



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
DOUTORADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

DAYANNE TERRA TENÓRIO NONATO

**EFEITO DO EXTRATO RICO EM POLISSACARÍDEOS DAS FOLHAS DE *GENIPA AMERICANA* NO MODELO DE CONVULSÃO E EPILEPSIA (*KINDLING*)
INDUZIDA POR PENTILENOTETRAZOL EM CAMUNDONGO**

**FORTALEZA – CEARÁ
2020**

DAYANNE TERRA TENÓRIO NONATO

EFEITO DO EXTRATO RICO EM POLISSACARÍDEOS DAS FOLHAS DE *GENIPA AMERICANA* NO MODELO DE CONVULSÃO E EPILEPSIA (*KINDLING*) INDUZIDA POR PENTILENOTETRAZOL EM CAMUNDONGO

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas. Área de concentração: Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Edna Maria Camelo Chaves.

FORTALEZA – CEARÁ

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Nonato, Dayanne Terra Tenório .

Efeito do extrato rico em polissacarídeos das folhas de genipa americana no modelo de convulsão e epilepsia (kindling) induzida por pentilenotetrazol em camundongo [recurso eletrônico] / Dayanne Terra Tenório Nonato. - 2020.

1 CD-ROM: il.; 4 ¼ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 108 folhas, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Fortaleza, 2020.

Área de concentração: Ciências Fisiológicas.

Orientação: Prof.^a Dra. Edna Maria Camelo Chaves.

1. Neuroinflamação. 2. Epilepsia. 3. Estresse oxidativo. 4. Extrato de planta. 5. Polissacarídeo.
I. Título.

DAYANNE TERRA TENÓRIO NONATO

EFEITO DO EXTRATO RICO EM POLISSACARÍDEOS DAS FOLHAS DE *GENIPA AMERICANA* NO MODELO DE CONVULSÃO E EPILEPSIA (*KINDLING*) INDUZIDA POR PENTILENOTETRAZOL EM CAMUNDONGO

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas. Área de concentração: Ciências Fisiológicas.

Aprovada em: 26 de março de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Edna maria camelo chaves

Prof.^a Dr.^a Edna Maria Camelo Chaves (orientadora)
Universidade Estadual do Ceará – UECE

Ana Maria Sampaio Assreuy

Prof.^a Dr.^a Ana Maria S. Assreuy
Universidade Estadual do Ceará – UECE

Gislei Frota Aragão

Prof. Dr. Gislei Frota Aragão
Universidade Estadual do Ceará – UECE

José Eduardo Honório Ribeiro

Prof. Dr. José Eduardo Honório Ribeiro
Centro Universitário Christus – UNICHRISTUS

Danielle Macêdo Gaspar

Prof.^a Dr.^a Danielle Macêdo Gaspar
Universidade Federal do Ceará – UFC

Dedico esta tese e todas as minhas demais conquistas, aos meus amados pais, Luiza Tenório e Jorge Alberto, à minha irmã Danielle Augusto e à minha sobrinha Julia Luiza.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual do Ceará, pela oportunidade de desenvolver a pós-graduação;

À minha orientadora, Profa. Edna Maria Camelo Chaves, por todo o suporte dado ao longo desse doutorado. Também agradeço por todo o apoio e dedicação; Pela paciência, ajuda e compreensão ao longo desses anos;

À minha “segunda orientadora”, Profa. Ana Maria Sampaio Asseury, por todo apoio incansável durante toda essa jornada. Tenho muito orgulho de citá-la como um dos responsáveis pela minha formação profissional. Agradeço pela confiança, pela amizade, conselhos e paciência.

À professora Maria Gonçalves Pereira, por tudo que a senhora vem adicionando ao laboratório; Agradeço pela confiança de me permitir trabalhar com os Polissacarídeos para a realização dos experimentos.

À professora Alana de Freitas Pires, por estar sempre disposta a ajudar com uma riqueza enorme de conhecimento e sabedoria em sua fala.

Aos professores Gislei Frota Aragão, José Eduardo Honório Ribeiro e Danielle Macedo Gaspar por terem aceitado participar da minha banca.

Às minhas amigas Karla Camila Lima de Souza e Raquel Magalhães Castelo Branco Craveiro, pela parceria, incentivo, contribuição em experimentos, parceria na pesquisa e pela troca de conhecimentos;

A todos os alunos de iniciação científica que me ajudaram bastante nos experimentos diários.

A todos os que fizeram parte do Laboratório de Físio-Farmacologia da Inflamação ao longo de todo o meu doutorado, pelo suporte científico e amizade.

Às secretárias Ecila Magalhães e Lindalva Cardoso pela boa vontade em servir os alunos;

Ao Cleidson e Aquino, pelo cuidado com os animais.

Aos funcionários do Instituto Superior de Ciências Biomédicas;

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de estudo durante o doutorado;

Ao conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio no custeio da pesquisa.

Ao Heleno Teixeira que me deu muito apoio para o desenvolvimento desse projeto.

A todos, minha eterna gratidão!

A Deus que acima de tudo esteve sempre comigo, tudo isso só foi possível graças a Ele.

“Somos a memória que temos e a responsabilidade que assumimos. Sem memória não existimos, sem responsabilidade talvez não mereçamos existir”.

(José Saramago)

RESUMO

A epilepsia é um problema de saúde pública que tem um grande impacto social e econômico afetando cerca de 1% da população mundial. Sua fisiopatologia ocorre principalmente pelo desequilíbrio entre os neurotransmissores excitatórios e inibitórios do SNC. Evidências sugerem que a neuroinflamação e o estresse oxidativo são fenômenos estritamente associados e participam da fisiopatologia da epilepsia. O tratamento clínico apresenta uma abordagem mais paliativa do que curativa, além de apresentar inúmeros efeitos adversos. Dados previamente obtidos demonstraram que o tratamento agudo com o extrato rico em polissacarídeo das folhas da *Genipa americana* (ERP-Ga) apresenta uma ação inibitória central, anticonvulsivante e antioxidante em camundongos. Portanto, esse projeto tem como objetivos avaliar o extrato polissacarídico das folhas de *Genipa americana* em modelos de convulsão aguda e epilepsia crônica (*Kindling*) induzidas por pentilenotetrazol em camundongos, seguindo de estudo de toxicidade deste extrato. O ERP-Ga das folhas de *G. americana* foi obtido pelo do método de Yoon *et al.*, 2002. Foram utilizados ratos Wistar fêmeas (150 a 170 g) para o modelo de toxicidade, seguindo as diretrizes nº 425 (OCDE, 2008) para o teste de produtos químicos. E camundongos Swiss machos (25-35 g), os quais foram avaliados por dois modelos: Modelo de convulsão e Modelo de epilepsia. No modelo de convulsão aguda o ERP-Ga (9 mg/kg) foi associado com drogas antiepilépticas seguindo de indução das convulsões (PTZ-70 mg/kg). No modelo de epilepsia os animais receberam ERP-Ga (1 e 9 mg/kg) diariamente e foram submetidos a convulsões (PTZ-40 mg/kg) em dias alternados ao longo de 30 dias. Ao longo dos 30 dias foram registrados: a latência de convulsão, porcentagem de sobrevivência, escala de racine. Em ambos os modelos, ao final os animais foram sacrificados para avaliação de mediadores anti-inflamatórios e parâmetros de estresse oxidativo no cérebro de animais. O ERP-Ga não causou letalidade (LD50>2000 mg/kg) e não causou alteração no peso corporal, reduziu a atividade exploratória no dia 1 e 7. Não demonstrou alterações em parâmetros bioquímicos e hematológico. Em modelo de convulsão aguda o ERP-Ga isolado ou quando associado a anticonvulsivantes demonstrou atividade protetora contra crises epiléticas. O diazepam (0,01 mg/kg) foi escolhido com uma dose subclínica porque não protegeu das crises convulsivas *per sí*, e quando associado ao PRE-Ga (9mg/kg), aumentou a latência

de convulsões ($222,4 \pm 47,57$ s) comparado com o grupo salina ($62,00 \pm 4,709$); PRE-Ga isolado ou associado ao DPZ, reverteu parâmetros de MDA e MPO induzidos pelo PTZ em áreas cerebrais em modelos de convulsão aguda e crônica. Conclui-se que o ERP-Ga isolado ou associado ao DZP apresenta atividades anticonvulsivantes, anti-inflamatórias e antioxidantes em modelos de convulsão agudas e crônicas.

Palavras-chave: Neuroinflamação. Epilepsia. Estresse oxidativo. Extrato de planta. Polissacarídeo.

ABSTRACT

Epilepsy is a public health problem that has a major social and economic impact affecting about 1% of the world population. Its pathophysiology occurs mainly due to the imbalance between excitatory and CNS inhibitory neurotransmitters. Evidence suggests that neuroinflammation and oxidative stress are closely associated phenomena and participate in the pathophysiology of epilepsy. Clinical treatment has a palliative rather than curative approach, in addition to having numerous adverse effects. Previously obtained data demonstrated that the acute treatment with the polysaccharide-rich extract of the leaves of the American Genipa (ERP-Ga) has a central inhibitory, anticonvulsant and antioxidant action in mice. Therefore, this project aims to evaluate the polysaccharide extract of Genipa americana leaves in models of acute seizure and chronic epilepsy (Kindling) induced by pentylenetetrazole in mice, following a study on the toxicity of this extract. The ERP-Ga of the leaves of *G. americana* was obtained using the method of Yoon et al., 2002. Female Wistar rats (150 to 170 g) were used for the toxicity model, following guidelines No. 425 (OECD, 2008) for testing chemicals. And male Swiss mice (25-35 g), which were evaluated by two models: seizure model and epilepsy model. In the acute seizure model, ERP-Ga (9 mg / kg) was associated with antiepileptic drugs followed by seizure induction (PTZ-70 mg / kg). In the epilepsy model, animals received ERP-Ga (1 and 9 mg / kg) daily and underwent seizures (PTZ-40 mg / kg) on alternate days over 30 days. Over the 30 days were recorded: seizure latency, percentage of survival, racine scale. In both models, at the end the animals were sacrificed for the evaluation of anti-inflammatory mediators and parameters of oxidative stress in the brain of animals. ERP-Ga did not cause lethality ($LD_{50} > 2000$ mg / kg) and did not cause changes in body weight, reduced exploratory activity on days 1 and 7. It did not show changes in biochemical and hematological parameters. In an acute seizure model, ERP-Ga alone or when associated with anticonvulsants showed protective activity against epileptic seizures. Diazepam (0.01 mg / kg) was chosen with a subclinical dose because it did not protect against seizures per se, and when associated with PRE-Ga (9mg / kg), increased seizure latency ($222.4 \pm 47, 57$ s) compared to the saline group (62.00 ± 4.709); PRE-Ga alone or associated with DPZ, reversed PTZ-induced MDA and MPO parameters in brain areas in acute and chronic seizure

models. It is concluded that ERP-Ga alone or associated with DZP has anticonvulsant, anti-inflammatory and antioxidant activities in acute and chronic seizure models.

Keywords: Neuroinflammation. Epilepsy. Oxidative stress. Plant extract. Polysaccharide.