



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



FORMULÁRIO PARA RELATÓRIO FINAL

1. Identificação do Projeto

Título do Projeto PIBIC/PAIC

Padronização do Modelo de Epilepsia do Lobo Temporal por Administração Sistêmica de Pilocarpina

Orientador

Profª Dra. Geane Antiques Lourenço

Aluno

Ariádne Elisa Belo da Silva

2. Informações de Acesso ao Documento

2.1 Este documento é confidencial?

☐

SIM

☒

NÃO

2.2 Este trabalho ocasionará registro de patente?

☐

SIM

☒

NÃO

2.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

☐

SIM

☒

NÃO

2.4 Em caso de liberação parcial, quais dados podem ser liberados? Especifique.

Pode ser Liberada para reprodução a metodologia, mas os resultados serão complementados e publicados, por isso não disponibilizamos para reprodução no momento.

3. Introdução

A epilepsia é um distúrbio cerebral caracterizado pela predisposição persistente do cérebro em gerar crises epiléticas e pelas consequências neurobiológicas, cognitivas,

psicológicas e sociais geradas em decorrências dessas crises. A epilepsia do lobo temporal é a síndrome epiléptica mais comumente diagnosticada em adultos, chegando a corresponder até 60% dessa patologia e é subdividida em mesial e neocortical (ou lateral). O lobo temporal mesial (ELTM) é uma parte do sistema límbico responsável pela gênese e expressão comportamental das emoções, também se trata da vertente com episódios epilépticos mais comuns e refratários, sendo o seu substrato patológico a esclerose hipocampal (EH), que tem sido associada a crises febris prolongadas e convulsões recorrentes. Outras causas conhecidas de dano hipocampal são traumatismo crânio-encefálico, isquemia, acidente vascular cerebral e doença de Alzheimer (Andrade-Valença *et al.* 2006; França *et al.* 2015).

Espécies vegetais representam um manancial de moléculas bioativas capazes de biossintetizar fármacos por meio de métodos de análise e separação destes compostos, uma vez que, historicamente, o desenvolvimento da química orgânica ocorreu paralelamente ao estudo de plantas, principalmente a partir do século XIX, quando foram registrados os primeiros estudos sobre plantas com bases científicas (Montanari e Bolzani 2001; EL-Hefnawy *et al.* 2014).

A floresta amazônica compreende uma vasta diversidade de espécies vegetais que, em sua maioria, apresentam propriedades biológicas, como plantas aromáticas, oleaginosas, medicinais etc (Pinto *et al.* 2002; Bataglion *et al.* 2014). Diante desse leque de possibilidades e de espécies aptas para investigação, evidenciam-se as plantas pertencentes à família Passifloraceae, pois estão inseridas em posição de destaque no que se refere ao seu papel ecológico, ambiental e econômico, com ênfase em vertentes das indústrias nutricional e farmacêutica (Souza *et al.* 2008; Saraiva *et al.* 2009). Ainda dentro da vasta biodiversidade amazônica de espécies com potencial, destacam-se aquelas pertencentes ao gênero *Passiflora*, com destaque para a *P. incarnata*, que apresentou atividade no SNC com efeito anticonvulsivante, ansiolítico e epiléptico (Dhawan *et al.* 2004). Já a *P. edulis* tem sido utilizada para auxiliar no tratamento do diabetes devido seu alto teor de fibras (Krahn *et al.* 2008).

O gênero *Passiflora* (Passifloraceae) é utilizado principalmente para tratar doenças do SNC e cardiovasculares. A espécie *Passiflora nitida* Kunth é comumente conhecida como “maracujá-do-mato”. A literatura relata o consumo in natura dos frutos desta espécie pela população local para distúrbios gastrointestinais. Considerando o potencial farmacológico do gênero. O extrato das folhas da espécie *Passiflora nítida*,

em experimentos prévios em nosso laboratório, produziu efeitos hipnóticos e ansiolíticos (dados não publicados), com possível ação antioxidante devida ao conteúdo de flavonóides e cumarinas presentes no extrato, o que é um indicativo da atividade atenuante da degeneração celular em casos de crises convulsivas (Bendini *et al.* 2006) e, portanto, evidencia-se o potencial desse gênero em diversos tratamentos neuropsicológicos em estudos envolvendo o sistema nervoso central.

4. Justificativa

A descoberta de novas drogas com atividade no sistema nervoso central é uma atividade constante, seja para tratamento e estudo de desordens que ainda não estão bem definidas, como é o caso da epilepsia do lobo temporal (ELT), ou em substituição de fármacos que apresentam efeitos colaterais importantes por falta de seletividade de ação (Löscher e Schmidt 2002). Apesar do aumento no número e na variedade de drogas antiepilépticas, um terço dos indivíduos são refratários ao tratamento medicamentoso, sendo que 70% destes apresentam ELT (Perucca, *et. al.*, 2007). Nosso objetivo foi à padronização do modelo de epilepsia do lobo temporal agudo, através da administração sistêmica de Pilocarpina com indução de status epilepticus (SE). Com esse modelo estabelecido, avaliamos então o efeito do extrato de *Passiflora nitida* sobre a latência para ocorrência do SE, a diminuição do número de óbitos após o SE, a atenuação das manifestações durante as crises convulsivas e o bloqueio do SE após a instalação deste. O extrato das folhas da *Passiflora nitida* Kunth (maracujá-do-mato ou maracujá-suspiro), em experimentos prévios (Carvalho, 2008), produziu um efeito de alteração comportamental aparentemente de origem central. O extrato foi fornecido pelo Prof Dr Emerson Silva Lima da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UFAM, que é colaborador deste projeto. O screening farmacológico efetuado em nosso laboratório com este composto (2013/2014) mostrou que o mesmo é hipnótico no teste de indução do sono por barbitúrico, possui efeito ansiolítico e apresenta efeito antiinflamatório tópico (dados não publicados). Flavonóides, cumarinas e taninos, são as substâncias ativas majoritárias neste extrato (Carvalho, *et. al.*, 2010) e, conforme descrito na literatura, são compostos ativos em nível central. Motivados por esses indicativos promissores do extrato e pela necessidade constante de novos antiepilépticos, optamos pelo desenvolvimento deste projeto.

5. Objetivos

- **Geral**

Padronizar a indução da epilepsia do lobo temporal (ELT) de forma aguda por meio da administração sistêmica de Pilocarpina a fim de induzir o *status epilepticus* (SE).

- **Específicos**

1. Indução de status epilepticus (SE);
2. Avaliação das crises convulsivas pela escala Racine (1972);
3. Administração do extrato de *Passiflora nítida* nos grupos experimentais;
4. Avaliação da latência para ocorrência da primeira convulsão recorrente, o tipo da crise convulsiva (escala de Racine) e a frequência em que a mesma ocorre, comparando estes parâmetros entre os grupos experimentais e os grupos controle.
5. Observação da possível atividade anticonvulsivante do extrato de *Passiflora nítida*.

6. Metodologia

6.1- Animais experimentais

Foram utilizados camundongos Swiss (machos e fêmeas), pesando entre 20 e 30g, criados no Biotério Central do CBA e experimentados nas dependências do Laboratório de Farmacologia, no setor sul da UFAM. Os animais foram mantidos em condições padrões de biotério, atendendo as normativas do CONCEA, com água e comida a vontade, temperatura de 23°C, ciclo claro escuro de 12 horas.

6.2- Modelo experimental

Os animais foram submetidos ao *status epilepticus* (SE) por administração de 300mg/kg ip de Pilocarpina em dose única e os mesmos receberam um pré-tratamento (30 min antes) com nitrato de Atropina (4mg/kg ip.) para redução dos efeitos periféricos da Pilocarpina. Os animais foram divididos em grupos de 6 e receberam os tratamentos:

1-controle agudo solução salina 0,9% v.o. 60 min antes da adm de Pilocarpina, Atropina 30 min antes da Pilocarpina;

2-controle positivo preventivo Clonazepam 2,5mg/kg v.o. 60 min antes da Pilocarpina, Atropina 30 min antes da Pilocarpina;

3-controle positivo de tratamento Atropina 30 min antes da Pilocarpina, Clonazepam 2,5mg/kg v.o. 15 minutos depois do primeiro evento convulsivo;

4-experimental preventivo extrato de *Passiflora nítida* 200mg/kg v.o. 60 min antes da Pilocarpina, Atropina 30 min antes da Pilocarpina;

5-experimental de tratamento Atropina 30 min antes da Pilocarpina, extrato de *P. nítida* 200mg/kg v.o. 15 minutos após o primeiro evento convulsivo.

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais e observados por 60min após administração da Pilocarpina, garantindo assim um período de duração do SE para estabelecer as alterações neuropatológicas e comportamentais do modelo. As crises convulsivas foram avaliadas pela escala de Racine (1972).. Na escala de Racine obtém-se **classe I**= automatismo orofacial e hipoatividade; **classe II**= clônia de cabeça; **classe III**= clônia das patas; **classe IV**= elevação de membros anteriores e clônia; **classe V**= elevação e perda de postura (queda). Somente os animais que alcançaram as classes 3, 4 e 5 da escala foram utilizados, pois as características da ELT só são observáveis após os animais alcançarem este score de convulsão, sendo que convulsões mais brandas não deflagram a ELT.

6.3- Substância teste

O extrato hidroetanólico de *Passiflora nítida* foi fornecido pelo Prof Dr Emerson Silva Lima da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UFAM, que já havia realizado estudos com este, tendo extensa competência na área de fitoterápicos, além disso, participou como colaborador e consultor desse projeto. As folhas de *Passiflora nítida* foram coletadas na Reserva Duque e as mesmas foram submetidas a processo de moagem e extração dos princípios ativos por eluição com álcool etílico e água. A solução resultante foi liofilizada e o extrato seco foi utilizado para os experimentos. A diluição do extrato em solução salina 0,9% havia sido usada em experimento piloto para determinação das doses, e mostrou ser adequada propiciando uma solução homogênea, sem grumos proteicos, material em suspensão ou sedimentado. Em projeto prévio realizado pelo grupo do Dr Emerson, testes de toxicidade foram efetuados em roedores, e baseados nestes resultados e no projeto piloto realizado por nós, determinamos as doses que poderiam ser efetivas sem causar efeitos tóxicos. Nos grupos experimentais o extrato de *Passiflora nítida* foi administrado com a dose 200mg/kg v.o. 60min antes da indução do SE no grupo preventivo e 15

minutos após o primeiro evento convulsivo no grupo de tratamento e foi avaliado a ocorrência de SE, tempo de latência para o SE, número de episódios convulsivos, severidade dos mesmos (Racine 1972) e porcentagem de sobrevivência dos animais.

7. Resultados

7.1 Controle Agudo

No controle agudo, caracterizado pela administração de NaCl 0,9% vo 1 hora antes da administração de Pilocarpina (Tabela 1), foram utilizados 6 animais machos tratados com Atropina (4mg/kg) 30 minutos antes de serem induzidos aos eventos convulsivos por administração única de Pilocarpina (300mg/kg).

Tabela 1. Correlação entre os animais e seus respectivos pesos (massa em grama), tempo de latência para o primeiro evento convulsivo, número de indivíduos que atingiram o *Status Epilepticus*, classificação destes indivíduos de acordo com a escala de Racine e o percentual (%) de mortes no grupo controle.

Animal	Peso(g)	1 ^a Conv (min)	Indivíduos em S.E	Classificação Racine	% de mortes
Macho I	24,5	1	x	V	33,33%
Macho II	26	18	x	V	
Macho III	24,6	-	-	II	
Macho IV	23,7	-	-	III	
Macho V	24,1	22	x	V	
Macho VI	25	24	x	V	

O Macho I atingiu estágio I na escala de Racine apenas 1 minuto após a administração de Pilocarpina, apresentando arrepios e cauda de Straub; 7 minutos após a Pilocarpina, apresentou mioclônia de face e patas anteriores (Estágio II); 14 minutos depois, o camundongo apresentou perda de equilíbrio e queda, tendo clônia de membros posteriores e anteriores, entrou em S.E e atingiu o estágio V na escala.

O Macho II entrou em S.E 18 minutos após a Pilocarpina ser administrada, juntamente com cauda de Straub, atingindo o estágio V da escala.

O Macho III apresentou mioclônia de face e *wet dog shake*, não atingindo o estágio V.

O Macho IV apresentou cauda de Straub, tremores, mioclônia de face e crise de ausência 18 minutos após a administração de Pilocarpina, atingindo apenas o estágio III da escala.

O Macho V apresentou cauda de Straub e entrou em S.E com movimentos giratórios intensos em sentido horário cerca de 22 minutos após a Pilocarpina ser administrada. O indivíduo apresentou tônus muscular e morreu espontaneamente.

O animal VI apresentou tremor intenso e convulsão clônica aos 24 minutos após administração de Pilocarpina. Entrou em SE que evoluiu para convulsão tônico-clônica e morte cerca de 10 min após a primeira convulsão.

Após 60 minutos de observação todos os animais sobreviventes, foram sacrificados com dose letal do anestésico uretana por via intraperitoneal.

7.2 Controle Positivo Preventivo

Consistiu na administração do Clonazepam 2,5mg/kg por via oral (gavagem) 1 hora antes da administração da Pilocarpina em 3 machos e 3 fêmeas, também havendo a administração de Atropina 4mg/kg para a prevenção dos efeitos periféricos (Tabela 2).

Tabela 2. Correlação entre os animais e seus respectivos pesos (massa em grama), tempo de latência para o primeiro evento convulsivo, número de indivíduos que atingiram o *Status Epilepticus*, classificação destes indivíduos de acordo com a escala de Racine e o percentual (%) de mortes no grupo de Clonazepam preventivo.

Animal	Peso(g)	1ªConv (min)	Indivíduos em S.E	Classificação Racine	% de mortes
Macho I	32	-	-	I	0%
Macho II	38	-	-	II	
Macho III	33	-	-	I	
Fêmea I	25	-	-	I	
Fêmea II	28	-	-	II	
Fêmea III	28	-	-	I	

Macho I apresentou tremor intenso cerca de 6 minutos após a administração de Pilocarpina e eventos de *wet dog shake* pelos 60 minutos seguintes, porém não

houve S.E observado nesse indivíduo em decorrência da administração do Clonazepam.

Macho II apresentou tremor intenso nos primeiros 5 minutos e após 15 minutos iniciaram-se os eventos de *wet dog shake* e cauda de Straub, porém o quadro não avançou e após 1 hora de observação o quadro do indivíduo voltou à estabilidade.

Macho III apresentou tremores e mioclônia de face cerca de 4 minutos após a administração de Pilocarpina, cauda de Straub e eventos isolados de *wet dog shake*, não havendo avanço do quadro nos 60 minutos seguintes.

Fêmea I apresentou tremores, mioclônia de face e cauda de Straub em 15 minutos decorridos da administração de Pilocarpina, não havendo avanço no quadro pelos 60 minutos posteriores.

Fêmea II apresentou tremores intensos, mioclônia de face, cauda de Straub e chegou ao nível II na escala de Racine, mas o quadro não progrediu a partir daí pelos 60 minutos seguintes.

Fêmea III apresentou apenas tremores intensos, mas o quadro não evoluiu.

Cerca de 50 minutos após a administração de Pilocarpina, todas as fêmeas apresentaram estabilidade nos quadros convulsivos e de tremores, voltando ao seu estado de homeostase. Após 60 minutos de observação os animais foram sacrificados com dose letal do anestésico Uretana por via intraperitoneal.

7.3 Controle Positivo de Tratamento

Consistiu na administração do Clonazepam 2,5mg/kg por via oral (gavagem) 15 minutos após o primeiro evento convulsivo decorrente da administração da Pilocarpina em 2 machos e 4 fêmeas, também havendo a administração de Atropina 4mg/kg para a prevenção dos efeitos periféricos (Tabela 3).

Tabela 3. Correlação entre os animais e seus respectivos pesos (massa em grama), tempo de latência para o primeiro evento convulsivo, número de indivíduos que atingiram o *Status Epilepticus*, classificação destes indivíduos de acordo com a

escala de Racine e o percentual (%) de mortes no grupo de Clonazepam de tratamento.

Animal	Peso(g)	1ªConv (min)	Indivíduos em S.E	Classificação Racine	% de mortes
Macho I	33	15	x	V	33%
Macho II	37	10	x	V	
Fêmea I	34	15	-	III	
Fêmea II	27	11	x	V	
Fêmea III	28	10	-	IV	
Fêmea IV	29	13	-	III	

Macho I apresentou clônia de face e primeiro evento convulsivo cerca de 15 minutos após a administração de Pilocarpina, entrando em S.E (Estágio V na escala de Racine), houve a administração do Clonazepam e, portanto, não houve avanço a partir daí pelos 60 minutos seguintes.

Macho II apresentou mioclônia de face e primeiro evento convulsivo 10 minutos após a administração de Pilocarpina, chegando a atingir o S.E (Estágio V) e apresentando tônus muscular, o que levou a morte espontânea em apenas 11 minutos contados a partir da Pilocarpina antes da administração do Clonazepam.

Fêmea I apresentou mioclônia de face, tremor e cauda de Straub cerca de 17 minutos após a administração de Pilocarpina, apresentou o primeiro evento convulsivo e 15 minutos contados a partir deste, foi administrado Clonazepam por via oral. O quadro não avançou.

Fêmea II apresentou mioclônia de face e cauda de Straub 11 minutos após a administração de Pilocarpina, apresentou primeiro evento convulsivo seguido de S.E e então houve a administração do Clonazepam após 15 minutos. Não houve avanço do quadro pelos 60 minutos seguintes observados.

Fêmea III apresentou cauda de Straub 15 minutos após a administração da Pilocarpina, tremores intensos (chegando ao estágio IV da escala) e o primeiro evento convulsivo, levando o indivíduo à morte espontânea por tônus muscular em 20 minutos. Não houve a administração de Clonazepam.

Fêmea IV apresentou cauda de Straub 13 minutos após a administração de Pilocarpina, tremores intensos e apresentou o primeiro evento convulsivo. A partir

daí houve a administração de Clonazepam e o quadro não evoluiu pelos 60 minutos seguintes observados.

Após 60 minutos de observação comportamental, os animais foram sacrificados com dose letal do anestésico uretana, com exceção daqueles que morreram por espontaneidade.

7.4 Experimental Preventivo

Consistiu na administração do extrato de *Passiflora nítida* 200mg/kg por via oral (gavagem) 1 hora antes da administração da Pilocarpina em 4 machos e 2 fêmeas, também havendo a administração de Atropina 4mg/kg para a prevenção dos efeitos periféricos (Tabela 4).

Tabela 4. Correlação entre os animais e seus respectivos pesos (massa em grama), tempo de latência para o primeiro evento convulsivo, número de indivíduos que atingiram o *Status Epilepticus*, classificação destes indivíduos de acordo com a escala de Racine e o percentual (%) de mortes no grupo de teste do extrato da *Passiflora nítida* preventivo.

Animal	Peso(g)	1ªConv (min)	Indivíduos em S.E	Classificação Racine	% de mortes
Macho I	26	9	x	V	66%
Macho II	25	8	-	V	
Macho III	29	10	-	V	
Macho IV	26	17	x	V	
Fêmea I	24	15	x	V	
Fêmea II	24	8	-	V	

Macho I apresentou tremor e cauda de Straub 9 minutos após a administração de Pilocarpina, entrando em S.E (Estágio V na escala de Racine) e tônus muscular, levando o indivíduo a óbito em 15 minutos.

Macho II apresentou mioclônia de face, tremor, cauda de Straub 8 minutos após a administração de Pilocarpina, teve convulsão tônico-clônica com queda e tônus muscular que o levou a óbito em 14 minutos.

Macho III apresentou mioclônia de face, tremor e cauda de Straub cerca de 10 minutos após a administração de Pilocarpina, apresentou convulsão tônico-clônica com queda e tônus muscular que o levou a óbito em 20 minutos.

Macho IV apresentou mioclônias de face e cauda de Straub juntamente com convulsão tônico-clônica com queda intensa e constante (com pulos) e hipoxia 17 minutos após a administração de Pilocarpina. Não houve avanço do quadro pelos 60 minutos seguintes observados.

Fêmea I apresentou cauda de Straub, tremor generalizado, convulsão clônica com queda + movimento giratório em sentido horário 15 minutos após a administração da Pilocarpina. O quadro permaneceu assim durante os 60 minutos seguintes de observação.

Fêmea II apresentou cauda de Straub, movimento giratório em sentido horário, perda da postura e hipóxia em apenas 8 minutos após a administração de Pilocarpina. Em seguida houve tônus muscular e morte em 16 minutos.

Após 60 minutos de observação comportamental, os animais foram sacrificados com dose letal do anestésico uretana, com exceção daqueles que morreram por espontaneidade.

7.5 Experimental de Tratamento

Consistiu na administração do extrato de *Passiflora nítida* 200mg/kg por via oral (gavagem) 15 minutos após o primeiro evento convulsivo decorrente da administração da Pilocarpina em 2 machos e 2 fêmeas, também havendo a administração de Atropina 4mg/kg para a prevenção dos efeitos periféricos (Tabela 5).

Tabela 5. Correlação entre os animais e seus respectivos pesos (massa em grama), tempo de latência para o primeiro evento convulsivo, número de indivíduos que atingiram o *Status Epilepticus*, classificação destes indivíduos de acordo com a escala de Racine e o percentual (%) de mortes no grupo de *Passiflora nítida* de tratamento.

Animal	Peso(g)	1ªConv (min)	Indivíduos em S.E	Classificação Racine	% de mortes
Macho I	33	35	x	V	0%
Macho II	33	30	x	V	
Fêmea I	28	30	x	V	
Fêmea II	29	5	x	V	

Macho I apresentou tremor logo após 1 minuto da administração, apresentando o primeiro evento convulsivo após 35 minutos, seguidos de tremores intensos,

hipoxia e movimentos giratórios e após 50 minutos houve a administração do extrato de *P. nítida*. A partir daí o quadro não evoluiu mais.

Macho II apresentou mioclônia de face e das patas dianteiras, tremor, cauda de Straub e perda da postura após 30 minutos da administração de Pilocarpina. 15 minutos depois houve a administração do extrato e o quadro não evoluiu durante os 60 minutos seguintes de observação.

Fêmea I apresentou mioclônia de face, tremor e cauda de Straub, hipoxia e eventos isolados de *wet dog shake* cerca de 30 minutos após a administração de Pilocarpina. Após 15 minutos recebeu a dose do extrato de *P. nítida* e não houve alteração do quadro pelos 60 minutos seguintes observados.

Fêmea II apresentou mioclônia de face e cauda de Straub juntamente com hipoxia, tremores intensos 5 minutos após a administração de Pilocarpina. 15 minutos depois recebeu a dose do extrato e não houve avanço do quadro pelos 60 minutos seguintes observados.

Após 60 minutos de observação comportamental, os animais foram sacrificados com dose letal do anestésico uretana.

Tabela X. Relação entre os comportamentos gerais mais recorrentes em cada grupo por percentual de recorrência.

Comportamentos Gerais	Controle Agudo (%)	Controle de Prevenção (%)	Controle de Tratamento (%)	P.nítida Preventiva (%)	P. nítida de Tratamento (%)
Tremores intensos	20	66	66	66	100
Mioclônia	60	50	100	33	75
Wet Dog Shake	20	33	-	-	25
Movimento giratório	20	-	-	33	25
Cauda de Straub	60	50	83	83	75
Hipoxia	20	16	16	16	50
Perda da postura	20	-	-	33	-
Tônus Muscular	20	-	16	33	-

Figura 1. Percentual de Reversão da condição de *Status Epilepticus* dos indivíduos pela atividade anticonvulsivante do Clonazepam preventivo e de tratamento; e do experimento com o extrato de *Passiflora nítida* no teste preventivo e de tratamento.

Reversão pelo Clonazepam (%)		Reversão pelo extrato de <i>P. nítida</i>	
Clonazepam Preventivo	Clonazepam de Tratamento	Extrato Preventivo	Extrato de Tratamento
100%	67%	34%	100%

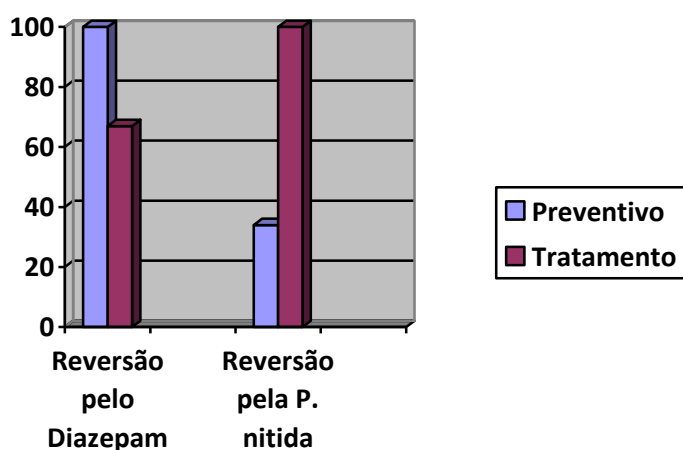


Tabela 1. Relação entre os grupos experimentais em função do tempo médio (em minutos) para o alcance do primeiro evento convulsivo; o percentual de animais que atingiram o *Status Epilepticus* e o percentual de sobrevivência dos animais em cada grupo.

Grupos	Tempo Médio 1ª Convulsão (min)	Animais que atingiram S.E (%)	Sobrevivência (%)
Controle Agudo	20	66	80
Clonazepam Preventivo	8,33	50	100
Clonazepam Tratamento	13,5	33	67
<i>P. nítida</i> Preventiva	11,17	50	34
<i>P. nítida</i> Tratamento	25	100	100

Espécies vegetais Amazônicas têm sido apontadas como importante fonte de moléculas bioativas do ponto de vista farmacológico. Após a experimentação dos grupos, os resultados obtidos foram comparados entre os grupos experimentais por

meio de tabela e gráficos a fim de demonstrar o potencial da *Passiflora nítida* como agente anticonvulsivante.

8- Conclusão

O modelo de epilepsia do lobo temporal através da administração sistêmica de Pilocarpina em ratos é antigo e bem disseminado na pesquisa de novos agentes antiepiléticos, ou mesmo nos estudos da gênese e desenvolvimento desta patologia tão refratária a tratamento farmacológico. Neste projeto resolvemos padronizar o modelo em camundongos, o que não é muito descrito, porém utiliza-se até dez vezes menos princípio ativo para os testes neste animal em comparação aos ratos, fato extremamente importante quando se tem uma quantidade pequena de substância teste. Logisticamente, camundongos são mais simples no manejo e manutenção além de apresentarem custo reduzido em comparação com outros roedores experimentais. Em experimento piloto (não descrito) determinou-se a dose de 300mg/kg de Pilocarpina como sendo a ideal para indução do status epiléticos, com baixa taxa de mortalidade. O bloqueio dos efeitos periféricos da Pilocarpina como salivação, diurese e evacuação aumentados, foi feito através da administração prévia de Atropina 4mg/kg. Essa dose também foi determinada previamente, onde essa dosagem se mostrou adequada para evitar o estímulo parassimpático periférico sem retardar ou bloquear o efeito central da Pilocarpina.

O extrato da *Passiflora nítida* é hipnótico e ansiolítico (dados não publicados), assim como o Clonazepam que é também um excelente antiepilético. Nestes experimentos notamos que diferente do Clonazepam (tabela 2), o extrato (tabela 4) não previne a convulsão ou a indução do SE por administração de Pilocarpina, pelo contrário, parece potencializar a severidade das convulsões, chegando a aumentar o número de óbitos em comparação com o controle (tabela 1) (controle 33%, passiflora prevenção 66% de óbitos). Porém, estes dados são preliminares e necessitamos de um número maior de animais e mais dados para afirmar essa tendência observada. Ao compararmos os grupos de tratamento no qual o Clonazepam (tabela 3) e a passiflora (tabela 5) foram administrados 15 min após a primeira convulsão, notamos que o extrato reverteu de maneira mais eficaz os eventos convulsivos nos animais, eliminando os óbitos.

O que por hora podemos concluir é que o extrato de *Passiflora nítida* é um promissor agente para o tratamento dos episódios convulsivos no modelo de indução de SE por administração sistêmica de Pilocarpina em camundongos. Como complemento, está sendo efetuada a histologia do cérebro dos animais utilizados neste protocolo, para verificação da lesão e/ ou reversão da mesma pelo extrato. Além deste dado complementar, a dosagem de espécies reativas de oxigênio está sendo efetuada no tecido neuronal de animais submetidos aos mesmos procedimentos no intuito de maiores esclarecimentos sobre a ação do extrato da *Passiflora nítida* no modelo de ELT por administração de Pilocarpina em camundongos. No projeto inicial tínhamos determinado a realização dos modelos de ELT agudo e crônico, porém pela falta de estrutura da Instituição, com o Biotério Central interditado para reforma desde outubro de 2014 e ainda sem espaço adequado para experimentação animal, o protocolo crônico foi suprimido por ora deste projeto. Porém, o mesmo será realizado nas dependências do Biotério do INPA, assim que o termo de cooperação entre as Instituições for formalmente implementado. Com posse desses outros resultados partiremos então para publicação dos resultados.

9- Referências

Andrade-Valença, L.P.A.; Valença, M.M.; Velasco, T.R.; Leite, J.P. 2006. Epilepsia do Lobo Temporal Mesial Associada à Esclerose Hipocampal. *J Epilepsy Clin Neurophysiol*, 12(1):31-36.

Bataglioni, G.A.; Silva, F.M.A.; Santos, J.M.; Santos, F.N.; Barcia, M.T.; Lourenço, C.C.; Salvador, M.J.; Godoy, H.T.; Eberlin, M.N.; Koolen, H.H.F. 2014. Comprehensive characterization of lipids from Amazonian vegetable oils by mass spectrometry techniques. *Food Res Int*, 64: 472-481.

Bendini, A., Cerretani, L., Pizzolante, L., Toschi, T.G., Guzzo, F., Ceoldo, S., Marconi, A.M., Andreetta, F., Levi, M., 2006. Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of *Passiflora* spp. extracts. *Europ Food Resear and Technol*, 102.

Carvalho, M.J., Dissertação de Mestrado: "Caracterização fitoquímica e atividades farmacológicas de extratos das folhas do maracujá-do-mato (*Passiflora nitida* Kunth)", Universidade Federal do Amazonas, Mestrado em Patologia Tropical, 2008.

Dhawan, K.; Dhawan, S.; Sharma, A. 2004. *Passiflora*: a review update. *J Ethnopharmacol*, 94: 1-23.

EL-Hefnawy, M. E.; Sakran, M.; Ismail, A.I.; Aboelfetoh. 2014. Extraction, purification, kinetic and thermodynamic properties of urease from germinating *Pisum Sativum* L. seeds. *BMC Biochem*, 15: 15-23.

França, W.C.S.C.; Coan, A.C.; Morita, M.E.; Cendes, F. 2015. Late Onset Temporal Lobe Epilepsy Due to Cerebral Hypoperfusion: Case Report. *Jour of Epilepsy and Clin Neurophysiol*, 21 (1): 28-30.

Krahn, C.L. et al. 2008. Avaliação do efeito da casca desidratada do maracujá (*Passiflora edulis*) e seu extrato aquoso na redução da glicemia em ratos diabéticos induzidos por aloxano. *Revis Brasil de Farmacol*, 89:32-4.

Löscher, W.; Schmidt, D. 2002. New horizons in the development of antiepileptic drugs. *Epilepsy Reseae*, 50: 3-16.

Montanari, C.A.; Bolzani, V.S. 2001. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Quim Nova*, 24:105-111.

Pinto, A.C.; Silva, D.H.S.; Bolzani, V.S. 2002. Current status, challenges and trends on natural products in Brazil. *Quim Nova*, 25: 45-61.

Saraiva, S.A.; Cabral, E.C.; Eberlin, M.N.; Catharino, R.R. 2009. Amazonian vegetable oils and fats: fast typification and quality control via triacylglycerol (TAG) profiles from dry matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry fingerprinting. *Jour of Agricul and Food Chem*, 57:4030-4034.

Souza, J.N.S.; Silva, E.M.; Loir, A.; Rees, J.F.O.; Rogez, H.; Larondelle, Y. 2008. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. *Food Chem*, 106: 331-339.

8. Cronograma de Atividades

Nº	Descrição	Ago 2015	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2016	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão da Literatura	X	X				X					X	X
2	Piloto do projeto			X	X	X							

