

ANÁLISE FUNCIONAL DE PEPTÍDEOS MIMÉTICOS DE RECEPTORES DE PEPTÍDEOS N-FORMIL (FPR) NO STATUS EPILEPTICUS INDUZIDO POR MICROINJEÇÃO INTRA-HIPOCAMPAL DE PILOCARPINA

Thainá de Paula Soares Mendonça¹ (PROBIC/UNIT), e-mail:
thainamendoca@hotmail.com;

Cassius Iury Anselmo e Silva¹ (PROVIC/UNIT), e-mail: cassiusiury@gmail.com;

Olagide Wagner de Castro² (Coorientador), e-mail: olagidewww@gmail.com;

Igor Santana de Melo³ (Orientador), e-mail: igor_melo@hotmail.com;

Discentes do Centro Universitário Tiradentes¹/Biomedicina e
Fisioterapia/Maceió, AL.

Docente da Universidade Federal de Alagoas²/Maceió, AL.

Docente do Centro Universitário Tiradentes³/Maceió, AL.

2.00.00.00-6 Ciências Biológicas - 2.07.02.01-9 Neurofisiologia

RESUMO:

INTRODUÇÃO: A Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) é caracterizada por crises recorrentes e espontâneas (CREs), iniciando-se a partir de insultos, como *Status Epilepticus* (SE). Após esse insulto inicial, ocorrem modificações celulares, histológicas, bioquímicas e eletrofisiológicas durante o período de latência, incluindo alterações comportamentais, *wet dog shake* (WDS) e neurodegeneração no hipocampo. Em animais com SE induzidos por H-PILO, observa-se a presença de morte neuronal em diversas áreas cerebrais, como as regiões hilus do giro dentado, CA3 e CA1 do hipocampo. Além dos processos neurodegenerativos, inflamação e gliose também podem ser observadas no hipocampo após o SE. A partir da primeira crise epiléptica, o sistema nervoso atua promovendo uma resposta inflamatória, estimulando a proliferação e ativação de astrócitos e micróglia. Por isso, é de extrema importância a realização de novas pesquisas, a fim de estudar novas substâncias que possuam um melhor desempenho farmacológico e mais eficaz nestes pacientes que são refratários ao tratamento. O peptídeo N-formil-metil-leucil-fenilalanina (fMLP) é um agonista que tem mostrado exercer um papel anti-inflamatório, sendo que o peptídeo Boc-Met-Leu-Phe-OH (Boc-MLF ou Boc-1) tem sido descrito como antagonista do receptor FPR. Diante disso, a redução do processo de inflamação pode contribuir para atenuar a neurodegeneração e a gravidade das crises epilépticas. **OBJETIVO:** Avaliar o papel funcional de peptídeos N-formil em processos neurodegenerativos e no comportamento após SE. **METODOLOGIA:** Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso em Animais da UFAL (04/2016). Foram utilizados ratos Wistar machos, os quais foram submetidos a cirurgias estereotáxicas para implantar uma cânula no hilus do giro dentado. Após uma

semana, peptídeos (fMLP ou Boc-1) ou salina (SAL) foram microinjetados no hilus do hipocampo esquerdo 5 minutos após pilocarpina (PILO), que é capaz de induzir o SE. Durante o SE, os animais estavam sendo filmados por 90 minutos e as crises epiléticas sendo analisadas de acordo com a escala de Racine (1972). Após 24 horas, os cérebros foram coletados e processados. Para analisar a neurodegeneração, foi utilizada a técnica de histoquímica de Fluoro-Jade - C. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média, comparado por one-Way ANOVA, seguido por pós-teste Student-Newman-Keuls. **RESULTADOS:** A infusão intra-hipocampal de FMLP e BOC-1 após a PILO não interferiu na quantidade e tempo total das classes 2, 3, 4 e 5. Similarmente, a administração destes peptídeos não alterou o período de latência, gravidade das crises e o número total de WDS, comparado ao controle. Quanto ao processo neurodegenerativo, o tratamento com FMLP e BOC-1 foi capaz de reduzir a morte neuronal nas subáreas CA1 e CA3 do hipocampo, porém não foi capaz de alterar o padrão de neurodegeneração no hilus do hipocampo, em comparação ao controle. **CONCLUSÃO:** Em conjunto, esses dados preliminares sugerem que os peptídeos FMLP e BOC-1 são capazes de prevenir os processos neurodegenerativos, protegendo o cérebro na fase aguda da epileptogênese.

Palavras-chave: Epilepsia, Peptídeo, Neurodegeneração

Agradecimentos: UNIT, UFAL, CAPES e CnPQ.

ABSTRACT:

INTRODUCTION: Temporal lobe epilepsy (TLE) is characterized by recurrent and spontaneous seizures (CREs), starting from insults such as Status Epilepticus (SE). Following this initial insult, cellular, histological, biochemical, and electrophysiological changes occur during the latency period, including behavioral changes, wet dog shake, and hippocampal neurodegeneration. In animals with H-PILO-induced SE, neuronal death is observed in several brain areas, such as the hilus, CA3 and CA1 regions of the hippocampus. In addition to neurodegenerative processes, inflammation and gliosis may also be observed in the hippocampus after SE. From the first epileptic seizure, the nervous system promotes an inflammatory response, stimulating the proliferation and activation of astrocytes and microglia. Therefore, further researches are necessary in order to study new substances that have better pharmacological performance. N-formyl methyl leucyl phenylalanine (fMLP) peptide is an agonist that exhibits an anti-inflammatory role, and Boc-Met-Leu-Phe-OH peptide (Boc-MLF or Boc-1) has been described as an FPR receptor antagonist. Given this, the reduction of the inflammation process may contribute to attenuate the neurodegeneration and the severity of seizures. **OBJECTIVE:** To evaluate the functional role of N-formyl peptides in neurodegenerative processes and seizures severity after SE. **METODOLOGIA:** Experimental

procedures were approved by the Ethical Committee for Animal Research of UFAL (04/2016). Male Wistar rats (n=9 [240-340g]) were submitted to stereotaxic surgery for cannula implantation in the hilus of dentate gyrus of left hippocampus. Animals received microinjections of pilocarpine in hippocampus (H-PILO, 1.2mg/ μ L, 1 μ L). After 5 minutes of H-PILO, groups received microinjections of peptides FMLP (1mg/mL, 1 μ L), BOC-1 (3mM, 1 μ L) or vehicle (VEH, saline 0.9%, 1 μ L). During SE, behavioral analysis was performed by Racine's scale (1972). Animals were perfused after 24 hours of SE and neurodegeneration was evaluated by histochemistry of Fluoro-Jade (FJ). FJ positive neurons (FJ+) were counted (ImageJ-NIH) in hippocampus. Results were expressed as mean \pm SEM, compared by one-way ANOVA followed by post-hoc test Student-Newman-Keuls. **RESULTS:** FMLP and BOC-1 infusion after PILO did not affect the number and total time of classes 2, 3, 4 and 5. Similarly, the administration of the peptides did not change the latency period, severity of seizures and total number of WDS compared to the control. Regarding the neurodegenerative process, FMLP and BOC-1 were able to reduce neuronal death in the CA1 and CA3 region of hippocampus, but were not able to alter the neurodegeneration pattern in the hilus of hippocampus compared to control. **CONCLUSION:** Taken together, these preliminary data suggest that FMLP and BOC-1 peptides can prevent neurodegenerative processes by protecting the brain in the acute phase of the epileptogenic process.

Keywords: Epilepsy, Peptide, Neurodegeneration.

Acknowledgements: UNIT, UFAL, CAPES e CnPQ.

Referências/references:

CASTRO, O. W. et al. Comparative neuroanatomical and temporal characterization of FluoroJade-positive neurodegeneration after status epilepticus induced by systemic and intrahippocampal pilocarpine in Wistar rats. **Brain Research**, v. 1374, p. 43–55, 2011.

GIROL, A. P. et al. Anti-Inflammatory Mechanisms of the Annexin A1 Protein and Its Mimetic Peptide Ac2-26 in Models of Ocular Inflammation In Vivo and In Vitro. **The Journal of Immunology**, v. 190, n. 11, p. 5689–5701, 2013.

LIEFFERINGE, J.V. et al. Are vesicular neurotransmitter transporter s potential treatment targets for temporal lobe epilepsy? **Front Cell Neurosci.**, v.7:139, 2013.

RABIET, M. J.; HUET, E.; BOULAY, F. The N-formyl peptide receptors and the anaphylatoxin C5a receptors: An overview. **Biochimie**, v. 89, n. 9, p. 1089–1106, 2007.

RAJMOHAN, V.; MOHANDAS, E. The limbic system. **Indian J Psychiatry**. v.49, n. 2, p. 132–139, 2007

SLOVITER, R.S. Status Epilepticus-induced Neuronal Injury and Network Reorganization. **Epilepsia**, n. 40 (Suppl.1), p. S34-S39, 1999.



**"Cenários de Fragilidade
e Vulnerabilidade"**

04 a 08 de novembro de 2019