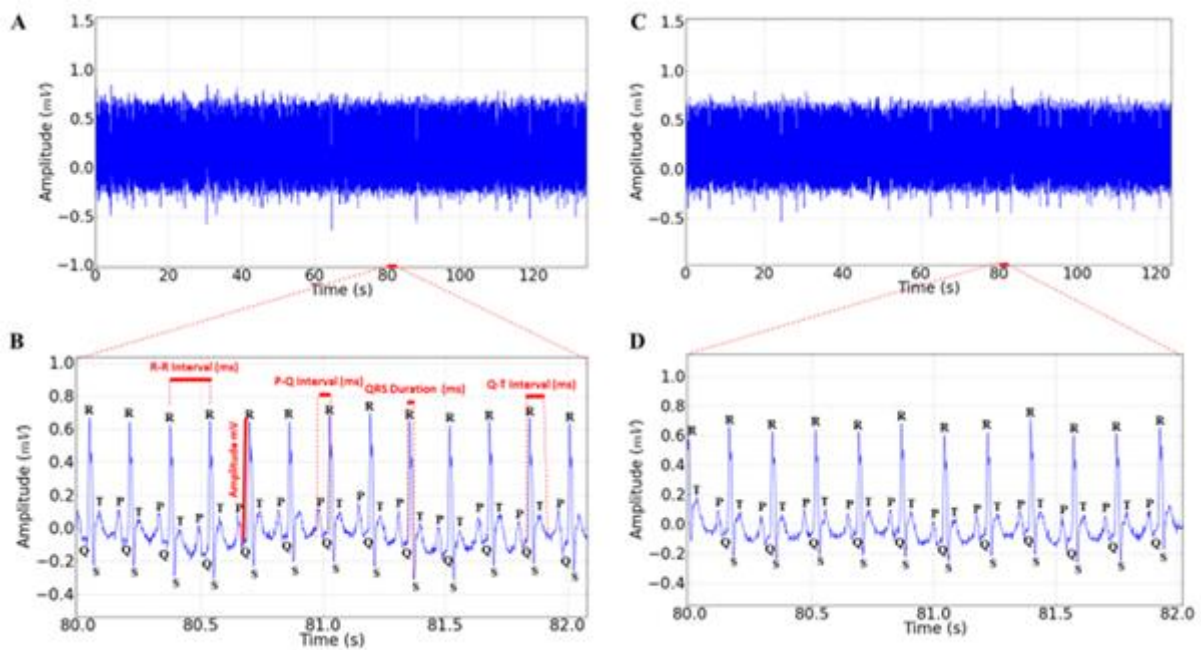
Fonte: os autores. (A) Gráfico de distribuição de potência linear em Alfa (8-12 Hz); (B) Gráfico de distribuição de potência linear em Beta (12-28 Hz); (C) Gráfico de distribuição de potência linear em Gama (28-40 Hz). (*) indica diferença estatística para o grupo controle; (#) indica diferença estatística para o grupo veículo; (+) indica diferença estatística para o grupo tratado por 3 dias; (^) indica diferença estatística para o grupo tratado por 7 dias. (Após ANOVA seguida de Tukey, * P<0,01 ** P<0,001 ***P<0.0001, n=9).

Semelhante às ondas Delta e Teta, apresentou variação significativa entre os grupos para as ondas Alfa ($F(4, 40) = 60,51$; $p < 0,0001$). Mais uma vez, os animais tratados com vitamina A apresentaram maior potência nas oscilações em Alfa: para o grupo tratado por três dias ($0,01156 \pm 0,001069 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$); para o grupo tratado por sete dias ($0,021180 \pm 0,003307 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$); para o grupo tratado por quatorze dias ($0,02031 \pm 0,004797 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$), quando comparados ao grupo controle ($0,006683 \pm 0,001319 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e veículo ($0,007497 \pm 0,0007985 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) sendo as maiores elevações em Alfa obtidas entre os grupos tratados por sete e quatorze dias ($p = 0,3132$), porém mantiveram diferença para grupo tratado por três dias ($P < 0,0001$) e grupos controle e veículo ($P < 0,0001$). Os grupos de controle e veículo não mantiveram diferenças entre si ($P = 0,1326$) (**FIGURA 8 A**). Nas oscilações em Beta, os animais que receberam vitamina A apresentaram potência da onda Beta maior somente para o grupo tratado durante quatorze dias ($0,01501 \pm 0,002150 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) quando comparados aos grupos controle ($0,01157 \pm 0,001291 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p = 0,0008$) e veículo ($0,01111 \pm 0,001107 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($P = 0,0002$). Os grupos tratados por três dias ($0,01286 \pm 0,002386 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) e tratados por sete dias ($0,01395 \pm 0,0034161 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) não apresentaram diferença estatística para os grupos controle,

veículo e tratados por quatorze dias ($F(4, 40) = 4,787$, $p = 0,003$) (**FIGURA 8 B**); Para as oscilações em Gama, houve aumento para o grupo que tratado com vitamina A no período de quatorze dias ($0,002409 \pm 0,0003110 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$); quando comparado aos grupo controle ($0,001885 \pm 0,0001849 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p=0,0005$); grupo veículo ($0,001849 \pm 0,0003132 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p=0,0015$) e grupo tratado por três dias ($0,001806 \pm 0,0002147 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p= 0,0002$), porém não apresentou diferença para o grupo tratado por sete dias ($0,002142 \pm 0,0002687 \text{ mV}^2 / \text{Hz} \times 10^{-3}$) ($p=0,0689$) ($F(4, 40) = 8,421$; $p < 0,0001$) (**FIGURA 8 C**).

5.2 RESULTADOS ELETROCARDIOGRÁFICOS

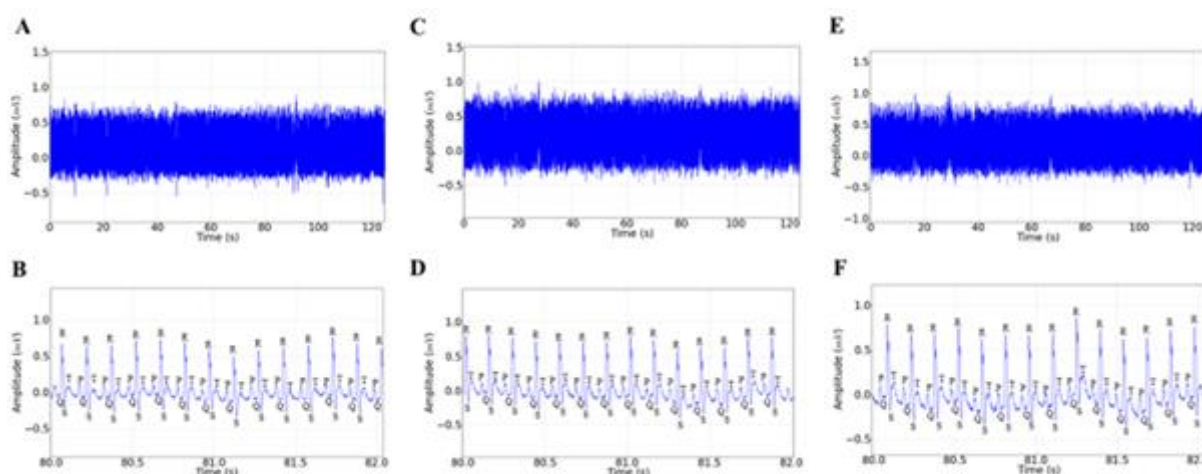
FIGURA 9 - Eletrocardiograma controle em derivação D-II no rato com duração de 2 minutos e suas respectivas ampliações nos grupos controle e veículo.



Fonte: os autores. (A) Eletrocardiograma na derivação D-II no rato com duração de 2 minutos no grupo controle; (B) Ampliação do registro no tempo de 2 segundos nos traços em vermelho representa os intervalos a serem analisados: Amplitude do complexo QRS (mV), intervalo R-R (ms), intervalo P-Q (ms), intervalo Q-T (ms), duração do complexo QRS (ms); (C) Registro eletrocardiográfico do grupo veículo com duração de 2 minutos; (D) Amplificação de 2 segundos do registro demonstrando os componentes relacionados às deflagrações cardíacas.

FIGURA 9 A mostra a atividade cardíaca do grupo controle, apresentando a amplitude das gravações e o ritmo sinusal. Quando amplificadas, puderam ser observadas todas as deflagrações cardíacas, sendo a atividade atrial representada pela onda P, a atividade ventricular representada pelo complexo QRS e a onda T de repolarização ventricular (**FIGURA 9 B**). Os animais do grupo veículo apresentaram características semelhantes ao grupo controle, demonstrando atividade cardíaca em ritmo sinusal com todas as deflagrações do funcionamento cardíaco (**FIGURAS 9 C e D**).

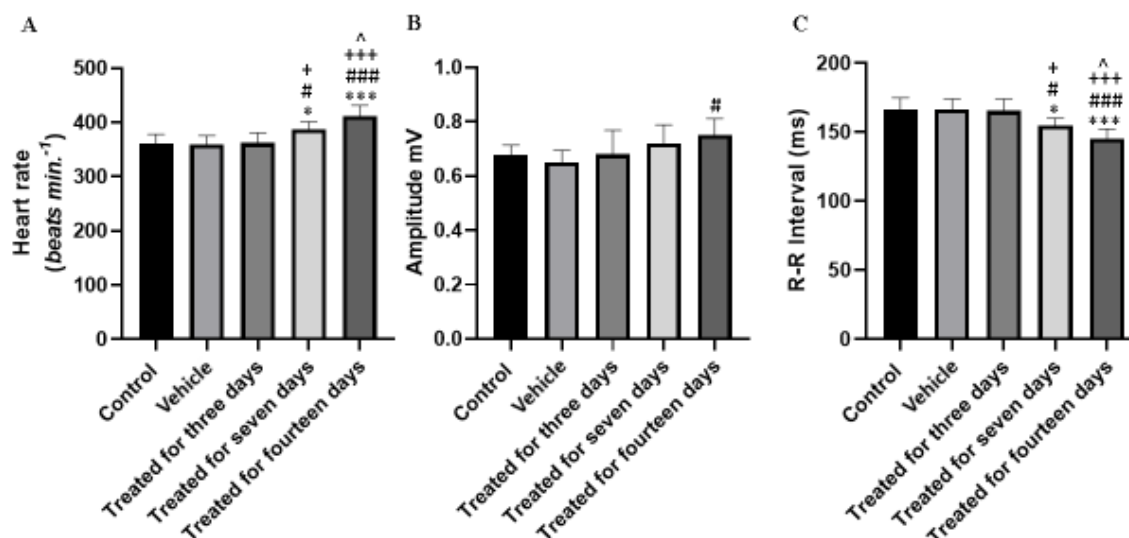
FIGURA 10 - Eletrocardiograma na derivação D-II no rato com duração de 2 minutos para os animais tratados com acetato de retinol e suas respectivas ampliações de registros.



Fonte: os autores. (A) Registro de ECG representado no traçado com duração de 2 minutos para o grupo tratado com vitamina A durante 3 dias; (B) Ampliação de registro em 2 s (período do registro 80 a 82 s) para o grupo tratado durante 3 dias com vitamina A; (C) Registro de ECG representado no traçado com duração de 2 minutos para o grupo tratado com vitamina A durante 7 dias; (D) Ampliação de registro em 2 s (período do registro 80 a 82 s) para o grupo tratado durante 7 dias com vitamina A; (E) Registro de ECG representado no traçado com duração de 2 minutos para o grupo tratado com vitamina A durante 14 dias; (F) Ampliação de registro em 2 s (período do registro 80 a 82 s) para o grupo tratado durante 14 dias com vitamina A

Para os grupos tratados com altas doses de acetato de retinol nos períodos de 3 dias (**FIGURAS 10 A e B**), 7 dias (**FIGURAS 10 C e D**) e 14 dias (**FIGURAS 10 E e F**) todos apresentaram ritmo sinusal com manutenção das características eletrofisiológicas cardíacas.

FIGURA 11 - Médias de frequência cardíaca, amplitude do complexo QRS e intervalo R-R registradas nos grupos controle, veículo e tratados com acetato de retinol.



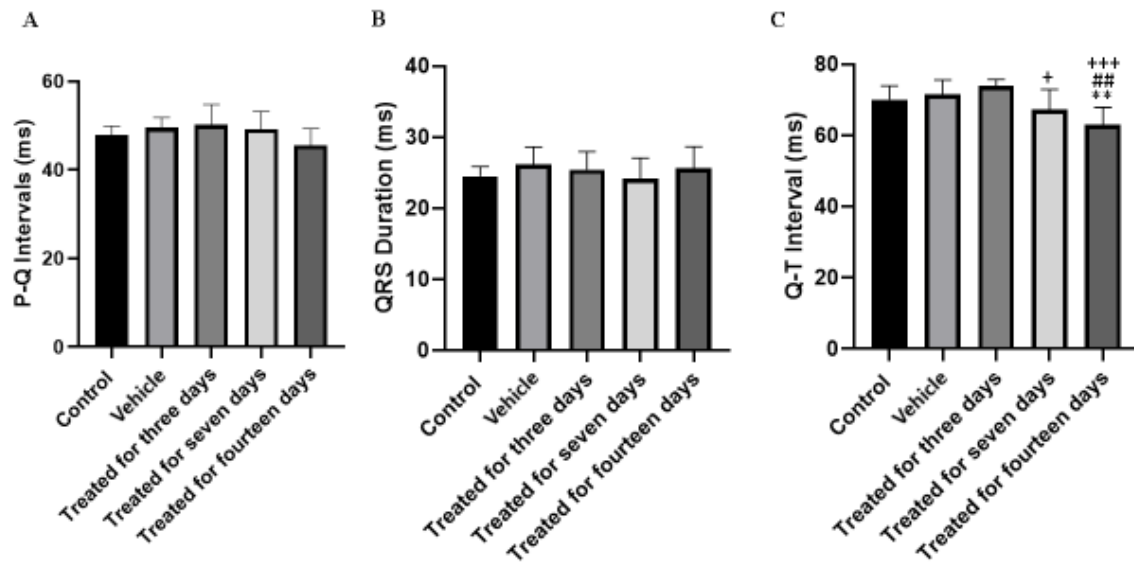
Fonte: os autores. (A) Avaliação das médias de frequência cardíaca (bpm) dos eletrocardiogramas para os grupos; (B) Avaliação das médias de amplitude (mV) dos eletrocardiogramas para os grupos; (C) Avaliação das médias de intervalos R-R (ms) para os grupos. (*) indica diferença estatística para o grupo controle; (#) indica diferença estatística para o grupo veículo; (+) indica diferença estatística para o grupo tratado por 3 dias; (^) indica diferença estatística para o grupo tratado por 7 dias (Após ANOVA seguida de Tukey, * P<0,01 ** P<0,001 ***P<0.0001, n=9).

A atividade cardíaca foi avaliada para cada grupo de animais, para a frequência cardíaca foi observada diferença estatística entre os grupos ($F(4,40) = 16,12$; $p < 0,0001$). Os animais que receberam acetato de retinol durante 14 dias apresentaram aumento da frequência cardíaca média de $412,0 \pm 19,52$ bpm em comparação com os grupos controle ($360,0 \pm 18,28$ bpm; $p < 0,0001$); grupo veículo ($359,8 \pm 15,86$ bpm; $p < 0,0001$); animais tratados por 3 dias ($362,0 \pm 18,52$ bpm; $P < 0,0001$) e animais tratados por 7 dias ($387,6 \pm 13,67$ bpm; $p < 0,01$). Os animais tratados com a acetato de retinol durante 7 dias apresentaram diferença estatística para os grupos controle, veículo e tratados por 3 dias ($p < 0,01$) (**FIGURA 11 A**).

A amplitude do eletrocardiograma demonstrou diferença entre os grupos tratados com acetato de retinol durante 14 dias ($0,7507 \pm 0,06040$ mV) e o grupo veículo ($0,6505 \pm 0,04417$ mV; $p < 0,01$). Para os outros grupos: controle ($0,6782 \pm 0,04417$ mV), grupo tratado por 3 dias ($0,6797 \pm 0,06748$ mV) e grupo tratado por 7 dias ($0,7201 \pm 0,06748$ mV) não demonstrou diferença estatística ($p > 0,01$) ($F(4, 40) = 3,662$; $p = 0,0124$) (**FIGURA 11 B**).

Os animais que receberam acetato de retinol apresentaram diminuição do intervalo R-R, foi observada diferença estatística ($F(4,40) = 14,49$; $p < 0,0001$). Os animais tratados com vitamina A durante 14 dias apresentaram média de intervalo R-R de $145,3 \pm 7,018$ ms em comparação com o grupo controle ($166,6 \pm 8,308$ ms; $p < 0,0001$); grupo veículo ($166,4 \pm 7,601$ ms; $p < 0,0001$); grupo tratado por 3 dias ($165,6 \pm 8,502$ ms; $p < 0,0001$) e grupo tratado por 7 dias ($154,7 \pm 5,477$ ms; $p < 0,01$). O grupo tratado por 7 dias apresentou diferença estatística para os grupos controle, veículo e tratados por 3 dias ($p < 0,01$) (**FIGURA 11 C**).

FIGURA 12 - Médias de intervalo P-Q, duração de QRS e intervalo Q-T registradas nos grupos controle, veículo e tratados com acetato de retinol.



Fonte: os autores. (A) Avaliação das médias de duração dos intervalos P-Q (ms) para os grupos; (B) Avaliação das médias de duração do complexo QRS (ms) para os grupos; (C) Avaliação das médias de duração dos intervalos Q-T (ms) para os grupos. (*) indica diferença estatística para o grupo controle; (#) indica diferença estatística para o grupo veículo; (+) indica diferença estatística para o grupo tratado por 3 dias; (^) indica diferença estatística para o grupo tratado por 7 dias. (Após ANOVA seguida de Tukey, * $P < 0,01$ ** $P < 0,001$ *** $P < 0,0001$, $n=9$).

No intervalo P-Q ($F(4, 40) = 2,368$; $p = 0,0688$) e duração do QRS ($F(4, 40) = 0,9462$; $p = 0,4474$) nenhuma diferença foi observada (**FIGURAS 12 A e B**). Foi observada diferença significativa entre os grupos no intervalo Q-T ($F(4, 40) = 8,550$; $p < 0,0001$), com os animais tratados com vitamina durante 14 dias ($63,02 \pm 4,876$ ms;) quando comparado com os grupos controle ($70,01 \pm 3,892$ ms; $p < 0,001$); grupo veículo ($71,47 \pm 4,125$ ms; $p < 0,001$) e

grupo tratado por 3 dias (73.83 ± 1.876 ms; $p < 0.0001$). Para o grupo tratado por 7 dias (67.30 ± 5.599 ms) foi observada diferença estatística para o grupo tratado durante 3 dias ($p < 0.01$) (**FIGURA 12 C**).

6. DISCUSSÃO

A eletroencefalografia (EEG) tem sido comumente utilizada para avaliar a atividade cerebral global; a combinação dos achados do EEG e dos estudos de imagem oferece uma visão mais completa de alterações patológicas no cérebro (TIMO-IARIA, 1971). No entanto, ainda é pequeno o número de artigos existentes que investigam o impacto do uso de vitamina A na potência de bandas do EEG, mesmo sendo a vitamina A e seus metabólitos tão importantes para regulação de diversos eventos celulares (GUDAS, 1994).

Diante disso, em nosso experimento foi observado nos traçados eletrocorticográficos, que a vitamina A em altas doses aumentou a força de banda das ondas cerebrais. Do mesmo modo, observamos que o grupo tratado com vitamina A durante três dias teve maior distribuição de força nas frequências acima de 10 Hz quando comparado ao grupo controle e veículo (**FIGURA 6 C**). No grupo que recebeu vitamina A durante sete dias, também pode ser observada alteração no traçado ECoG, representando aumento de intensidade de potência nas frequências abaixo de 15 Hz (**FIGURA 6 D, DIREITA**). Para o grupo que recebeu tratamento durante 14 dias foi possível observar alterações de traçado ECoG com maior intensidade nas frequências até 40 Hz (**FIGURA 6 E**), porém a amplitude se manteve abaixo de 0,1 mV, para os grupos tratados com a vitamina A. De forma análoga aos nossos achados, foi observado que bandas de ondas cerebrais são geralmente aumentadas em portadores de esquizofrenia quando comparado a indivíduos saudáveis (ARORA, 2021). E também, em outros estudos, mostram que a atividade de ondas Delta, Teta, Beta aumentam (GRIN-YATSENKO, 2017). Por outro lado, a atividade de ondas Alfa é mais frequentemente aumentada (NEWSON, 2019).

Existem relatos de altas doses de vitamina A causando confusão, irritabilidade, ansiedade, depressão e ideação suicida (Snodgrass, 1992). Além disso, Oliveira (2007a, b, 2011) mostrou que a suplementação aguda e crônica de vitamina A na dose terapêutica (1000 UI /kg dia ou 2500 UI / kg dia) ou doses altas (4500 UI /kg dia ou de 9000 UI / kg dia) induzem insulto oxidativo no córtex cerebral e cerebelo de rato adulto (DE OLIVEIRA, 2007a). E também observou que a suplementação de palmitato de retinol (1.000 a 9.000 UI / dia) por 28 dias diminuiu o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no hipocampo de ratos (DE OLIVEIRA, 2011).

A decomposição da distribuição da potência espectral total revelou mudanças no rastreamento das potências nas oscilações até 40 Hz nos animais tratados com vitamina A

durante 3, 7 e 14 dias. (**FIGURA 7 A**). Vale ressaltar que em todos os grupos que receberam tratamento com vitamina A por 14 dias apresentaram diferença estatisticamente significativa quando comparados ao grupo controle e ao grupo tratado com óleo de amendoim, o que nos leva a supor, que quanto maior o tempo de exposição a vitamina A, ou seja, o uso crônico, maiores são as alterações nas forças de bandas das ondas cerebrais. Desse modo corroborando conosco, ainda que seus achados tenham sido por meio de testes bioquímicos, Oliveira (2007a), ao analisar oxidação de proteínas do grupo tiol de partículas sub mitocondriais em córtex cerebral de ratos suplementados com vitamina A em doses de 1000 UI/kg, 2500 UI/kg, 4500 UI/kg e 9000 UI/kg durante 3, 7 e 28 dias, e verificou a existência de correlação entre as diferentes dosagens e os diferentes tempos de tratamento, observado pela redução de proteínas do grupo tiol de partículas sub mitocondriais, onde suas concentrações reduziram de forma tempo dependente ao longo do experimento, gerando um dano oxidativo.

Também em nosso experimento, foi possível observar alterações significativas de ondas Delta (1-4 Hz), sendo mais prevalentes no grupo tratado com vitamina A por 3 dias quando comparado aos demais grupos que sofreram alterações nessa frequência de onda. É interessante referir que Arora (2021), em seu experimento eletroencefalográfico em humanos, observou que as ondas Delta e Teta tinham intensidade maior em indivíduos com esquizofrenia quando comparado aos indivíduos saudáveis. E ainda é válido ressaltar que as alterações que encontramos em ondas Teta (4-8 Hz) foi mais evidente no grupo que recebeu tratamento com vitamina A por 14 dias. O que nos leva a pensar que as alterações de força nas bandas de ondas Teta, na dose de 50.000 UI/kg de vitamina A, tenha uma relação tempo dependente, entretanto, mais pesquisas são necessárias para corroborar com nosso achado.

Do mesmo modo, tanto na faixa de frequência de Beta (12-28 Hz) quanto de Gama (28-40 Hz) também foi observada diferença significativa no grupo que recebeu vitamina A por 14 dias quando comparado ao grupo controle e veículo, o que pode ser explicado pelo fato de que os eventos modulados pela ação nuclear (via clássica) da vitamina A e retinóides que podem demorar horas ou, até mesmo, dias para produzirem alterações biológicas significativas, uma vez que estes priorizam ativação gênica, transcrição, tradução e acumulação de novas proteínas. (AGGARWAL, 2006). Um aumento na atividade Beta sobre as áreas parietal e occipital foi observado em pacientes com depressão do tipo ansiedade (YAMADA, 1995) em pacientes idosos deprimidos.

Por outro lado, dentre os grupos que tratamos com altas dose de vitamina A, o grupo que foi tratado durante 7 dias, sofreu maior alteração na faixa de frequência de Alfa (8-12

Hz), quando comparados ao grupo controle e ao grupo veículo. Grin-Yatsenko, em 2009, comparou registros eletroencefalográficos em seu estudo entre indivíduos saudáveis e indivíduos com estágios iniciais de transtorno depressivo e observou, entre outras alterações, aumento na força de banda de Alfa em sítios parietais e occipitais no grupo com transtorno depressivo.

Durante nosso trabalho, os animais tratados com vitamina A não mostraram mudanças comportamentais e mantiveram sua ingestão de comida e água semelhante aos grupos controle e veículo (dados não mostrados). Ainda que avaliar o comportamento não tenha sido o foco principal, podemos inferir, que alterações comportamentais possam ser mais tempo-dependentes do que dose-dependentes. Ainda que existam estudos que mostram que qualquer dose, mesmo as consideradas fisiológicas antes consideradas inocentes (MACTIER, 2005), quando usadas cronicamente são capazes de alterar o comportamento (OLIVEIRA, 2007a). Corroborando com isso, Mactier e Weaver (2005) observaram que a vitamina A em qualquer dose, administrada de forma crônica, foi eficaz em diminuir a locomoção e a exploração em testes específicos durante seu experimento.

Por outro lado, alteração de comportamento em humanos, foi associado a hipervitaminose A aguda, em indivíduos que consumiram grande quantidade de fígado de urso polar, onde a quantidade consumida por indivíduo foi de aproximadamente 6.750.000 UI de vitamina A, tendo como consequência horas depois da ingestão, alteração como: lentidão, sonolência e irritabilidade e outras. Esse comportamento ficou conhecido como "histeria polar" e foi comparado à esquizofrenia (RODAHL, 1943). No entanto, mais pesquisas são necessárias para elucidar o mecanismo pelo qual a suplementação de vitamina A pode prejudicar o comportamento dos ratos.

É interessante ressaltar que a suplementação de vitamina A induziu uma diminuição no imuno conteúdo do receptor D2 (D2R) na substância negra e no estriado (OLIVEIRA, 2012) cujos baixos níveis de D2R podem causar um aumento da liberação de dopamina nos neurônios catecolaminérgicos, o que pode levar a níveis excedentes de dopamina nos ambientes extracelular e intracelular dos neurônios pós-sinápticos (JORQ, 2014).

Dessa forma, corroborando com a hipótese dopaminérgica como uma das etiologias da esquizofrenia. A hipótese dopaminérgica é a mais citada como associada aos sintomas de esquizofrenia (STONE, 2007). Numa formulação mais recente, uma hipofunção dopaminérgica no córtex pré-frontal seria responsável pelos sintomas negativos e um evento primário na esquizofrenia, levando a uma hiperfunção dopaminérgica secundária no estriado,

o que, por sua vez, levaria ao surgimento dos sintomas positivos (STONE, 2007). O que nos leva a lembrar da "histeria polar".

O eletrocardiograma foi utilizado para avaliar a atividade cardíaca nos grupos de animais tratados com altas doses de vitamina A, grupo controle e grupo veículo. O ECG demonstrou aumento da frequência cardíaca com diferença estatística entre os grupos. Os animais que receberam vitamina A durante 14 dias apresentaram aumento da frequência cardíaca que variou entre 392 a 434 bpm, e o grupo tratado por 7 dias apresentou variação de frequência cardíaca de 373 a 401 bpm em comparação aos grupos controle e grupo veículo e ao grupo tratado por 3 dias. No entanto, esse aumento da frequência cardíaca não se caracteriza como uma taquicardia, visto que o valor de referência de taquicardia, em ratos, ocorre em frequência cardíaca a partir de 450 bpm (HARKNESS, 1993). Esse aumento da frequência cardíaca, provavelmente, ocorreu pela diminuição do intervalo Q-T, visto que o intervalo P-Q (P-R) e a duração do complexo QRS não sofreram alteração. Em consequência disso, também houve redução do intervalo R-R.

Ademais, os animais que receberam vitamina A apresentaram no ECG redução do intervalo R-R, ocorrido à custa da redução do intervalo Q-T. Que provavelmente, aconteceu tanto pelo encurtamento do segmento S-T ou quanto pela redução da base da onda T ou ainda pelo encurtamento de ambos. É sabido, que o encurtamento do segmento S-T pode ocorrer frente à hipercalcemia e o encurtamento da base da onda T pode ocorrer frente a uma situação de hiperpotassemia (BALTAZAR, 2009). Segundo os estudos de FRIEDMANN (2018, 2021), o encurtamento do intervalo Q-T se dá à custa da diminuição do segmento S-T e/ou da onda T, sendo estes os achados mais comuns na redução do intervalo R-R e isso se deve, principalmente, pelo encurtamento do segmento S-T em consequência do aumento da concentração sérica de cálcio (WESSON, 2009; FRIEDMAN, 2021). Vale ressaltar que Hall (2011), relatou que a hipercalcemia pode ser, facilmente visualizada em ECG, pelo fato de encurtar a duração do segmento S-T e consequente gerar redução do intervalo Q-T.

Além disso, o aumento de amplitude de onda T é a primeira alteração que surge no ECG quando os níveis de potássio sérico começam a se elevar. A onda T aumenta de amplitude se tornando alta, pontiaguda e simétrica, porém com base estreita. Sua eletrogênese parece estar relacionada ao aumento da velocidade da repolarização ventricular, que também acarreta diminuição do intervalo Q-T na fase inicial da hiperpotassemia, antes do alargamento do QRS (FRIEDMANN, 2018). Os distúrbios eletrolíticos determinam alterações marcantes no ECG, como nos desequilíbrios do potássio e do cálcio, onde as modificações da onda T e

do segmento S-T são tão características que é possível suspeitar do diagnóstico somente pela análise do ECG (FRIEDMANN, 2021). Também é interessante ressaltar, que o intervalo Q-T curto é inversamente proporcional aos níveis séricos de cálcio (BRONSKY, 1961).

Embora não tenha sido mensurado, os níveis séricos de cálcio, podemos supor a correlação entre os achados eletrocardiográficos e hipercalcemia, visto que alguns autores observaram que exposição a doses elevadas de vitamina A influencia no metabolismo desse íon, principalmente quando ocorre ingestão de vitamina A pré-formada (forma ativa da vitamina A: alta eficiência de absorção através das proteínas de transporte intestinal– na faixa de 70% a 90%) (KINDMARK, 1998; BORGAN, 2022; NIH, 2022). Embora, o mecanismo de reabsorção óssea e hipercalcemia induzidas pela vitamina A seja pouco compreendido, se supõe que seja secundária ao aumento da atividade osteoclástica, redução dos osteóides, supressão da atividade osteoblástica e desregulação hormonal da homeostase do cálcio (FRANKEL, 1986; SCHEVEN, 1990). Contudo, os efeitos da toxicidade da vitamina A na reabsorção óssea foram observados independentemente dos níveis séricos de cálcio, fosfato e vitamina D (KINDMARK, 1998).

A amplitude do complexo QRS no registro eletrocardiográfico demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos tratados com acetato de retinol durante 14 dias e o grupo veículo (**FIGURA 11 B**). Esse aumento de amplitude com complexo QRS pode estar relacionado, segundo Thaler (2013) com sobrecarga ventricular esquerda que pode levar a hipertrofia ventricular esquerda. Chen (2002), em seu estudo encontrou uma associação estatisticamente forte, independente e positiva entre medidas de retinol sérico e número de indivíduos com hipertensão onde essa associação revelava um aumento diretamente proporcional entre pacientes com hipertensão arterial sistêmica e doses séricas mais elevadas de vitamina A.

Vale lembrar, que a hipertensão arterial pode levar a um aumento de pós-carga, e com isso causar sobrecarga ventricular esquerda (MOHRMAN, 2018). Essa alteração na pressão arterial pode ser explicada pela da hipercalcemia provocada por altas doses de vitamina A (BORGAN, 2022). Marone (1981) observou em estudo experimental em humanos, que hipercalcemia provoca aumento da resistência vascular periférica, levando ao aumento da pressão arterial sistêmica como consequência, tendo a ativação simpática como um papel secundário nesse mecanismo fisiopatológico.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo concluiu que há evidências importantes de alterações cerebrais e cardíacas causadas por altas doses de vitaminas A.

A exposição a doses suprafisiológicas de Vitamina A (Retinol) causou alterações Sistema Nervoso Central.

As oscilações alteraram agudamente nas forças das bandas das ondas cerebrais no intervalo de frequências de 1 a 12 Hz.

O aumento da frequência cardíaca, o aumento de amplitude do complexo QRS, a redução do intervalo Q-T e a redução do intervalo R-R, representam alterações da atividade cardíaca decorrentes da intoxicação por doses suprafisiológicas de Vitamina A, representada através do eletrocardiograma (ECG). Essas alterações ocorreram, possivelmente, em consequência do aumento da concentração sérica de cálcio. Porém, mais estudos são necessários para melhor compreender as alterações causadas em neurônios e nos cardiomiócitos envolvendo doses suprafisiológicas de vitamina A.

8. REFERÊNCIAS

AGGARWAL S, et al. Nonclassical action of retinoic acid on the activation of the cAMP response element binding protein in normal human bronchial epithelial cells. **Molecular Biology of the Cell**; v. 17, p. 566-575, 2006.

AIMONE JB, et al. Regulação e função da neurogênese adulta: dos genes à cognição. **Physiol Rev**; v. 94, p. 991-1026, 2014.

ALEXANDER, F. Uso do sinal eletrocardiográfico para avaliação do sistema nervoso autônomo cardíaco. **Artes Médicas**, 1989.

ALLEN, L.H.E.; HASKELL, M. Estimando o potencial de toxicidade da vitamina A em mulheres e crianças pequenas. **J Nutr**; v. 132, p. 2907-19S, 2002.

ALTUCCI, L; GRONEMEYER, H. The promise of retinoids to fight against cancer. **Nat Rev Cancer**, v. 1 n. 3 p. 181-193, 2001. Disponível em: doi: 10.1038/35106036. PMID: 11902573.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consultas. **BULA DO MEDICAMENTO FAR-MANGUINHOS VITAMINA A**. Rio de Janeiro, RJ, 24 de março de 2021. Acessado em: 27 de junho de 2021. Disponível em : <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/6547?nomeProduto=FAR-MANGUINHOS%20VITAMINA%20A>.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consultas. **BULA DO MEDICAMENTO NEOTIGASON® (Acitretina)**. São Paulo, SP, 12 de abril de 2021. Acessado em: 15 de maio de 2022. Disponível: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/detalhe/1265347?numeroRegistro=155730046>.

ARGOUD, F.I.M. **Contribuição à automatização da detecção e análise de eventos epileptiformes em eletroencefalograma**. Florianópolis, 2001. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

ARORA, M. et al. Alterations of Resting EEG in Hallucinating and Nonhallucinating Schizophrenia Patients. **Clin EEG Neurosci**, v. 52 n. 3 p. 159-167, Maio/2021. Disponível em: doi: 10.1177/1550059420965385. PMID: 33074718.

BALTAZAR, Romulo F. Basic and Beside Electrocardiography. Belmonte: Lippincott Williams & Wilkins, 2009. pg16 - 20. Disponível em: <

https://books.google.com.br/books/about/Basic_and_Bedside_Electrocardiography.html?id=GXOQbDsCyLoC&redir_esc=y >. Acesso em: 09 mai. 2022.

BERBARI, E.J. Principles of electrocardiography. In: BRONZINO, J. D. (Ed.). **The Biomedical Engineering Handbook**. 2. ed. [S.l.]: CRC Press, 2000. cap. 13.

BERGER, H. Über das Elektroenkephalogramm des Menschen. **Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten**, v. 94 n. 1 p. 16-60, Dez/1931.

BERGER, R.D. et al. Beat-to-beat QT interval variability novel evidence for repolarization lability in ischemic and nonischemic dilated cardiomyopathy. **Circulation**, v. 96 n. 5 p. 1557–1565, 1997.

BETHESDA. **LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury**. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Vitamin A. . 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548165/>

BIERHAUS, A. et al. Entendendo o RAGE, o receptor para produtos finais de glicação avançada. **J Mol Med**, Berlin, v. 83, p. 876-886, 2005.

BOLLAG, W. Vitamin A and retinoids: from nutrition to pharmacotherapy in dermatology and oncology. **Lancet April**; v. 16, p. 860-863, 1983.

BORGAN, Saif; KHAN, Leila; MAKIN, Vinni. Hypercalcemia and vitamin A: A vitamin to keep in mind. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v.89 n.2 p.99-105, Fev/2022. Disponível em: DOI: 10.3949/ccjm.89a.21056.

BRAGA, D.A.S. **Testes de otimização no estudo da relação entre sinais de EEG e EMG em tarefas motoras**. Lisboa, 2016. 721. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) - Departamento de Licenciatura em Ciências da Engenharia Biomédica, Universidade Nova de Lisboa, 2016.

BRONSKY, D. et al. Calcium and the electrocardiogram II. The electrocardiographic manifestations of hyperparathyroidism and of marked hypercalcemia from various other etiologies. **Am J Cardiol**, v.7 p.833, 1961.

BROWN D.J., GOODMAN J. A review of vitamins A, C and E and their relationship to cardiovascular disease. **Clinical Excellence for Nurse Practitioners**; v. 2, p. 10- 22, 1998.

BUZSAKI, G. Theta rhythm of navigation: link between path integration and landmark navigation, episodic and semantic memory. **Hippocampus**, v. 15, n.7, p.827-840, 2005.

CARDOSO, KG.M. **Análise comportamental e eletrofisiológica do uso de Glicocorticóides no Sistema Nervoso Central em modelos animais de depressão**. Belém, 2017. 68f. Dissertação (Mestrado em Neurociências e Comportamento) Departamento de Pós-Graduação em Neurociências e Comportamento, Universidade Federal do Pará, 2017.

Center for Disease Control. **Use of supplements containing high-dose vitamin A** — New York State, 1983–1984. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1987;36:80-2.

CHAMBON, P. The retinoid signaling pathway: Molecular and genetic analyses. **Seminars in Cell Biology**; v. 5, p. 115-125, 1994.

CHEN, Jing *et al.* Serum Antioxidant Vitamins and Blood Pressure in the United States Population. **Hypertension**, v. 40 n. 6 p. 810-816, Dez/2002.

CHIU H.J.; FISCHMAN, D.A.; HAMMERLING, U. Vitamin A depletion causes oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and PARP-1-dependent energy deprivation. **FASEB Journal**; v. 22, n. 11, p. 3878-3887, 2008.

CLAGETT-DAME, M. KNUTSON, D. Vitamin A in reproduction and development. **Nutrients**. 3: 385–428, 2011.

CORREIA, L.C. **Codificação eficiente para caracterização de eletroencefalograma de pacientes epiléticos**. São Luis, 2018. 55f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Eletricidade) - Departamento de Pós-Graduação em Engenharia de Eletricidade, Universidade Federal do Maranhão, 2018.

COZZOLINO, Silvia Maria Franciscato. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. [S.l.: s.n.], 2016.

CRANDALL, J. et al.. O ácido 13-cis-retinóico suprime a divisão celular do hipocampo e a aprendizagem dependente do hipocampo em camundongos. **Proc Natl Acad Sci USA**; v. 101, p. 5111-5116, 2004.

DAS, B.C. et al. Vias de sinalização de ácido retinóico no desenvolvimento de doenças. **Bioorg Med. Chem.**; v. 22, p. 673-683, 2014.

DAVIDSON. R.J. What does the prefrontal cortex 'do' in affect: perspectives on frontal EEG asymmetry research. **Biol Psychol**, v.67, n. 1-2, p.219-233, Out/2004.

DE OLIVEIRA, M. **The neurotoxic effects of vitamin A and retinoids**. Anais da Academia Brasileira de Ciências [online]. 2015, v. 87, n. 2 suppl [Accessed 11 April 2022],

pp. 1361-1373. Available from: <<https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140677>>. Epub 04 Aug 2015. ISSN 1678-2690. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201520140677>

DE OLIVEIRA, M.R. et. al. A suplementação de vitamina A em doses clínicas induz uma disfunção nos estados redox e bioenergéticos, mas não alterou as atividades das caspases nem os níveis de TNF-alfa no córtex frontal de ratos Wistar adultos. **J Psychiatr Res**; v. 43, p. 754-762, 2009a.

DE OLIVEIRA, M.R. et. al. A suplementação de vitamina A induz um estado pró-oxidativo no estriado e prejudica a atividade locomotora e exploratória de ratos adultos. **Brain Res**; v. 1169, p. 112-119, 2007b.

DE OLIVEIRA, M.R. et. al. Aumento do receptor de imunoconteúdo de produtos finais de glicação avançada no córtex cerebral de ratos tratados com vitamina A. **Neurochem Res**; v. 34, p. 1410-1416, 2009b.

DE OLIVEIRA, M.R. et. al. Estresse nitrosativo total e mitocondrial, níveis reduzidos de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e captação de glutamato e evidência de estresse do retículo endoplasmático no hipocampo de ratos tratados com vitamina A. **Neurochem Res**; v. 36, p. 506-517, 2011.

DE OLIVEIRA, M.R. et. al. Os efeitos da suplementação de vitamina A por 3 meses no eixo nigrostriatal de ratos adultos: aumento da atividade da enzima monoamina oxidase, disfunção redox mitocondrial, aumento do peptídeo β -amilóide (1-40) e conteúdo de TNF- α e suscetibilidade das mitocôndrias a um H₂O₂ in vitro desafio. **Brain Res Bull**; v. 87, p. 432-444, 2012.

DE OLIVEIRA, M.R.; MOREIRA, J.C. Estado redox e atividades enzimáticas da cadeia respiratória prejudicadas no cerebelo de ratos tratados com vitamina A. **Toxicology**; v. 253, p. 125-130, 2008.

DE OLIVEIRA, M.R.; MOREIRA, J.C.F. Acute and chronic vitamin A supplementation at therapeutic doses induces oxidative stress in submitochondrial particles isolated from cerebral cortex and cerebellum of adult rats. **Toxicology Letters**; v. 173, n. 3, p. 145-150, 2007a. Disponível em: DOI: [10.1016/j.toxlet.2007.07.002](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.07.002) ; PMID: 17698304

DE OLIVEIRA, Marcos; OLIVEIRA, Max; MOREIRA, José. As doses farmacológicas de vitamina A aumentam seletivamente a atividade da caspase-3 no córtex cerebral. **Fundam Clin Pharmacol**; v. 24, p. 445-450, 2010.

DEANE, R. et al. O RAGE medeia o transporte de peptídeo beta-amilóide através da barreira hematoencefálica e a acumulação no cérebro. **Nat Med**; v. 9, p. 907-913, 2003.

DINIZ, L; ANTONIOSI FILHO, N. Isotretinoína: perfis farmacológico, farmacocinético e analítico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 38, n. 4, p. 415-430, Out/Dez 2002. Disponível em: <http://www.cdrompro.com.br/ufg>. Acesso em: 18 abr. 2020.

DRUGDEX - DRUG EVALUATIONS. **Isotretinoín**. Disponível em: <http://www.cdrompro.com.br/ufg>. Acesso em: 26 mar 2001.

EDMONDSON, D.E. Peróxido de hidrogênio produzido pela catálise mitocondrial de monoamina oxidase: implicações biológicas. **Curr Pharm Des**; v. 20, p. 155-160, 2014.

EMS.Farmacéutica.BULAIISOTRETINOÍNA.1999.Dosponivel<<https://www.ems.com.br/arquivos/produtos/bulas/bula_isotretinoina_10859_1480.pdf>>.Acessado:15 de mai. 2022.

FALÉ, A.G.; SOARES, L. Vitaminas. *In*: SOARES, MA (ed.). **Medicamentos não Prescritos Aconselhamento Farmacêutico**. 2ª Edição. Lisboa, Publicações Farmácia Portuguesa, v. 2, p. 1091-1097, 2002.

FENAUX, P.; CHOMIENNE, C.E.; DEGOS, L. Tratamento da leucemia promielocítica aguda. **Best Pract Res Clin Haematol**; v. 14, p. 153-174, 2001.

FINK, A. et al. The creative brain: investigation of brain activity during creative problem solving by means of EEG and FMRI, **Hum Brain Mapp**, v.30, n.3, p.734-748, Mar/2009.

FISCH, C. Centennial of *the* string galvanometer and the electrocardiogram. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 36, n. 6, p. 1737-1745, 2000.

FISKER, A.B. et al . Altas doses de vitamina A com vacinação após 6 meses de idade: um estudo randomizado. **Pediatrics**; v. 134, p. 739-748, 2014.

FRANKEL TL. et al. Hipervitaminose A e hormônios reguladores de cálcio no rato. **J Nutr**, v.116 n.4 p.578-587, 1986. Disponível em: doi: 10.1093/jn/116.4.578.

FRIEDMANN, A.A. Eletrocardiograma: teste mais rápido para diagnosticar hiperpotassemia. **Diagn Tratamento**, v. 23 n. 2 p. 59-60, 2018.

FRIEDMANN, Antonio. Alterações do segmento ST e da onda T nos distúrbios eletrolíticos. **Diagn Tratamento**. v. 26 n. 4 p. 147-150, 2021, São Paulo, Brasil. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/12/1348614/rdt_v26n4_147-150.pdf. Acessado em: 04/04/2022

FURR, H.C. et al. As concentrações de vitamina A no fígado são determinadas por ensaio de diluição isotópica com vitamina A tetradeuterada e por biópsia em humanos adultos geralmente saudáveis. **Am J Clin Nutr**; v. 49, p. 713-716, 1989.

GALINSKY, TL; ROSA, R.R, WARM, J.S.: DEMBER, W.N. Psychophysical determinants of stress in sustained attention. **Hum Factors**, v.35, n.4, p.603-614, Dez/1993.

GELAIN, D.P; MOREIRA, J.C.F. Evidence of increased reactive species formation by retinol, but not retinoic acid, in PC12 cells. **Toxicology in Vitro**; v. 22, p. 553- 558, 2008.

GELAIN, DP. et al. Retinol induces the ERK1/2-dependent phosphorylation of CREB through a pathway involving the generation of reactive oxygen species in cultured Sertoli cells. **Cellular Signalling**; v. 18 p.1685-1694, 2006.

GENENTECH USA, **HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION. XENICAL (Orlistat) Capsules**, for oral use Initial U.S. Approval: 1999. 2017. Acessado em 15 de mai 2022. Disponível:https://xenical.com/pdf/PI_Xenical-brand_FINAL.PDF.

GOMES, M.M. Bases fisiológicas do eletroencefalograma. **Rev Bras Neurol**, v.51, n.1, p.12-17, Mar/2015.

GOODWIN, T.W. **The biosynthesis of Vitamin A and related compounds**. London: Academic, 1963.

GRANDJEAN, E. **Ajustando a tarefa ao homem: um livro didático de ergonomia ocupacional**. 4. ed. Londres: Taylor e Francis, 1988.

GREEN, DR; GALLUZZI, LE; KROEMER, G. Biologia celular. Controle metabólico da morte celular. **Science**; v. 345, n. 6203, p. 250-256, 2014.

GRIN-YATSENKO, V.A. et al. Local and widely distributed EEG activity in schizophrenia with prevalence of negative symptoms. **Clin EEG Neurosci.**, v. 48 p. 307-312, 2017. Disponível em: doi:10.1177/1550059416683283

GRIN-YATSENKO, Vera; Independent component approach to the analysis of EEG recordings at early stages of depressive disorders. **Clinical Neurophysiology**, v. 121 p. 281-289, Dez/2009. Disponível em: doi:10.1016/j.clinph.2009.11.015

GUDAS, L.J; SPORN, M.B; ROBERTS, A.B.. Cellular Biology and Biochemistry of the Retinoids. *In: SPORN, M.B; ROBERTS, A.B; GOODMAN D.S. (Aut.). The retinoids: Biology, Chemistry and Medicine.* New York, NY: Raven Press, 1994. p. 443-520.

GUNDERSEN, TH.E., BLOMHOFF, R. Qualitative and quantitative liquid chromatography determination of natural retinoids in biological sample. **J. Chromatogr. A**; Amsterdam, v. 935, n. 1-2, p. 13-43, 2001.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002.

HALL JE. Guyton and Hall. **Textbook of Medical Physiology**. 12th ed. Philadelphia: Elsevier; 2011.

HALLIWELL B. Estresse oxidativo e neurodegeneração: onde estamos agora? **J. Neurochem**; v. 97, p. 1634-1658, 2006.

HARKNESS, J.E; WAGNER, J.E. **Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores**, 3ª ed. São Paulo, Roca. 238p, 1993.

HARRISON EH, HASSAIN MM. Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin A. **Journal of Nutrition**; v. 131, p. 1405-1408, 2001.

HARRISON, E. H. Mechanism of digestion and absorption of dietary vitamin A. **Annual Review of Nutrition**; v. 25, n. 1, p. 87-103, 2005.

HARRISON, EH. Mechanisms involved in the intestinal absorption of dietary vitamin A and provitamin A carotenoids. **Biochim Biophys Acta**, v.1821 n. 1 p.70-77, Jan/2012. Disponível em: doi: 10.1016/j.bbali.2011.06.002.

HERRMANN, CS .; STRÜBER, D .; HELFRICH, R.F .; ENGEL, AK. Oscilações de EEG: da correlação à causalidade. *Int J Psychophysiol*, v. 103, p. 21/12, Mai/2016.

HERSHEY, A. D. Cefaleias Secundárias. *In: KLIEGMAN, R. M. et al. (Aut.). Nelson Tratado de Pediatria*. 19 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 7169-7171.

HICKS, V.A; GUNNING, D.B; OLSON, J.A. Metabolism, plasma transport and biliary excretion of radioactive vitamin A and its metabolites as a function of liver reserves of vitamin A in the rat . **J Nutr**, v. 114 p. 1327 – 1333, 1984.

HOYOS B, et al. The cysteine-rich regions of the regulatory domains of Raf and protein kinase C as retinoid receptor. **Journal of Experimental Medicine**; v. 192, p. 835-845, 2000.

HUANG, P; CHANDRA, V.E.; RASTINEJAD, F. Ações do ácido retinóico através de receptores nucleares de mamíferos. **Chem Rev.**; v. 114, p. 233-254, 2014.

HUSSAIN, M.M. et al. Signpost in the assembly of chylomicrons. **Frontiers in Bioscience**; v. 6, p. 320-331, 2001.

HÜTTEMANN, M. et al. As múltiplas funções do citocromo c e sua regulação nas decisões de vida e morte da célula de mamíferos: da respiração à apoptose. **Mitocôndria**; v. 11, p. 369-381, 2011.

ISEKI, K; MASSRY, SG; CAMPESE, VM. Effects of hypercalcemia and parathyroid hormone on blood pressure in normal and renal-failure rats. **Am J Physiol**, v.250 n.2 p.924-929, Maio/1986. Disponível em: doi: 10.1152/ajprenal.1986.250.5.F924.

ITF- Instituto de Tecnologia em Fármacos. **Farmanguinhos Vitamina A**. Cápsulas 100.000 UI de palmitato de retinol (vitamina A) e 200.000 UI de palmitato de retinol (vitamina A).DMG-FAR-PRO-VIT-002-2021. Fundação Oswaldo Cruz, Complexo Tecnológico de Medicamentos: Av. Comandante Guarany, 447 - Jacarepaguá, Rio de Janeiro - RJ - Cep.: 22775- 903 / www.far.fiocruz.br

JALILIFAR, M. et al. Quantitative assessments of extracellular EEG to classify specific features of main phases of seizure acquisition based on kindling model in rat. **Neurosci. Lett.** v. 656, p. 144–151, 2017.

JEANDEL, C. et al. Lipid peroxidation and free radical scavengers in Alzheimer's disease. **Gerontology**; v. 35, p. 275-282, 1989.

JEE, J.P. et. al.. Estabilização do retinol totalmente trans carregando antioxidantes lipofílicos em nanopartículas lipídicas sólidas. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**; v. 63, p. 134-139, 2006.

JENNING, V. et al. Nanopartículas lipídicas sólidas carregadas com vitamina A para uso tópico: propriedades oclusivas e direcionamento do medicamento para a parte superior da pele. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**; v. 49, p. 211-218, 2000.

JOHN, E.R; PRICHEP, LS .; FRIDMAN, J .; EASTON. Neurometria: diagnóstico diferencial, assistido por computador, de disfunções cerebrais. **Science**, v.239, n.4836, p.162-169, Jan/1988.

JORENS, PG. et al. Vitamin A abuse: development of cirrhosis despite cessation of vitamin A. A six-year clinical and histopathologic follow-up. *Liver*. v. 12 n. 6 p. 381-386, Dez/1992. Disponível em: [doi:10.1111/j.1600-0676.1992.tb00592.x](https://doi.org/10.1111/j.1600-0676.1992.tb00592.x). PMID 1470008.

JORQ, M; SCAMMELLS, P.J; CAPUANO, B. Os receptores de dopamina D2 e adenosina A2A: tendências passadas, presentes e futuras para o tratamento da doença de Parkinson. *Curr Med Chem*; v. 21, p. 3188-3210, 2014.

KARRER, P.; MORF, R.; SCHOEPP, K. Helv. Chim. Acta, v. 21, p. 211-222, 1931 *Apud Nomenclature of retinoids*. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature. J. Biol. Chem., Berlin, v. 258, n. 9, p. 5329-; SCHOEPP, K.. Helv. Chim. Acta; v. 21, p. 211-222, 1931. *Apud Nomenclature of Retinoids*. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature. *Arch. Biochem. Biophys*, New York, v. 224, n. 2, p. 728-731, 1983.

KASTNER P. et al. Vitamin A deficiency and mutations of RXRalpha, RXR beta and RAR alpha lead to early differentiation of embryonic cardiac cardiomyocytes. *Development*; v. 124, p. 4749- 4758, 1997.

KINDMARK, A. et al. A terapia oral com isotretinoína na acne grave induz a supressão transitória de marcadores bioquímicos de remodelação óssea e homeostase do cálcio . *Acta Derm Venereol*, v.78 n.3 p.266-269, 1998. Disponível em: [doi: 10.1080/000155598441837](https://doi.org/10.1080/000155598441837).

KLAMT, F. et al. O tratamento com vitamina A induz apoptose através de uma ativação dependente de oxidante da via mitocondrial. *Cell Biol Int*; v. 32, p. 100-106, 2008.

KLAMT, F; DE OLIVEIRA, M; MOREIRA, J.C. Retinol induz a transição de permeabilidade e liberação de citocromo c das mitocôndrias do fígado de rato. *Biochim Biophys Acta*; v. 1726, p. 14-20, 2005.

LAL, S.K.L.; CRAIG, A. Electroencephalography activity associated with driver fatigue: Implications for a fatigue countermeasure device. *Journal of Psychophysiology*, v. 15 n. 3 p. 183–189, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1027/0269-8803.15.3.183>

LAM, H.S. et al. Risco de toxicidade da vitamina A de suplementos vitamínicos mastigáveis para crianças para crianças. *Pediatrics*; v. 118, p. 820-824, 2006.

LANE, MA; BAILEY, SJ. Papel da sinalização retinóide no cérebro adulto. *Prog Neurobiol*, v. 75 p. 275-293, 2005.

LÉVESQUE, M. et al. Oscilações de alta frequência (80-500 Hz) e epileptogênese na epilepsia do lobo temporal. **Neurobiol Dis**, v.42, n.3, p.231-241, Jun/2011.

MACDONALD, PN; BOK, D; ONG, DE. Localization of cellular retinol-binding protein and retinol-binding protein in cells comprising the blood-brain barrier of rat and human. **Proc Natl Acad Sci U S A**. v.87 n.11 p. 4265-4269, Jun/1990. Disponível em: doi: 10.1073/pnas.87.11.4265. PMID: 2190219; PMCID: PMC54089.

MACTIER, H.E; WEAVER, L.T. Vitamina A e prematuros: o que sabemos, o que não sabemos e o que precisamos saber. **Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.**; v. 90, p. 103-108, 2005. Disponível em: DOI: [10.1136/adc.2004.057547](https://doi.org/10.1136/adc.2004.057547)

MANGELSDORF, D.J; EVANS R.M. The RXR heterodimers and orphan receptors. **Cell**; v. 83: p. 841-850, 1995.

MARIEB, E. N. **Human Anatomy and Physiology**. [S.l.]: Pearson, 2004.

MARONE, C; BERETTA-PICCOLI, C; WEIDMANN, P. Acute hypercalcemic hypertension in man: role of hemodynamics, catecholamines, and renin. **Kidney Int**, v.20 n.1 p.92-96, Jul/1981. Disponível em: doi: 10.1038/ki.1981.109. PMID: 7029119.

MAROSI, K; MATTSON, M.P. O BDNF medeia respostas adaptativas do cérebro e do corpo a desafios energéticos. **Trends Endocrinol Metab**; v. 25, p. 89-98, 2014.

MARTÍNEZ-FRÍAS, ML; SALVADOR, J. Epidemiological aspects of prenatal exposure to high doses of vitamin A in Spain. **Eur J Epidemiol**.v. 6 n. 2 p. 118-123, Jun/1990. Disponível em: doi: 10.1007/BF00145783. PMID: 2361535.

MASIÁ, S; et al. Rapid, nongenomic actions of retinoic acid on phosphatidylinositol-3-kinase signaling pathway mediated by the retinoic acid receptor. **Molecular Endocrinology**; v. 21 p. 2391-2402, 2007

MASON, P. Apêndice. In: Mason, P. (Ed.). **Asesuramiento nutricional y dietético en la oficina de Farmacia**, Zaragoza, Editorial Acribia, SA, p. 326, 1994.

MCDONALD, P.N; ONG, D.E. Evidence of lecithin-retinol acyltransferase activity in the rat small intestine. **Journal of Biological Chemistry**; v. 263, p. 12478- 12482, 1988.

MEDEIROS, K.A.A.L. **Efeito do geraniol no comportamento e no padrão de ondas cerebrais de ratos**. São Cristóvão. 2015. 1091. Dissertação (Mestrado em Ciências), Departamento de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Sergipe. 2015.

MIANO, J.M; BERK B.C. Retinoids: versatile biological response modifiers of vascular smooth muscle phenotype. **Circulation Research**; v. 87, p. 355-362, 2000.

MITRA, A.K. et al. Urinary retinol excretion in children with acute watery diarrhea. **J Health Popul Nutr**, v. 20 p.12-17, 2002.

MOHRMAN, David E. **Cardiovascular Physiology**. 9. ed. New York, NY: McGraw-Hill Education LLC., 2018. ISBN 9781260026115. OCLC 1055827575

MORRICE JR, George; HAVENNER, William; KAPETANSKY, Frederick. Vitamin A intoxication as a cause of pseudotumor cerebri. **JAMA**, v. 173 n. 16 p. 1802-1805, 1960.

MORTOM, R. A, Nature, London, v. 153, p. 69-71, 1944 apud Nomenclature of Retinoids. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature. **J. Biol. Chem.**, v. 258 n. 9 p. 5329-5333, 1983, Berlin.

MURATA, M; KAWANISHI, S. Oxidative DNA damage by vitamin A and its derivative via superoxide generation. **Journal of Biological Chemistry**; v. 275, p. 2003- 2008, 2000.

MYHRE, A.M. et al. As formas miscíveis em água, emulsionadas e sólidas de suplementos de retinol são mais tóxicas do que as preparações à base de óleo. **Am J Clin Nutr**; v. 78, p. 1152-1159, 2003.

NAPOLI, J. L. Interactions of retinoid binding proteins and enzymes in retinoid metabolism. **Biochim. Biophys. Acta.**, Amsterdam, v. 1440, n. 2-3, p. 139-62, 1999.

NAPOLI, J.L. Biossíntese e metabolismo do ácido retinóico. **FASEB J**; v. 10, p. 993-1001, 1996.

NAPOLI, J.L. Informações fisiológicas sobre a biossíntese do ácido all-trans-retinóico. **Biochim Biophys Acta**; v. 1821, p. 152-167, 2012.

NEWSON, J.J; THIAGARAJAN, T.C. EEG frequency bands in psychiatric disorders: a review of resting state studies. **Front Hum Neurosci.**, v. 12 p. 521, 2019. Disponível em: doi:10.3389/fnhum.2018.00521

NIH- National Institutes of Health: Escritório de Suplementos Dietéticos. **Vitamina A**: ficha informativa para profissionais de saúde. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminA-HealthProfessional/> . Acesso em 20 de janeiro de 2022.

NOY, N. Retinol-binding proteins: mediators of retinoid action. **Biochemical Journal**; v. 348, p. 481-495, 2000

OKOGBAA, O.G.; SHELL, R.L; FILIPUSIC, D. Na investigação dos correlatos neurofisiológicos da fadiga mental do trabalhador do conhecimento usando o sinal de EEG. **Ergonomia Aplicada**. v 25, n.6, p.355-365, 1994.

OLSON, J.A. Vitamin A. *In*: ZIEGLER E.E.,FILER JR L.J. **Present knowledge in nutrition**, 5ed., International Life Sciences Institute Press, p. 109- 119, 2001.

OMENN, G.S. Chemoprevention of lung cancers: lessons from CARET, the beta- carotene and retinol efficiency trial, and prospects for the future. **European Journal of Cancer Prevention**; v. 16, p. 184-191, 2007.

OMS (Organização Mundial da Saúde). **Vitamina A na gestação e na lactação: recomendações e relatório de uma consultoria**. Recife: A Organização; 2001. (Série Micronutrientes. WHO/NUT/98.4).

O'NEIL, B. et al. Atividade elétrica quantitativa do cérebro na triagem inicial de lesões cerebrais traumáticas leves, **West J Emerg Med**, v.13, n.5, p.394-400, Nov/2012.

OTHMER, S. Tecnologias de neuromodulação Uma tentativa de classificação, *In*: BUDZYNSKI, TH., BUDZYNSKI, H.K .; EVANS, J.R .; ABARBANEL, A. **Introdução ao EEG quantitativo e Neurofeedback: teoria e aplicações avançadas**. 2.ed. Burlington: Elsevier, 2009. p.3-28.

PACHORI, RB .; BAJAJ, V. Análise de sinais de EEG de crises epilépticas e normais usando decomposição no modo empírico. **Programas de Métodos de Computação Biomed**, v.104, n.3, p.373-381, Dez/2011.

PAXINOS, George; WATSON, Charles. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**—The New Coronal Set, 5th Edn. Academic Press, 2005.

PEDRAM A, et al. Integrations of non-genomic and genomic actions of estrogen. Membrane-mediated signaling by steroids to transcription and cell biology. **Journal of Biological Chemistry**; v. 277: p. 50768-50775, 2002.

PENNISTON, K L; TANUMIHARDJO, S A. Os efeitos tóxicos agudos e crônicos da vitamina A. **Am J Clin Nutr**; v. 83, p. 191-201, 2006.

PETRY, D. et al. System for ECG signals variability analysis: Heart rate variability and qt interval variability. **IFMBE Proceedings**, v. 14, p. 1053–1056, 2006.

PRICHEP, L.S. et al. Quantitative EEG correlates of cognitive deterioration in the elderly. **Neurobiol. Aging**, v. 15 p. 85–90, 1994. Disponível em: doi: 10.1016/0197-4580(94)90147-3

PRICHEP, L.S. Imagem quantitativa do EEG e do cérebro eletromagnético no envelhecimento e na evolução da demência. **Ann NY Acad Sci**, v.1097, p.156-167. Fev/2007.

RADI, R. Peroxinitrito, um oxidante biológico furtivo. **J Biol Chem**; v. 288, p. 26464-26472, 2013.

RAMOS, C.D. **Caracterização do eletroencefalograma normal em situação de vigília: elaboração da base de dados e análise quantitativa**. Uberlândia, 2017. 157f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) Departamento de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Uberlândia, 2017.

REBOUL, E. Mechanisms of Carotenoid Intestinal Absorption: Where Do We Stand? **Nutrients**. ; v. 11 n. 4 p. 838, Abr/2019. Disponível em: doi: 10.3390/nu11040838

RESTAK, R M. Pseudotumor cerebral, psicose e hipervitaminose A . **J. Nerv Ment Dis**; v. 155, p. 72-75, 1972.

RIBEIRO, R. L. et al. Antigos e novos conceitos sobre a onda U do eletrocardiograma. **Revista da SOCERJ**, v. 17, n. 3, p. 192–194, 2004.

ROBENS, J. F. Teratogenic effects of hypervitaminosis A in the hamster and the guinea pig. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.16 n.1 p.88–99, 1970. doi:10.1016/0041-008x(70)90165-1

ROCHETTE-EGLY, C. Sinalização com ácido retinóico e diferenciação de células-tronco embrionárias de camundongo: Conversa cruzada entre fatores genéticos e não genéticos da AR . **Biochim Biophys Acta**; v. 1851, p. 66-75, 2015.

RODAHL, K.E; MOORE, T. O teor de vitamina A e a toxicidade do fígado de ursos e focas. **Biochem J**, v. 37 p. 166-168, 1943.

ROSS, A.C. Cellular metabolism and activation of retinoids: role de cellular retinoid-binding proteins. **FASEB Journal**; v. 7, p. 317-327, 1993.

ROSS, D.A. Recomendações para suplementação de vitamina A. **J. Nutr**; v. 132, n. 9, p. 2902S- 2906S. 2002.

SAKAI, Y. et al.. O ácido 13-cis retinóico (accutane) suprime a sobrevivência das células do hipocampo em camundongos. **Ann NY Acad Sci**; v. 1021, p. 436-440, 2004.

SATO, T. et al.. Teoria dos produtos finais de glicação avançada tóxica (TAGE) na doença de Alzheimer. **Am J Alzheimers Dis Other Demen**; v. 21, p. 197-208, 2006.

SAUVANT, P. et al.. Quantidades e tipos de ácidos graxos nas refeições afetam o padrão de retinóides secretados nos quilomícrons humanos após uma alta dose de vitamina A pré-formada. **Metabolism**; v. 52, p. 514-519, 2003.

SCHEVEN, BA; HAMILTON, NJ. O ácido retinoico e a 1,25-dihidroxitamina D3 estimulam a formação de osteoclastos por diferentes mecanismos . **Bone**, v.11 n.1 p.53-59, 1990. Disponível em: doi: 10.1016/8756-3282(90)90072-7.

SENOO, H. et al. Hepatic stellate cell (vitamin A - storing cell) and its relative – past, present and future. **Cell Biol Int**, v. 34 p. 1247 – 1272, 2010.

SHEARER, KD. et al. Astrocytes as a regulated source of retinoic acid for the brain. **Glia**; v. 60 n.12 p.1964-1976, Dez/2012. Disponível em: doi: 10.1002/glia.22412.

SHEKELLE, R.B. et al. Dietary vitamin A and risk of cancer in the Western Electric study. **Lancet**; v. 2 p. 1185-1190. 1981.

SHERLIN, L.H. Diagnosing and treating brain function through the use of low resolution brain electromagnetic tomography (LORETA). In: BUDZYNSKI, T.H.; BUDZYNSKI, H.K.: EVANS, J.R.; ABARBANEL A. **Introduction to Quantitative EEG and Neurofeedback: Advanced Theory and Applications**. 2.ed. Burlington: Elsevier, 2009. p.83-102.

SIDELL, N; SCHLICHTER, L. Retinoic acid blocks potassium channels in human lymphocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 138 p. 560-567, 1986.

SKARE, K.L; DELUCA, H.F. Biliary metabolites of all-trans- retinoic acid in the rat . **Arch Biochem Biophys**, v. 224, p. 13 – 18, 1983.

SLEWA-YOUNAN, S. et al. Is 'gamma' (40 Hz) synchronous activity disturbed in patients with traumatic brain injury? **Clin Neurophysiol**, v.113, n. 10, p. 1640-1646, Out/2002.

SNODGRASS, S.R. Neurotoxicidade da vitamina. **Mol Neurobiol**; v. 6, p. 41-73, 1992

SOLOMONS, N. W. VITAMIN A. *In*: ERDMAN, J. W. *et al.* (Coord.). **Present Knowledge in Nutrition**. 10 ed. Washington, DC: Wiley-Blackwell , 2012. p. 149-184,

SOPRANO, D.R; BLANER, W.S. Plasma retinol binding-protein. *In*: SPORN, M.B.; ROBERTS, A.B. **The retinoids: Biology, Chemistry and Medicine**. New York: Raven Press, p. 257-281, 1994.

SOUZA, L.L **Caracterização e detecção automática de eventos epileptiformes em sinais de eletroencefalograma por dinâmica simbólica**. Brasília, 2012. 96f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade de Brasília, 2012.

STERIADE, M. Cellular Substrates of Brain Rhythms. *In*: SCHOMER, D.L.: SILVA, F.H.L **Niedermeyer's Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields**. 6.ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

STONE, J.M.; MORRISON, P.D.; PILOWSKY, L.S. - Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia: a synthesis and selective review. **J Psychopharmacol**, v. 21 n. 4 p. 440-452, Jun/2007. Disponível em: doi: 10.1177/0269881106073126.

SURAWICZ, B; KNILANS, TK. **Chou's electrocardiography in clinical practice**, 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2008.

TAFTI, M.E; GHYSELINCK, N.B. Implicação funcional da via de sinalização da vitamina A no cérebro. **Arch Neurol**; v. 64, p. 1706-1711, 2007.

TAGAYA, H. et al. Temporal EEG dynamics of non-REM sleep episodes in humans. **Brain Res**, v. 10, n. B61-862, p 233-240, Abr/2000.

THALER, M.S. **Ecg Essencial: Eletrocardiograma na Prática Diária** . 7. ed. Porto Alegre: Artmed, volume único p. 91-93, 2013.

TIMO-IARIA, Cesar. Mecanismo das ondas elétricas cerebrais. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 29 n. 2 p. 131-145, Jun/1971.

TSUNATI, H. et al. Pharmacological studies of retinol palmitate and its clinical effect in patients with acute non-lymphocytic leukemia. **Leuk. Res**; v. 15 p. 463–471, 1991.

TSUNATI, H. et al. Reduction of leukemia cell growth in a patient with acute promyelocytic leukemia treated by retinol palmitate. **Leuk. Res**; v. 14 p. 595–600, 1990.

TZIMAS, G; NAU H. The role of metabolism and toxicokinetics in retinoid teratogenesis. **Cur Pharm Des**, v. 7 p.803-31, 2001.

URRESTARAZU, E; CHANDER, R.; DUBEAU, F.; GOTMAN J. Interictal high- frequency oscillations (100-500 Hz) in the intracerebral EEG of epileptic patients. **Brain**, v.130, n.9, p.2354-2366, Set/2007.

VAN LOO-BOUWMAN, C.A; NABER, T.H; SCHAAFSMA, G. A review of vitamin A equivalency of β -carotene in various food matrices for human consumption. **Br J Nutr**; v. 111, p. 2153-2166, 2014. Disponível em: DOI: 10.1017/S0007114514000166

WALD, G. Nature (London) 134, 65, 1934 apud Nomenclature of Retinoids. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN). **J. Biol. Chem.**, Berlin, v. 258, n. 9, p. 5329-5333, 1983. Arch. Biochem. Biophys., New York, v. 224, n. 2, p. 728731, 1983.

WASSERMANN, GF; LOSS, ES; WECHSLER, SW. Retinol stimulates $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake in Sertoli cells through a verapamil-sensitive voltage-dependent-channel. **Medical Science Research**; v. 23 p. 633–634, 1995.

WERLER, MM. et al. Maternal vitamin A supplementation in relation to selected birth defects. **Teratology**, v.42 p.497-503, 1990.

WESSON, L.C; SURESH, V; Parry, R.G. Severe hypercalcaemia mimicking acute myocardial infarction. **Clin Med (Lond)**, v. 9 p. 186-187, 2009.

WHO; **WHO Guideline:** vitamin A supplementation in infants and children 6–59 months of age. Geneva (Switzerland) WHO, 2011. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/978924150176>; Acesso em: 27 jun 2021.

_____; **WHO Guideline:** Vitamin A supplementation in pregnant women. Geneva (Switzerland): WHO, 2011a. Acesso em: 27 jun 2021.

_____; **WHO Guideline:** Neonatal vitamin A supplementation. Geneva (Switzerland): WHO, 2011b. Acesso em: 27 jun 2021.

_____; **WHO Guideline:** Vitamin A supplementation for infants 1–5 months of age. Geneva (Switzerland): WHO, 2011c. Acesso em: 27 jun 2021.

____; **WHO Guideline:** Vitamin A supplementation in postpartum women. Geneva (Switzerland): WHO, 2011d. Acesso em: 27 jun 2021.

____. **Newborn Care at Birth.** WHO, 2017. Disponível em: http://www.who.int/maternal_child_adolescent/newborns/care_at_birth/en/. Acesso em: 25 jun 2021.

WIDMAIERS, E. P.; RAFF, H.; STRANG, K. T. **Vander's Human Physiology.** [S.l.]: McGraw-Hill, 2006.

YAMADA, M. et al. EEG power and coherence in presenile and senile depression. Characteristic findings related to differences between anxiety type and retardation type. **Nippon Ika Daigaku Zasshi**, v. 62 p. 176-185, 1995. Disponível em: DOI: 10.1272/jnms1923.62.176

ZANOTTO-FILHO, A. **Efeitos Diferenciais do Retinol e Ácido Retinoico na Proliferação, Morte e Diferenciação Celular.** 2009. Mestrado em Ciências Biológicas: Bioquímica. Universidade Federal do Rio grande do Sul.

ZANOTTO-FILHO, A; SCHRÖDER, R; MOREIRA, J. Xanthine oxidase-dependent ROS production mediates vitamin A pro-oxidant effects in cultured Sertoli cells. **Free Radical Research**; v. 42, n. 6, p. 593-601, 2008. Disponível em: DOI: [10.1080/10715760802144422](https://doi.org/10.1080/10715760802144422)

ZHI J, MELIA AT, KOSS-TWARDY SG, ARORA S, PATEL IH. O efeito do orlistat, um inibidor da absorção de gordura na dieta, na farmacocinética do betacaroteno em voluntários saudáveis. **J Clin Pharmacol** 1996; 36:152-9.

ZILE, M.H. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. **Journal of Nutrition**; v. 131, p. 705-708, 2001.