

PEPTÍDEOS N-FORMIL REDUZEM A GRAVIDADE DAS CRISES E PROCESSO DE NEURODEGENERAÇÃO EM MODELO DE STATUS EPILEPTICUS

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 (Coorientador), e-mail: igor_melo@hotmail.com;

Anne Flávia Silva Galindo Santana⁴ (Orientadora), e-mail:
annefsg@hotmail.com

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

Docente da Universidade Federal de Alagoas²/Maceió, AL.

Docente da Faculdade Estácio de Alagoas³/Maceió, AL.

Docente do Centro Universitário Tiradentes⁴/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 promove uma resposta inflamatória, estimulando a proliferação e ativação de astrócitos e micróglia. Por isso, é a realização de novas pesquisas, a fim de estudar substâncias que tenham um melhor desempenho farmacológico e mais eficácia nos 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 epiléticas. **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 foram filmados por 90 minutos e as crises epilépticas 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±erro padrão da média, comparado por one-Way ANOVA, seguido por pós-teste de Dunnett's, sendo utilizado o test t não pareado quando adequado. **RESULTADOS:** A infusão intra-hipocampal de FMLP e BOC-1 após a PILO não interferiu na quantidade e tempo total das classes 2, 3, como também o tempo da classe 5. No entanto, o FMLP foi capaz de atenuar a quantidade das classes 4 e 5, bem como o tempo da classe 4. Similarmente, a administração destes peptídeos não alterou o período de latência e o número total de WDS, comparado ao controle. Quanto ao processo neurodegenerativo, o tratamento com ambos foi capaz de reduzir o processo de neurodegeneração no hilus e nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo em comparação ao controle. **CONCLUSÃO:** Em conjunto, esses dados sugerem que os peptídeos 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 (ELT) is characterized by recurrent and spontaneous crises (CREs), starting from insults, such as Status Epilepticus (SE). After this initial insult, cellular, histological, biochemical and electrophysiological changes occur during the latency period, including behavioral changes, wet dog shake (WDS) and neurodegeneration in the hippocampus. In pilocarpine-induced SE models, neuronal death is observed in several brain areas, such as the hilus regions of the dentate gyrus, CA3 and CA1 of the hippocampus. In addition to neurodegenerative processes, inflammation and gliosis can also be seen 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, it is important to carry out new research to study new substances that have a better pharmacological performance and more effective in patients who are refractory to treatment. The peptide N-formyl-methyl-leucyl-phenylalanine (fMLP) is an agonist that has been shown to play an anti-inflammatory role, and the peptide Boc-Met-Leu-Phe-OH (Boc-MLF or Boc-1) has been described as an FPR receptor antagonist. Therefore, the reduction of the inflammation process can

contribute to attenuate neurodegeneration and the severity of epileptic seizures.

OBJECTIVE: To evaluate the functional role of N-formyl peptides in neurodegenerative processes and in behavior after SE. **METHODOLOGY:** The experimental procedures were approved by the Animal Use Ethics Committee of UFAL (04/2016). Male Wistar rats were used and submitted to stereotaxic surgery to implant a cannula in the hilus of the dentate gyrus. After one week, peptides (fMLP or Boc-1) or saline (SAL) were microinjected into the hilus of the left hippocampus 5 minutes after pilocarpine (PILO), which is capable of inducing SE. During SE, animals were filmed for 90 minutes and the epileptic seizures were analyzed according to the Racine scale (1972). After 24 hours, brains were collected and processed. To analyze neurodegeneration, the Fluoro-Jade C histochemistry technique was used. The results were expressed as mean \pm standard error of the mean, compared by one-way ANOVA, followed by Dunnett's post-test, using the t test not paired in cases of only two groups. **RESULTS:** The intrahippocampal infusion of FMLP and BOC-1 after PILO did not affect the total amount and time of classes 2, 3, as well as the time of class 5. However, FMLP was able to attenuate the number of classes 4 and 5, as well as the time of class 4. Similarly, administration of these peptides did not change the latency period and the total number of WDS, compared to the control. As for the neurodegenerative process, treatment with both peptides was able to reduce neuronal death in hilus, CA1 and CA3 regions of hippocampus hilus compared to control. **CONCLUSION:** Together, these data suggest that the peptides are capable of preventing neurodegenerative processes, protecting the brain in the acute phase of epileptogenesis.

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.