



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA



GABRIELLY CORRÊA BARAÚNA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIEPILÉPTICO E NEUROPROTETOR DO
EXTRATO DE *Passiflora nitida* Kunth EM MODELO AGUDO DE EPILEPSIA DO
LOBO TEMPORAL**

MANAUS

2021

GABRIELLY CORRÊA BARAÚNA

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ANTIEPILÉPTICO E NEUROPROTETOR DO
EXTRATO DE *Passiflora nitida* Kunth EM MODELO AGUDO DE EPILEPSIA DO
LOBO TEMPORAL**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Imunologia.

Orientadora: Dra. Geane Antiques Lourenço

Coorientadora: Dra. Ana Leonor Abrahão Nencioni

MANAUS

2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

B227a Baraúna, Gabrielly Corrêa
Avaliação dos efeitos antiepiléptico e neuroprotetor do extrato de Passiflora nitida Kunth em modelo agudo de epilepsia do lobo temporal / Gabrielly Corrêa Baraúna . 2021
86 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: Geane Antiques Lourenço
Coorientadora: Ana Leonor Abrahão Nencioni
Dissertação (Mestrado em Imunologia Básica e Aplicada) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Epilepsia. 2. Epilepsia do lobo temporal. 3. Passiflora nitida Kuth. 4. Extrato hidroetanólico. I. Lourenço, Geane Antiques. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

11/08/2021

SEI/UFAM - 0616066 - Ata



Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada

Ata da Defesa de Dissertação de Mestrado da aluna **GABRIELLY CORRÊA BARAÚNA**, em 05 de agosto de 2021.

Aos cinco dias do mês de agosto de 2021, às nove horas, na sala virtual do Zoom, a aluna de mestrado deste Programa **GABRIELLY CORRÊA BARAÚNA** apresentou dissertação de mestrado intitulada "Avaliação dos efeitos antiepiléptico e neuroprotetor do extrato de *Passiflora nitida* em modelo agudo de epilepsia do lobo tem composta pelos seguintes membros: Professora Doutora Geane Antiques Lourenço (Presidente), Professora Doutora Cinthya Iamille Frithz Brandão de Oliveira, Antônio Luiz Ribeiro Boechat Lopes (Membro), decidiu, após a apresentação e a arguição, pela aprovação de sua dissertação.

em Manaus, 05 de agosto 2021.



Documento assinado eletronicamente por **Geane Antiques Lourenço, Professor do Magistério Superior**, em 05/08/2021, às 16:01, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cinthya Iamille Frithz Brandão de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 05/08/2021, às 16:05, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Antônio Luiz Ribeiro Boechat Lopes, Professor do Magistério Superior**, em 06/08/2021, às 10:59, conforme horário oficial de Manaus, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufam.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0616066** e o código CRC **38E787ED**.

Avenida General Rodrigo Octávio, 6200 - Bairro Coroado I Campus Universitário Senador Arthur Virgílio Filho, Setor Sul, Bloco 1, ICB, 3º andar - Telefone: (92) 3305-1181 / Ramal 2380
CEP 69080-900, Manaus/AM, icb@ufam.edu.br

Referência: Processo nº 23105.024091/2021-39

SEI nº 0616066

Dedico esse projeto ao dono de todos os meus dias (Deus), a família Baraúna, ao meu noivo Danilo, aos meus gatos e a minha orientadora por toda paciência, apoio, força e ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por ter me dado a oportunidade de fazer parte deste Programa de Pós-Graduação e por ter me sustentado diversas vezes durante a minha vida acadêmica.

Aos meus pais **Ailson Baraúna** e **Liney Baraúna** por acreditarem no meu potencial quando nem eu acreditei, por permitirem que eu pudesse trilhar o caminho dos estudos sem nenhuma exigência extra e por serem a minha base de tudo.

A minha vó **Leo Baraúna** que sempre me deu força para que eu não desistisse de estudar e por sempre me tranquilizar nas horas mais difíceis da caminhada.

As minhas irmãs **Eva Baraúna**, **Karolliny Baraúna** e **Emilly Baraúna** por me incentivarem a estudar e ser a melhor versão de mim.

A minha tia **Diolene Baraúna** que sempre me incentivou a buscar meus sonhos e me deu apoio emocional durante esses anos.

Ao meu sobrinho **Athos Pierre** que me deu toda força do mundo para ser a melhor tia que ele poderia ter e por tirar vários sorrisos meus quando as coisas estavam difíceis.

A pessoa mais paciente do mundo comigo meu noivo **Danilo Gonçalves** por sempre insistir e me dar todo suporte que eu precisei para persistir na pesquisa. Esse título também é seu.

Aos meus gatos que são meu maior motivo de levantar da cama, seguir a luta e alcançar meus sonhos (**Tigresa**, **Peixoto** e **Karolino**).

A minha orientadora **Prof. Dra. Geane Antiques Lourenço** por me tratar como uma filha, por ser exemplo, por sempre me incentivar a ir além e pelos puxões de orelha. Você merece toda minha gratidão por todos os ensinamentos e desafios que me fez passar para chegar até aqui.

A minha coorientadora **Profa. Dra. Ana Leonor Abrahão Nencioni** por ter me aceito em seu laboratório e por todo conhecimento e material repassado a mim durante os meses que fiquei no Instituto Butantan.

Aos meus colegas do Instituto Butantan que foram meu suporte enquanto eu estava passando alguns meses fora de casa (**Isabelly Mariano**, **Vanessa Ferreira**, **Priscilla França** e **Larissa Maldonato**).

Aos meus colegas de laboratório que sempre se disponibilizaram para me ajudar a cortar material e a concluir minhas amostras (**Maria Beatriz**, **Elias Fragata** e **Verônica Gonçalves**).

Aos professores **Dr. José Fernando Marques Barcellos** e **Dr. Emerson Silva Lima** por disponibilizarem seu laboratório e o extrato para a nossa pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada- PPGIBA por todo conhecimento e aprendizado em cada disciplina ministrada.

Aos meus colegas de mestrado e doutorado do PPGIBA em especial a **Laianne Lopes** por toda troca de conhecimento e ajuda que tivemos nesses anos.

Aos meus amigos Pós-Graduandos de outros programas que sempre me deram apoio e força para continuar em especial o M.e **Luiz Pedro Souza**.

As minhas melhores amigas **Jaqueline de Paula** e **Larissa Cristine** por me darem apoio, atenção e conselhos.

Ao Instituto Butantan em nome do Laboatório de Farmacologia do Sistema Nervoso central por todo suporte, material e conhecimento adquirido.

A Universidade Federal do Amazonas pela viagem concedida ao Instituto Butantan para que eu pudesse pagar as minhas despesas.

Ao PPGIBA pela oportunidade de prosseguir meus estudos durante esses 2 anos e meio.

Aos membros da banca de qualificação e defesa por contribuírem com o aperfeiçoamento deste projeto de pesquisa.

A CAPES pelo incentivo a pesquisa e desenvolvimento desse projeto.

E aos animais experimentais (ratos e camundongos) que involuntariamente deram as suas vidas a essa pesquisa.

Obrigada a todos!

RESUMO

A Epilepsia é um distúrbio neurológico caracterizado por crises epilépticas recorrentes no SNC que acomete a população mundial, sendo a Epilepsia do Lobo Temporal (ELT) o tipo mais comum entre as epilepsias. Entretanto, a ELT é a que mais apresenta refratariedade medicamentosa na clínica. A análise do comportamento e da atividade elétrica cerebral através dos exames utilizados na clínica possibilitam o diagnóstico da epilepsia, sendo que o EEG é o exame mais usado clinicamente. Por ser uma síndrome que leva a uma degeneração do tecido nervoso, há uma busca por antiepilépticos com maior seletividade e com menores efeitos adversos para melhorar o tratamento de pacientes resistentes a medicamentos. A literatura relata que o gênero *Passiflora* possui atividade anti-inflamatória, antioxidante, anticoagulante, antiagregante plaquetária, antimicrobiana, anti-hipertensiva, ansiolítica, sedativa e analgésica. Considerando o potencial desse gênero, este projeto teve como objetivo avaliar os efeitos antiepiléptico e neuroprotetor do extrato hidroetanólico de *Passiflora nitida* em modelo agudo de epilepsia do lobo temporal. Para a avaliação da ação do extrato foram utilizados ratos Wistar machos divididos em três grupos e induzidos ao *status epilepticus* (SE) para avaliação comportamental, registro eletroencefálico e avaliação da lesão neuronal através de histologia do encéfalo dos animais experimentais. O resultado do eletroencefalograma demonstrou que o extrato de *Passiflora nitida* apresentou controle das crises, corroborando com a análise comportamental dos animais experimentais. O resultado da lesão de neurônios das regiões do hipocampo demonstra que com a administração do extrato hidroetanólico de *Passiflora nitida* houve redução do dano neuronal na região do giro denteado do hipocampo dorsal demonstrando que o extrato possui efeito neuroprotetor nessa região durante o SE em modelo agudo de epilepsia do lobo temporal.

ABSTRAT

Epilepsy is a neurological disorder characterized by recurrent epileptic seizures in the CNS that affects the population worldwide, with Temporal Lobe Epilepsy (TLE) being the most common type among epilepsies. However, TLE is the one with the most drug refractoriness in the clinic. The analysis of the behavior and electrical activity of the brain through the exams used in the clinic enable the diagnosis of epilepsy, and the EEG is the most commonly used exam in the clinic. As it is a syndrome that leads to nervous tissue degeneration, there is a search for antiepileptic drugs with greater selectivity and fewer adverse effects to improve the treatment of drug-resistant patients. Literature reports that the genus *Passiflora* has anti-inflammatory, antioxidant, anticoagulant, antiplatelet, antimicrobial, antihypertensive, anxiolytic, sedative and analgesic activities. Considering the potential of this genus, this project aimed to evaluate the antiepileptic and neuroprotective effects of *Passiflora nitida* extract in an acute model of temporal lobe epilepsy. To evaluate the action of the extract, male Wistar rats were divided into three groups and induced to status epilepticus (SE) for behavioral assessment, electroencephalic recording and evaluation of neuronal damage through histology of the brain of experimental animals. The result of the electroencephalogram showed that the *Passiflora nitida* extract showed control of the crises, corroborating the behavioral analysis of the experimental animals. The result of damage to neurons in the hippocampus regions demonstrates that with the administration of the hydroethanolic extract of *P. nitida* there was a reduction in neuronal damage in the dentate gyrus region of the dorsal hippocampus, demonstrating that the extract has a neuroprotective effect in this region during SE in an acute model of temporal lobe epilepsy.

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

a.C	Antes de Cristo
ANOVA	Análise de varincia
Ca²⁺	ion Clcio
CA1	rea hipocampal1
CA2	rea hipocampal2
CA3	rea hipocampal3
CBZ	Carbamazepina
CEUA	Comit de Uso de Animais Experimentais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentao Animal
CRE	Crises recorrentes e espontâneas
cm	Centímetros
EEG	Eletroencefalograma
EHE	Extrato hidroetanólico
ELT	Epilepsia do Lobo Temporal
ELTM	Epilepsia do Lobo Temporal Mesial
EME	Estado do mal epiléptico
EROs	Espécies reativas de oxignio
FAE	Fármaco antiepiléptico
FAES	Fármacos antiepilépticos
FCF	Faculdade de Ciências Farmacêuticas
GABA	cido γ -aminobutírico
g	Grama

HGD	Hilus do giro denteado
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IB	Instituto Butantan
ILAE	International League against epilepsy
Kg	Kilograma
mg	Miligrama
ml	Mililitro
Na+	Íon Sódio
PHT	Fenitoína
PB	Fenobarbital
PPGIBA	Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e aplicada
<i>P. nitida</i>	<i>Passiflora nitida</i> Kunth
PILO	Pilocarpina
PTZ	Pentilenotetrazol
RENISUS	Relação nacional de plantas medicinais de interesse do SUS
SE	Status Epilepticus
SNC	Sistema Nervoso Central
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
µL	Microlitro
v.o	Via Oral
v.ip	Via Intraperitoneal
XIX	Dezenove

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Classificações das crises epiléticas e sua etiologia.....	19
FIGURA 2. Corte histológico das áreas do hipocampo afetadas na ELT.....	21
FIGURA 3. Exsicata das folhas e flores da espécie <i>P. nitida</i> Kunth.....	26
FIGURA 4. Flores e Fruto da espécie <i>Passiflora nitida</i> Kunth.....	26
FIGURA 5. Extrato hidroetanólico de <i>P. nitida</i> Kunth.....	30
FIGURA 6. Esquema do processo cirúrgico e pós-cirúrgico de um animal experimental.....	32
FIGURA 7. Gaiola Faraday e Sistema Biopac.....	33
FIGURA 8. Bombas de perfusão.....	34
FIGURA 9. Lâminas coradas com cresil violeta.....	35
FIGURA 10. Representação de Registro de um animal sadio sem detecção de alteração epileptiformes.....	38
FIGURA 11. Representação de registro de um animal com descargas agrupadas de baixa amplitude.....	39
FIGURA 12. Representação de Registro de eletro de um animal apresentando espículas de alta amplitude.....	39
FIGURA 13. Representação de registro de animal com descargas moderadas.....	39
FIGURA 14. Representação de registro de animal com descargas moderadas.....	40
FIGURA 15. Representação de registro de animal com espículas isoladas.....	40
FIGURA 16. Média de Tempo total das alterações eletrográficas em paralelo com o número de vezes que ocorreram espículas agrupadas e moderadas no Hipocampo e/ou córtex.....	41
FIGURA 17. Média dos neurônios íntegros da região CA1 do hipocampo.....	43
FIGURA 18. Média dos neurônios íntegros da região CA3 do hipocampo.....	44
FIGURA 19. Imagem histológica da região do GD no hipocampo dorsal.....	44
FIGURA 20. Média dos neurônios íntegros da região GD do hipocampo dorsal.....	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Registro de alterações de comportamento em resposta aos tratamentos de Salina, Fernobarbital e <i>Passiflora</i>	37
---	----

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Epilepsia.....	17
2.2 Epilepsias do Lobo Temporal	19
2.3 Eletroencefalograma.....	21
2.4 Tratamento clínico.....	22
2.5 Gênero Passiflora	23
2.6 Passiflora nitida Kunth	25
3. OBJETIVOS.....	29
3.1 Objetivo Geral.....	29
3.2 Objetivos Específicos	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1 Drogas e Reagentes	30
4.2 Substância Teste.....	30
4.3 Animais experimentais.....	31
4.4 Procedimento Cirúrgico para Implantação de Eletrodos.....	31
4.5 Modelo Experimental para indução da epilepsia	32
4.6 Tratamentos.....	32
4.7 Registro da Atividade Elétrica Cerebral.....	33
4.8 Eutanásia e Perfusão.....	34
4.9 Processamento histológico do tecido	34
4.10 Processo de coloração com Cresil Violeta.....	34
4.11 Contagem de neurônios íntegros	35
5. RESULTADOS	36
5.1 Estudo Comportamental.....	36
5.2 Alterações eletroencefalográficas.....	38
5.3 Avaliação da lesão neuronal por histologia.....	42
6. DISCUSSÃO.....	46
7. CONCLUSÃO	55
8. EQUIPE DO PROJETO	56
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

10. ANEXOS.....	84
-----------------	----

1. INTRODUÇÃO

A epilepsia é considerada um distúrbio cerebral caracterizado pela predisposição persistente do cérebro de emitir sinais elétricos irregulares entre os neurônios. Esses sinais levam a crises recorrentes através da reorganização e atividade anormal excessiva e simultânea dos neurônios, além de consequências neurobiológicas, cognitivas, psicológicas e sociais dessa condição. (ILAE, 2005, FISHER et.al., 2014).

A Epilepsia do Lobo temporal (ELT) é descrita na literatura como focal (originada no lobo temporal) e conhecida por sua alta incidência, gravidade, resistência ao tratamento medicamentoso e prevalência em adultos. A característica neuropatológica da ELT é a morte neuronal no hipocampo acompanhado por debilitação do desempenho cognitivo, tais consequências geram grandes impactos na qualidade de vida dos pacientes epilépticos (ALLONE et.al., 2017, ENGLLOT et.al., 2020).

Para diagnosticar a ELT é necessário o uso de ferramentas que auxiliem a sua identificação através da avaliação de alterações cerebrais. Para isso, os neurologistas costumam realizar exames de eletroencefalografia para monitorar a atividade cerebral e comportamento através da captação de sinais dos neurônios (SHAFI, 2017, FEYSSA E TATUM, 2019). Esse método acessível auxilia na localização, mensuração e tratamento dos pacientes, além de ser o exame mais frequente no diagnóstico da epilepsia (Li et.al., 2019).

A ELT é um tipo de epilepsia que apresenta resistência aos medicamentos atuais pela ineficácia e efeitos colaterais dos mesmos, apesar do grande número de medicamentos antiepilépticos no mercado farmacêutico (TANG et.al., 2017). Por isso, diversos avanços na terapia para epilepsia têm ocorrido para reduzir ou controlar as crises, mas, ainda assim, aproximadamente um terço dos pacientes com epilepsia permanecem refratários ao tratamento com drogas anticonvulsivantes clássicas nas últimas décadas (VIEIRA et.al., 2019).

A descoberta de novas drogas com atividade no sistema nervoso central tem sido uma atividade constante, seja para tratamento, estudo de desordens que ainda não estão bem definidas, na substituição de fármacos que apresentam efeitos colaterais importantes por falta de seletividade, efetividade e segurança dos mesmos e pela dificuldade de acesso a alvos moleculares na epileptogênese (ABRAHAM E SHAJU, 2013, SAFAHANI et.al., 2020).

O Brasil possui uma vasta biodiversidade, principalmente no quesito de plantas endêmicas e por esse motivo apresenta um cenário grandioso para o desenvolvimento de medicamentos a partir de plantas medicinais como alternativas do tratamento de diversas patologias na medicina popular (BORTOLUZZI et.al., 2015, ULLOA et.al., 2017).

Dentro dessa rica diversidade são encontrados grupos de plantas medicinais com atividade no sistema nervoso central, como as espécies da família *Passifloraceae*. Os gêneros dessa família são descritos com grande potencial terapêutico na medicina popular e muitas espécies do gênero *Passiflora L.* já foram descritas com atividade ansiolítica, sedativa, anti-inflamatória, antinociceptiva, antioxidante, analgésica, antihipertensiva, antimicrobiano e antidepressivo, as quais foram relacionadas principalmente à presença de compostos secundários liberados por esse grupo (DHAWAN et al., 2004, BENINCÁ et al., 2007, MIRODDI et.al., 2013, NARAIN et.al., 2019, CORRÊA et al., 2016, DA SILVA et al., 2020).

Tendo em vista o potencial terapêutico do gênero *Passiflora*, a espécie *Passiflora nitida* possui uma exploração crescente do ponto de vista científico e biotecnológico, tendo sido descrita com propriedade, anticoagulante, antiagregante plaquetária, anti-inflamatório (CARVALHO et.al., 2010) hipoglicêmico (LIMA et.al., 2012, MONTEFUSCO-PEREIRA et.al., 2013) e hepatoprotetor em roedores (TEXEIRA et.al., 2014), antioxidante (OLIVEIRA, 2011, TEXEIRA 2014) além de apresentar efeito redutor sobre a melanogênese em células de melanoma murino B16F10 (OLIVEIRA, 2011) e ação no SNC ao apresentar efeito hipnótico na indução do sono por barbitúrico (dados não publicados).

Os modelos experimentais atuais de epilepsia podem ser obtidos por meio de preparações *in vivo* (por agentes químicos, elétricos e físicos em animais experimentais) e *in vitro* (para testar substâncias ou procedimentos convulsivantes em tecidos ou cultura de células) para acompanhar o processo de epileptogênese (PITKÄNEN et.al., 2016). Dos modelos *in vivo* que induzem lesão identificável no sistema nervoso central (SNC), o mais prevalente é o que utiliza a pilocarpina como agente indutor, por ser um modelo pouco invasivo e com alta reprodutibilidade (TURSKI, 1983; CAVALHEIRO, 1995; MENDES et.al., 2019).

A pilocarpina é um agonista colinérgico de receptores muscarínicos que ao ser administrado por via sistêmica em altas doses em roedores (~360 mg/kg), induz um quadro de alterações de comportamento com manifestação de crises motoras límbicas que ocorrem entre 15-30 minutos após injeção. Esses efeitos podem se estender por horas (*status epilepticus*, SE), caracterizando o período agudo do modelo (TURSKI, 1985). O animal que sobrevive ao quadro agudo passa por um período latente, livre de crises comportamentais, que tem duração média de 14 dias, terminando quando o animal apresenta a primeira crise espontânea, sendo essas crises recorrentes por toda a vida (REDDY et.al., 2021). Esses modelos auxiliam na compreensão da síndrome epiléptica e no desenvolvimento de tratamentos clínicos de melhor controle das crises (MANOUZE et.al., 2019). Motivados por esses indicativos promissores do

extrato e pela necessidade constante de novos antiepiléticos, julgou-se oportuno o desenvolvimento deste projeto.

1. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epilepsia

Historicamente, os primeiros relatos escritos na literatura sobre a epilepsia sugeriram em 2000 a.C. na Babilônia, onde foi descrito um episódio convulsivo, atribuindo à epilepsia caráter mágico e sagrado, pois acreditava-se que esta era a manifestação de espíritos do mal ou a expressão do descontentamento divino. Essa crença se manteve em diversas civilizações como egípcios, gregos e romanos (MAGIORKINIS, 2010).

Hipócrates em 400 a.C, descreveu em seu livro “A doença sagrada” que a causa da epilepsia não era decorrente de espíritos malignos, mas que esta estava ligada ao cérebro (ALI et.al., 2013; KARAKIS, 2019). Somente no século XIX após a dissociação da psiquiatria e neurologia e as contribuições de diversos pesquisadores como John Hughlings Jackson, fundador da neurologia moderna, é que a epilepsia foi considerada um distúrbio cerebral. Contudo, muitos anos se passaram sem tratamento pela dificuldade de diagnóstico devido a discordância de vários profissionais quanto as suas definições e classificações (FERNANDES, 2013, REKTOR et.al., 2013).

A epilepsia é definida atualmente como um distúrbio cerebral que se caracteriza pela predisposição persistente em gerar crises convulsivas. A definição prática da epilepsia está relacionada com a ocorrência de duas crises ou mais, não provocadas, em um intervalo superior a 24h entre elas, levando a diversas consequências neurobiológicas, cognitivas e psicossociais (ILAE, 2005, FISHER et al., 2014). Tais crises ocorrem através da atividade neuronal sincronizada e coletiva de uma determinada população de neurônios cerebrais.

Sabe-se que após um trauma há uma redução dos neurônios produtores de ácido γ -aminobutírico (GABA) e aumento da neurotransmissão glutamatérgica e isso altera o balanço entre a excitação e inibição neuronal levando a morte de neurônios, especialmente através do influxo excessivo de Na^+ e Ca^{2+} , estresse osmótico, produção de radicais livres que danificam as moléculas de DNA, ativação de proteases que levam à proteólise da célula, membranas e organelas, culminando em necrose celular e neuroinflamação (HENSHALL, 2007). Esse desbalanço é o mecanismo mais aceito para o entendimento da excitabilidade anormal no cérebro (PESTANA, 2009, BENARROCH, 2010, SILVEIRA et.al., 2012, GUERRIERO et.al., 2015).

Os traumas ou injúrias que induzem as crises recorrentes (CRE) e espontâneas são de diversas etiologias (FIGURA 1) classificadas como: estrutural (traumatismo craniano, acidente vascular cerebral e hipóxia), genética (hereditariedade e mutações), metabólica

(porfiria, uremia e aminoacidopatias), infecciosa (malária cerebral, tuberculose e citomegalovírus), imunológica (encefalites) e de causa desconhecida (causa indefinida ou indeterminada, idiopática). (LANCASTER & DALMAU, 2012, SCHEFFER et.al., 2017).

Tais crises geram consequências motoras, cognitivas, sociais, econômicas e de saúde, prejudicando a qualidade de vida dos indivíduos epiléticos, devido ao quadro clínico e limitações impostas. Estima-se que aproximadamente 0,5% a 1,0% da população mundial sejam afetadas pela epilepsia, sendo sua incidência de 61,4 por 10.000 habitantes por ano e a sua prevalência difere quanto à idade, gênero, fatores socioeconômicos e étnicos (FIEST et.al., 2017, BEGHI, 2020). Em países desenvolvidos aumenta conforme a idade e nos países em desenvolvimento seus picos são na adolescência e na fase adulta (CLÍNICO, 2014, FIEST et.al., 2017).

No Brasil, os estudos epidemiológicos atuais são escassos, mas supõe-se que a epilepsia atinja 2% a 4% da população brasileira, em sua maioria pessoas com baixa renda e idosos, correspondendo a aproximadamente três milhões de pessoas (GALLUCCE NETO & MARCHETTI, 2005, NOLASCO et.al., 2020). A prevalência e a incidência de epilepsia são maiores em homens comparados às mulheres e tendem a aumentar nos idosos, porque a frequência de acidente vascular cerebral, doenças neurodegenerativas e tumores atingem seu ápice nessa faixa etária (SANDER, 2003, BAUMGARTEN E CANCINO, 2016).

Outra condição comum na epilepsia é o *Status Epilepticus* (SE) ou estado do mal epilético (EME), onde os indivíduos epiléticos apresentam crises convulsivas repetidas e prolongadas em um período igual ou superior a 30 minutos que geram cerca de 20% de óbitos quando não interrompidas com medicamentos antiepiléticos, e isso resulta em outros episódios de crises contínuas e duradouras (GOMES et.al., 2018). Há relatos que 1% a 8% de pacientes com epilepsia apresentará, em algum momento do distúrbio, pelo menos um episódio de SE. Essas crises de SE causam em longo prazo, lesão neuronal e alteração das redes neuronais com neuroplasticidade anormal na estrutura hipocampal, dependendo do tipo e duração das crises (SEIFFERT et.al., 2019).

A classificação de crises epiléticas foi conceituada pela Liga Internacional Contra a Epilepsia, que considera as crises como focais, que se subdividem em simples ou complexas e crises generalizadas (FIGURA 1) (FISHER et. al., 2017). Sendo assim, a ELT pode ser considerada um problema de saúde pública e o diagnóstico preciso diante das classificações das crises é necessário para realização de um tratamento adequado e bem sucedido.

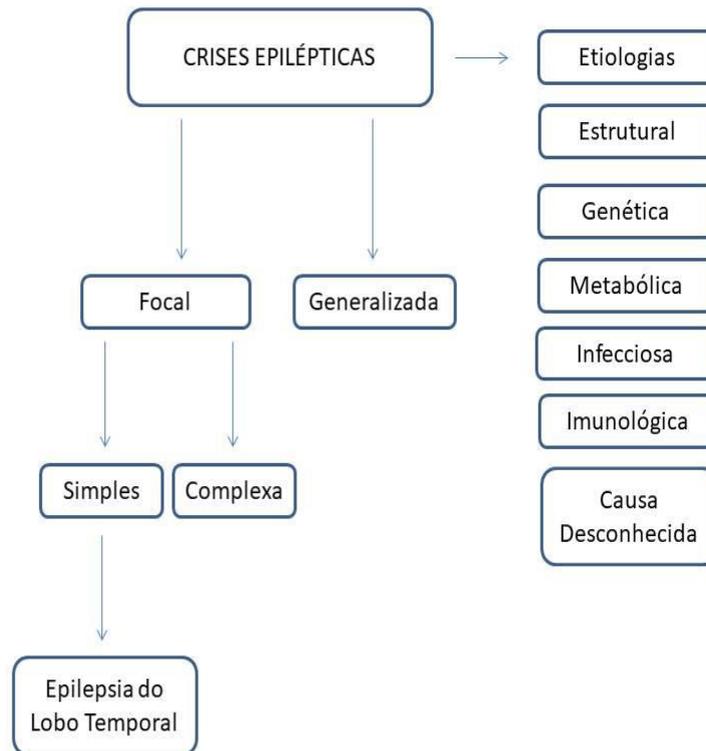


Figura 1. Classificação das crises epiléticas e suas etiologias

Fonte: autoral

2.2 Epilepsia do Lobo Temporal

A epilepsia do lobo temporal (ELT) é um tipo de epilepsia sintomática classificada como focal (FIGURA 1), pois apresenta atividade convulsiva em uma região restrita (estruturas do lobo temporal) que se propaga dentro e/ou fora desse lobo, através de redes neuronais altamente conectadas (GLOOR, 1982, DALIO, 2019). A ELT também se subdivide entre neocortical e mesial, sendo a epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM) a que apresenta a maior frequência e refratariedade ao tratamento medicamentoso, tornando esse distúrbio cerebral um grande problema de saúde pública. (BLÜMCKE et.al., 2013, ASADI-POOYA et.al., 2017, LIU et.al., 2018). A ELTM é comum em adultos e é caracterizada por sintomas psíquicos e/ou autonômicos, associados ou não a sintomas sensoriais ou olfativos. As crises incluem as estruturas do hipocampo, a amígdala, córtex, circunvolução parahipocampal e as estruturas mesiais circundantes (THOM, 2014). Esse subtipo apresenta uma porcentagem de 70% de pacientes apresentando esclerose hipocampal. O hipocampo é a estrutura mais comprometida pelo processo de neurodegeneração durante o SE, sendo que as áreas do

hipocampo mais afetadas são principalmente as células piramidais da região CA1 (Corno de ammon 1) e CA3 (Corno de Ammon 3) (Figura 2) e as células do hilo no giro denteado (GD) (PERSIKE et.al., 2018, ZHAO et.al., 2019).

Além de todas essas alterações anatomopatológicas a ELTM também leva a astrogliose, formações de tecido fibroso, brotamento de fibras musgosas, dispersão de células granulares e outras alterações fisiológicas envolvidas com as funções do lobo temporal (LAXER et.al., 2014).

O diagnóstico da ELT é baseado no estado clínico, nos antecedentes pessoais, familiares e exames clínicos neuronais para investigação de sua etiologia e região epileptogênica, sendo o EEG (eletroencefalograma) o mais utilizado na clínica (RACHID, 2017).

Um dos modelos de epilepsia mais estudados para induzir a ELT tem sido o modelo PILO descrito por Turski e colaboradores (1983), que se caracteriza em três fases: período agudo, latente e crônico. A partir desse modelo é possível mimetizar a síndrome da ELT em roedores, demonstrando a presença de lesões na região hipocampal ligadas com a esclerose hipocampal (CAVALHEIRO, 1995, CURIA et.al., 2008, REDDY E KURUBA, 2013).

A Pilocarpina é um alcalóide obtido das folhas da espécie *Pilocarpus jaborandi* que possui ação colinérgica em receptores muscarínicos, sendo utilizado na clínica para o tratamento de doenças oculares, mas quando administrado por via sistêmica em altas doses em roedores (~360 mg/kg) induz alterações estruturais e histopatológicas que culminam em crises epilépticas recorrentes e espontâneas (TURSKI et.al., 1983, CARVALHEIRO et.al., 1995, KIM E CHO, 2018). Os roedores mais utilizados em modelos de ELT são camundongos e ratos pelo baixo custo, praticidade de se criar em Biotérios especializados, e pelo conhecimento adquirido quanto às bases neuroanatômicas, neuroquímicas e comportamentais destes roedores (LOSCHER, 2011).

Atualmente muitos estudos estão buscando entender quais mecanismos ligados a neuroplasticidade, neuroinflamação e neurogênese, contribuem para a recorrência de crises e morte celular, porém apesar da vasta quantidade de estudos esses mecanismos ainda não estão definidos. Os estudos em animais demonstram que a agressão excitotóxica e a reação inflamatória causada pela indução do SE através da administração de PILO (Pilocarpina) em altas doses causa lesão celular imediata (BECKER, 2018, TERRONE et.al., 2020).

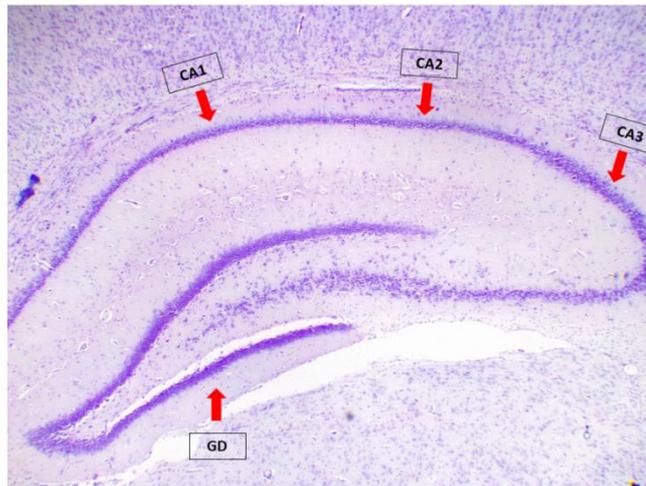


Figura 2. Corte histológico das áreas do hipocampo afetadas na ELT em ratos coradas com cresil violeta visível no microscópio óptico de 4x. **CA1.** Corno de Ammon 1. **CA2.** Corno de Ammon 2. **CA3.** Corno de Ammon 3. **GD.** Giro Denteado

Fonte: autoral

2.3 Eletroencefalograma

O Eletroencefalograma (EEG) é um exame baseado em eletrodos que captam a atividade elétrica cerebral (potenciais de ação) em regiões específicas, sobretudo do córtex dos neurônios e esses sinais são capturados e amplificados formando o registro elétrico. Esse exame torna possível a obtenção de informações cruciais para determinação de diferentes patologias neurológicas, entre elas a epilepsia (HARI E PARKKONEN, 2015, PATEL et.al., 2015).

Além de captar os sinais elétricos, o EEG permite visualizar os comportamentos anormais que caracterizam os diversos tipos de epilepsias e síndromes epiléticas, entretanto a atividade cerebral humana apresenta diversos padrões que resultam em sinais complexos de dados durante o período total do exame (NIEDERMEYER, 2003). Por isso, é necessário que esses dados sejam analisados de forma manual por um médico especialista porque a detecção dos sinais é complexa e o número de sinais elétricos é muito grande, consumindo bastante tempo para interpretação e análise dos dados para o diagnóstico (BENICZKY et.al., 2017).

Portanto, os sinais elétricos servem como marcadores biológicos e patológicos dos estados de repouso e atividade cerebral. Esses sinais são mensuráveis em diferentes frequências descritas como ondas elétricas de baixa frequência, sendo essas: delta (< 4 Hz), teta (4-8 Hz), alfa (8-13 Hz), beta low (13-25 Hz), beta high (25-30 Hz) e bandas de altas frequências: gama low (30-50 Hz) e gama high (50-100 Hz). Essas ondas elétricas são

avaliadas de acordo com a sua frequência, amplitude, distribuição, reatividade e repetição para identificação dos ritmos fisiológicos e padrões patológicos (MAGNI et.al., 2011; AL SAWAF, 2020).

Os primeiros registros da atividade elétrica vieram de Berger e Caton, em humanos e animais, respectivamente em 1875 e 1920, nesse tempo era utilizado galvanômetro como multiplicador dos sinais (DA MOTA GOMES, 2015). Hoje, com o avanço de tecnologia de computação e a criação de programas tornou possível o registro digital do EEG, permitindo assim análises quantitativas. Além disso, houve uma evolução de equipamentos, softwares e sensores que fazem o registro do EEG e com isso os estudos e aplicações tem sido usado nas mais diversas áreas da pesquisa como na saúde, neurociência, nas interfaces cérebro/corpo entre outros (REIF et.al., 2016; MONTENEGRO et.al., 2018).

Atualmente, o EEG tem se destacado através do monitoramento de substâncias fitoterápicas anticonvulsivantes no sistema nervoso central como efeito farmacológico através da análise comportamental e elétrica de roedores (KARIMZADEH et.al., 2012).

O uso desse exame faz-se necessário para a categorização e avaliação do padrão epileptiforme em modelos *in vivo*, como no de indução da epilepsia do lobo temporal em ratos, onde o EEG é utilizado para correlacionar o comportamento exibido pelo camundongo/rato ao perfil eletroencefalográfico adquirido, bem como o entendimento dos mecanismos potenciais de sincronia neuronal e assim avaliar o registro por completo através da gravidade do evento convulsivo, uma vez que esse modelo leva a alterações morfológicas e elétricas (GOMES, 2016).

2.4 Tratamento clínico

Após a descoberta do diagnóstico de epilepsia, o objetivo principal do tratamento da epilepsia é o controle/prevenção total das crises centrado na escolha correta dos fármacos antiepilépticos (FAES) tendo como base a sua efetividade e segurança (ABRAHAM E SHAJU, 2013). Os antiepilépticos se dividem em: de nova geração, de segunda geração e terceira geração. Antigamente, a escolha dos FAES era limitada aos fármacos de nova geração que incluem o fenobarbital, fenitoina, carbamazepina, valproato de sódio, etossuximida e alguns benzodiazepínicos. Entretanto, com o passar dos anos novos fármacos (fármacos de segunda geração e terceira geração) como levetiracetam, topiramato, zonisamida e eslicarbazepina foram aprovados devido à insuficiência no controle e prevenção total das crises e dos efeitos adversos desses fármacos proporcionando uma gama de opções terapêuticas para o controle das crises (ABRAHAM E SHAJU, 2013).

Hoje, o que se sabe é que apesar dessa grande variedade de opções terapêuticas, as drogas antiepiléticas são eficazes no controle das convulsões em 30% a 40% dos pacientes com epilepsia, sendo que 1/3 dos indivíduos ainda apresentam crises epiléticas refratárias a essas terapias medicamentosas (MENESES et.al., 2005, WIESER et.al., 2003, JAVIDAN et.al., 2012).

Os novos antiepiléticos não possuem eficácia superior aos de primeira geração e por isso, são apenas recomendados em primeira escolha em condições clínicas específicas e isso pode ser comprovado através do estudo feito por Monnerat e colaboradores (2013) ao estudarem 284 pacientes epiléticos eles observaram que o FAE (fármaco antiepilético) mais usado pelos pacientes era a carbamazepina (CBZ) (53,3%), seguido por fenitoína (PHT) (28,4%) e fenobarbital (PB) (13%). A carbamazepina é um anticonvulsivante amplamente utilizado pelos pacientes e seu efeito ocorre através da inibição dos canais de sódio e cálcio controlados. A fenitoína é considerada como o primeiro fármaco não sedativo da classe de anticonvulsivantes. Ele age na excitabilidade da membrana com ação sobre os canais de sódio semelhante à carbamazepina (AUVIN, 2014).

Já o Fenobarbital foi um dos primeiros barbitúricos a ser lançado, causa sedação, possui baixo custo e é muito eficaz no controle das Crises. Seu efeito é na inibição neuronal em decorrência do aumento da neurotransmissão gabaérgica. Uma das falhas ao tratamento da síndrome epilética com FAES existentes são os efeitos adversos em até 40% dos pacientes, tais efeitos causam prejuízo na qualidade de vida desses pacientes. É verdade que ao longo dos anos esses medicamentos foram melhorados para reduzir o risco de toxicidade através de técnicas utilizadas para quantificar esses efeitos, ainda assim muitos efeitos permanecem prejudicando a saúde dos pacientes (EL DIBE et.al., 2017, AUVIN, 2014).

Quando as crises não são controláveis, é preferível manter o doente sem efeitos secundários do que doses elevadas de medicamentos (FERNANDES, 2016).

2.5 Gênero *Passiflora*

O gênero *Passiflora* L. foi descoberto pelo espanhol Cieza de León que nomeou a primeira espécie de *Passiflora* como "granadilla", sendo posteriormente alterado para *Passiflora* L. por Linneaus, em 1753 (BERNACCI et.al., 2008). Os primeiros descobridores de espécies pertencentes a essa família atribuíram a elas um aspecto religioso relacionado com suas estruturas e aspectos morfológicos como suas folhas, flores e ramos, comparando tais estruturas com a crucificação de Cristo e foi a partir dessas características que surgiu o nome

botânico com significado: “passio” o equivalente a paixão e “flosoris” o equivalente a flor (BERNACCI et.al., 2008). No Brasil são conhecidos popularmente como Maracujás, significando alimento na cuia, nome atribuído pelos povos indígenas (JUNIOR E BERNARDES, 2015).

O gênero *Passiflora* L. é o maior em número de espécies da família Passifloraceae com 513 espécies mundialmente descritas (BERNACCI et.al., 2012). As espécies desse gênero estão presentes em climas tropicais e subtropicais, sendo amplamente distribuídas geograficamente por toda a América Latina, África, Ásia, Oceania, América do Norte, América Central e principalmente América do Sul (MACDOUGALL et al., 2018). No Brasil ocorrem 141 espécies, onde 82 espécies são endêmicas do nosso território nacional, sendo o estado do Amazonas o que detém a maior diversidade de espécies (CERVI E LINSIGEN, 2010).

Esse gênero é formado por plantas trepadeiras herbáceas ou lenhosas frutíferas e a sua grande característica está na variabilidade de folhas e flores. As flores possuem colorações variadas e são ricas em néctar, o que a torna bastante atrativa para os mais diversos polinizadores (SOUZA E LORENZI, 2008). Tais características morfológicas revelam um grande potencial ornamental e ecológico do gênero.

O Brasil é o maior produtor e consumidor de maracujá do mundo segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018), podendo até dizer que a fruta é “essencialmente brasileira”, demonstrando assim sua grande importância social e econômica (FALEIRO E JUNQUEIRA, 2016).

Outro grande potencial desse gênero está ligado ao seu uso popular medicinal para efeitos sedativos, diuréticos, ansiolíticos e analgésicos (LOPES et.al., 2017). O perfil fitoquímico das espécies desse gênero é composto por: fenóis, glicosídeos cianogênicos, alcalóides e flavonóides. Esses compostos podem estar relacionados aos seus efeitos farmacológicos na atividade anti-inflamatória, anti-ulcera, antihiperlipidêmico, antioxidante, analgésica, antinoceptiva e antipasmódica. Sendo as suas concentrações de fenóis e flavonóides variando de acordo com a espécie (BRANDÃO et.al., 2017). À vista disso, tais propriedades benéficas então associadas aos seus frutos e folhas, que são utilizadas para as mais diversas finalidades fitoterápicas, principalmente para problemas relacionados ao sistema nervoso (MONTERO et.al., 2013).

Apesar do alto potencial do gênero para vários fins, as espécies desse gênero têm sido usadas quase que exclusivamente para fins medicinais e alimentícios, sendo as espécies *P. edulis* Sims, *P. cincinnata* Mast e *P. alata* Curtis as mais cultivadas para esses propósitos (FAUSTINO et.al., 2010, MELETTI et.al., 2011, OLIVEIRA, 2017).

Para atividade anti-inflamatória foram descritas na literatura a espécie *P. incarnata* (TORCHI et.al., 2014), *P. edulis* (MONTANHER et.al., 2007, MATONDO et.al., 2020), *P. alata* (VARGAS et.al., 2007; NARAIN et.al., 2019) e *P. foetina* (PARK et.al., 2018). A atividade antipasmódica, antioxidante, antitumoral, antidiabética, analgésica por sua vez, foi comprovada para a *P. edulis* (SILVA et.al., 2012, MOTA et.al., 2018, SALLES et.al., 2020).

A espécie *P. incarnata* possui também efeitos sedativos significativos, antinociceptivos, anticonvulsivos, antioxidantes e depressores do SNC (DHAWAN et.al., 2004; ELSAS et.al., 2010; KHAN E NABAVI, 2019). A espécie *P. tenuifila* também apresentou efeito anticonvulsivo, hipnótico, sedativo e ansiolítico em um estudo realizado em ratos Wistar (HOLANDA et.al., 2020). Os extratos de folhas de *P. nitida* e caule de *P. palmeri* foram caracterizados com atividade antioxidante e antimicrobiana que se correlaciona com o alto conteúdo de catequina e odifenol (HAMEED et.al., 2017).

Vários tipos de preparações, extratos e substâncias isoladas derivados dessas espécies são encontrados na literatura com intuitos variados, incluindo fins farmacológicos com efeitos em vários órgãos, como cérebro, sangue, sistemas cardiovascular e nervoso, bem como diferentes processos bioquímicos e fisiológicos.

O gênero *Passiflora* está incluso na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse no SUS (RENISUS) desde 2010, demonstrando que as plantas medicinais desse gênero possuem produtos de interesse quanto ao desenvolvimento de novos fitoterápicos para uso da população, garantindo segurança e eficácia no tratamento de algumas doenças. No comércio já é possível encontrar diversos compostos farmacêuticos na forma de comprimidos, cápsulas, soluções orais, entre outras de maracujá (*Passiflora* sp) isolado ou associado a outros fitoterápicos.

2.6 Passiflora nitida Kunth

A espécie *Passiflora nitida* Kunth pertence ao gênero *Passiflora* L. e é considerada uma espécie de maracujazeiro silvestre (Figura 3 e 4) que cresce naturalmente na vegetação secundária e na beira de rios e estradas. Seu fruto é comestível, com sabor exótico, boa receptividade para consumo e comercializado em feiras, mercados, sacolões, quitandas e por vendedores ambulantes (DE OLIVEIRA E RUDDIERO, 2005, COELHO et.al., 2016).



Figura 3. Exsicata da espécie *Passiflora nitida* com suas folhas e flores coletadas na

Fonte: Herbário virtual Re flora



Figura 4. Flor e Fruto da espécie *P. nitida* Kunth

Fonte: Re flora 2020

Está distribuída nacionalmente, na região norte da América do Sul, principalmente na Amazônia, mas também encontrada no Piauí, Mato Grosso, Tocantins, Goiás, Bahia, Minas Gerais, Distrito Federal e no Cerrado (DE OLIVEIRA COHEN et.al., 2014).

É popularmente conhecida como “maracujá-do-mato”, “maracujá suspiro” “maracujá-de-cheiro” e “maracujá-de-rato”. A espécie está agrupada no grupo de maracujás doces e é usada na medicina tradicional para o tratamento de patologias gastrointestinais e antimicrobianas (MORAES et.al., 2002, CARVALHO et.al., 2010, GRISI et.al., 2019).

É uma espécie que pode ser herbácea ou lenhosa de folhas de superfície cartáceas a coriáceas, opacas e envernizadas. Apresentam nervuras terciárias percurrentes, folhas retas e oblíquas e o pecíolo recurvado. Suas nervuras secundárias apresentam glândulas terminais um pouco proeminentes. As margens são levemente dentadas e a planta cresce naturalmente e em vegetação secundária, beira de rios e estradas (MORAES et.al., 2002, JUNQUEIRA et.al., 2007).

A morfologia dos seus frutos está relacionada com coloração amarelo-alaranjada na parte externa e esponjosa, branca e espessa na parte interna, sendo geralmente consumidos in natura pela população. (OLIVEIRA et.al., 2005; DE OLIVEIRACOHEN et.al., 2014;). Quanto à morfologia das flores estas são lilás, solitárias, grandes, coronadas, possuem um tubo de cálice campanulado, sépalas carnosas e pétalas membranáceas, filamentos em seis séries, anel nectarífero, androginóforo, ovário obovado ou globoso, filetes, estiletos e botões florais (FLORA DO BRASIL, 2020).

As propriedades farmacológicas e os constituintes fitoquímicos, bem como os estudos biotecnológicos da *Passiflora nitida* Kunth estão em constante crescimento. Bendini e colaboradores em 2005 descreveram em seu artigo que o extrato metanólico das folhas de *Passiflora nitida* possuía atividade antioxidante e antimicrobiana contra *E. coli* e que isso está relacionado com os teores de seus constituintes fitoquímicos presentes nas folhas da espécie.

Wasick em 2007 descreveu em sua dissertação de mestrado uma atividade antiúlcera contra lesão gástrica em ratos do extrato hidroetanólico liofilizado de *Passiflora nitida*.

Carvalho e colaboradores em 2008 e 2010 descreveram o perfil fitoquímico, a atividade farmacológica e toxicológica do extrato das folhas do Maracujá-do-Mato, coletado na Amazônia, em sua tese de Doutorado e artigo. O perfil fitoquímico apresentou os seguintes constituintes presentes no extrato das folhas de *Passiflora nitida*: flavonóides (flavononas, flavonas, agliconas e flavonóis), cumarinas, esteroides, fenóis, heterosídeos cianogênicos, glicosídeos cardioativos, leucoantocianidinas, saponinas, taninos e xantonas. Quanto a sua atividade farmacológica o extrato de passiflora apresentou atividade anticoagulante, antiagregante plaquetária, atividade anti-inflamatória em edema de pata e atividade antinociceptiva nos estímulos da dor.

Oliveira 2011 em sua dissertação de mestrado descreveu que o extrato aquoso macerado das folhas de *Passiflora nitida* Kunth possui atividade antioxidante e inibidora de melanogênese por possuir um maior teor de fenóis em sua composição.

Montefusco-Pereira 2013 descreve em seu artigo que o extrato hidroetanólico das folhas de *Passiflora nitida* resultou em um controle da glicemia de animais diabéticos,

diminuindo o colesterol e apresentando atividades hipoglicêmicas e antioxidantes demonstrando que a espécie possui um potencial para inibição de síndromes metabólicas.

Teixeira 2014 também cita em seu artigo que o extrato hidroetanólico de *Passiflora nitida* possui atividade no metabolismo, prevenindo a hipertrigliceridemia em ratos com dieta hipercalórica devido a redução da absorção de lipídios e inibição de lipase pancreática.

De Vargas e colaboradores em 2016 também corrobora com outros autores sobre a atividade antioxidante do extrato da passiflora pela presença de fenóis em sua composição.

Em um screening farmacológico realizado pelo nosso grupo no Laboratório de Farmacologia o extrato de *Passiflora nitida Kunth* apresentou ação no sistema nervoso central através do efeito ansiolítico, hipnótico no teste de indução do sono por barbitúrico e efeito anti-inflamatório tópico em edema de orelha (dados não publicados).

Então, assim como outras espécies desse gênero que possuem propriedades promissoras no uso terapêutico, a *Passiflora nitida* Kunth possui constituintes ativos com potencialidades para fins terapêuticos e contribuem, portanto, para a validação do uso popular do gênero *Passiflora L.* Entretanto, os mecanismos exatos das atividades terapêuticas dos extratos da *P. nitida* ainda são desconhecidos, devendo estes estudos ser acrescidos de fracionamento, isolamento e testes farmacológicos adicionais, visando à obtenção de princípios ativos e elucidação dos mecanismos de ação, a fim de garantir o uso seguro pela população.

2. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação antiepiléptica e neuroprotetora do extrato de *Passiflora nitida* em modelo agudo de epilepsia do Lobo Temporal por administração de Pilocarpina.

3.2 Objetivos Específicos

- Verificar as alterações comportamentais e eletroencefalográficas em animais submetidos ao “status epilepticus” por administração sistêmica de pilocarpina analisando o efeito antiepiléptico do tratamento com extrato de *Passiflora nitida*.
- Avaliar por histologia o efeito neuroprotetor do extrato de *Passiflora nitida* através da contagem de neurônios íntegros no hipocampo dos animais submetidos ao “status epilepticus”.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Drogas e Reagentes

Sulfato de atropina 4mg/kg; Pilocarpina 250mg/kg; Fenobarbital® (solução oral) 100mg/kg; Extrato Hidroetanólico de *Passiflora nitida* 200mg/kg solubilizado em solução salina 0,9%; solução salina 0,9%, Cetamina 100mg/kg, Xilaxina 10mg/kg, Hidrato de Cloral 500mg/kg, álcool 90%, água oxigenada (40%), acrílico autopolimerizante; Solução tampão fosfato; Solução de formol 4%, água destilada; álcool 70%; álcool absoluto; parafina; xilol; cresil violeta, bálsamo do Canadá, solução de álcool etílico em várias concentrações.

3.2 Substância Teste

O extrato hidroetanólico (EHE) de *Passiflora nitida* foi fornecido pelo professor Dr. Emerson Silva Lima da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), colaborador deste projeto. O extrato foi extraído das folhas de *Passiflora nitida* que foram coletadas na Reserva Duque. As folhas foram secas e o extrato de *P. nitida* foi obtido pelo método de maceração estática com 1000 mililitros de solução álcool etílico e água, em temperatura ambiente, por um período de sete dias. Após a filtração, o solvente do extrato foi liofilizado gerando o extrato bruto da planta. A diluição do extrato em solução salina 0,9% foi a estipulada para proporcionar uma solução homogênea, sem grumos de resíduos, material em suspensão ou sedimentado. A dose utilizada de 200mg/kg (Figura 5) foi determinada em experimento prévio, onde esta dose reverteu o comportamento convulsivo eliciado por administração de pilocarpina em camundongos.

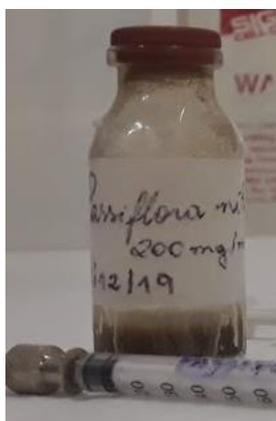


Figura 5. Extrato hidroetanólico de *P. nitida* Kunth

Fonte: autoral

4.3 Animais experimentais

Foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 230-250g, com 30 dias de vida, criados no Biotério Central do Instituto Butantan e experimentados nas dependências do Laboratório de Farmacologia do Sistema Nervoso Central do mesmo Instituto. Foi utilizado um total de 30 ratos, sendo 10 animais por grupo devido à porcentagem de óbitos que o modelo de indução do *status epilepticus* (SE) apresenta (40% em média). Durante todo o período experimental os animais foram mantidos em condições controladas de temperatura ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$), iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas) e ração e água ad libitum. Os protocolos foram realizados sempre no período da manhã para evitar variações circadianas. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e supervisionados pela equipe de veterinários vinculados a CEUA/IB. Certificado do projeto na CEUA/IB de nº 4304060919 (ID 001898).

4.4 Procedimento Cirúrgico para Implantação de Eletrodos

Os animais foram anestesiados com solução de Cetamina 100mg/kg e Xilasina 10mg/kg por via ip e Hidrato de Cloral 500mg/kg ip nas doses de 0,5 ml cada. Após a fixação da cabeça do animal em aparelho estereotáxico, o tecido subcutâneo foi aberto através de incisão longitudinal medial, seguida de remoção do perióstio, lixamento da superfície óssea, perfuração da diplo e craniana e implantação de eletrodos bipolares na região CA1 do hipocampo dorsal cujas coordenadas foram determinadas anteriormente pelo Atlas Estereotáxico de Paxinos, Watson (1982) (ântero-posterior $-4,8\text{mm}$; médio-lateral $3,5\text{mm}$ e dorso-ventral $3,5\text{mm}$ para o eletrodo bipolar, a partir do bregma). O sistema foi fixado por parafusos presos à caixa craniana e polímero de acrílico + acrílico autopolimerizante. A pele foi suturada e o eletrodo ficou exposto (Figura 6). O eletrodo permaneceu ligado a um micro conector de 5 saídas. Após a cirurgia os animais permaneceram alojados individualmente por 3 a 5 dias antes da indução do SE.

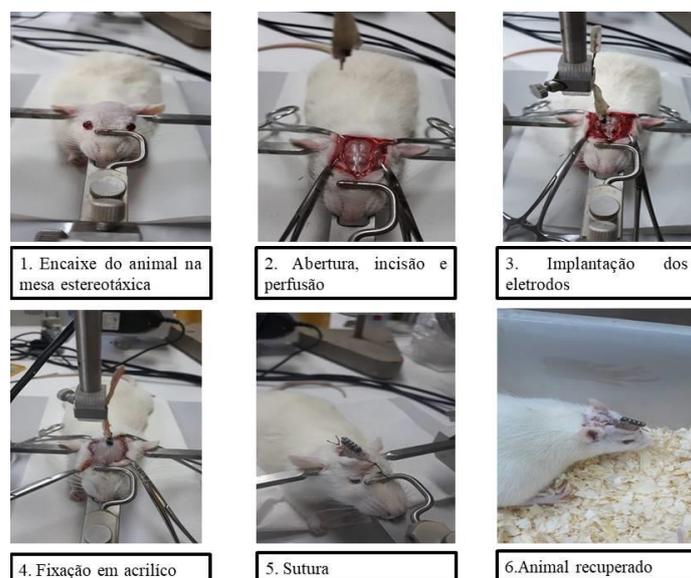


Figura 6. Esquema do processo cirúrgico e pós-cirúrgico de um animal experimental

Fonte: autoral

4.5 Modelo Experimental para indução da epilepsia

Os ratos foram pesados e separados em 3 grupos para indução do SE. Todos os animais receberam inicialmente um pré-tratamento com sulfato de atropina (4mg/kg ip), para minimizar os efeitos periféricos causados pela pilocarpina, 30 minutos antes da pilocarpina e depois receberam uma dose única de (250mg/kg ip) de pilocarpina. Após a administração de Pilocarpina os animais foram colocados em caixas de vidro e as crises convulsivas foram avaliadas pela escala de Racine (1972). Na escala de Racine considera-se **classe I**= automatismo orofacial e hipoatividade; **classe II**= “wet dog shake” e tremor corporal; **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 fisiopatológicas da ELT só são observáveis após os animais alcançarem este score de convulsão, sendo que convulsões mais brandas não deflagram a ELT.

4.6 Tratamentos

Após 30 minutos do primeiro evento convulsivo os 3 grupos receberam os diferentes tratamentos citados a seguir:

1- Controle: solução salina 0,9%, v.o.

2- Controle positivo: Fenobarbital 100mg/Kg v.o

3-Tratamento: Extrato hidroetanólico de *Passiflora nitida* 200mg/kg, v.o

Após a administração dos tratamentos citados acima, os ratos foram conectados ao Biopac através de cabo ligados ao microconector no cérebro dos animais para o registro da atividade elétrica cerebral e observados quanto às alterações comportamentais e sintomas convulsivos por 4 horas.

4.7 Registro da Atividade Elétrica Cerebral

Os animais foram colocados nas caixas de vidro isoladas em uma gaiola de Faraday (Figura 7) por 20 min antes de qualquer manipulação para se acostumarem ao novo ambiente. Em seguida foram submetidos ao registro eletroencefalográfico prévio (15 min antes das administrações) para os parâmetros eletroencefalográficos basais, e por um período de 4 horas seguidas após a administração da Pilocarpina (v.ip.) e dos tratamentos (v.o). O conector foi ligado ao computador por um cabo flexível e o sinal foi decodificado e registrado pelo sistema Biopac de aquisição.

Foram gravados os registros das 4 horas de atividade elétrica cerebral com concomitante observação comportamental para então quantificar os parâmetros espículas, descargas moderadas e descargas intensas, considerados como atividade eletrográfica epileptiforme e foram analisados nos tempos inicial, parcial e total de registro.



Figura 7. Gaiola Faraday e Sistema Biopac

Fonte: autoral

4.8 Eutanásia e Perfusão

Para eutanásia os animais foram colocados em uma câmara de CO₂ e perfundidos através da abertura do tórax para expor o coração. O ventrículo esquerdo foi puncionado e conectado a uma bomba de perfusão com solução tampão fosfato primeiro, depois foi conectado a outra bomba com solução de formol a 4% (Figura 8). Os animais foram então decapitados e seus cérebros removidos e colocados em formol por uma semana sob-refrigeração.



Figura 8. Bombas de Perfusão para trocas de formol e tampão fosfato

Fonte: autoral

4.9 Processamento histológico do tecido

Os cérebros foram desidratados e emblocados no Laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan através de trocas de álcool absoluto, xilol e por fim parafina. Os blocos então foram trazidos para o laboratório de Histologia da UFAM, sob responsabilidade do Prof. Dr. José Fernando Marques Barcellos, para realização dos cortes coronais de 10 micrômetros em micrótomo. As amostras de tecido foram então fixadas em lâminas e ficaram na estufa a 60°C por tempo suficiente para remoção de parafina residual nas lâminas.

4.10 Processo de coloração com Cresil Violeta

Após a remoção de parafina das lâminas, estas passaram pela bateria de coloração primeiramente padronizada no Laboratório de Farmacologia do Sistema Nervoso Central do Instituto Butantan em São Paulo, no ano de 1995 e posteriormente adaptada pelo laboratório de Farmacologia da UFAM. A coloração seguiu esse protocolo: 1- Xilol I por 5 minutos, 2-

Xilol II por 5 minutos, 3- álcool absoluto por 5 minutos, 4- álcool 70% por 5 minutos, 5- água corrente, 6- Cresil violeta por 15 minutos, 7- água corrente, 8- álcool 70%, 9- álcool absoluto, 10- xilol I 1 minuto e 11- xilol II por 1 minuto (Figura 9). Posteriormente, adicionou-se na superfície da lâmina bálamo do Canadá e foram colocadas lamínulas sobre os cortes. Foi realizada a retirada do excesso do bálamo das lâminas utilizando lâmina de bisturi e limpas com solução álcool/éter 50% sendo em seguida organizadas e guardadas para que pudessem ser analisadas.



Figura 9. Lâminas coradas com cresil violeta

Fonte: autoral

4.11 Contagem de neurônios íntegros

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico com aumento de 4x, 10x e 40x e com o auxílio de um retículo de $10\mu\text{m}^2$ foram contados os neurônios que apresentavam nucléolo íntegro, no campo delimitado pelo retículo nas regiões CA1, CA3 e GD do hipocampo dorsal. Foram avaliadas 4 quatro lâminas por animal no aumento de 40x para contagem e análise estatística.

4. RESULTADOS

Entre três e cinco dias após a cirurgia de implantação de eletrodos (descrito no item 4 da metodologia), os ratos estavam saudáveis e recuperados da cirurgia. Então foram pesados, conectados ao sistema de registro por 15 min (registro prévio basal), em seguida foram tratados com atropina (4mg/kg) e após 30 minutos foram induzidos ao SE por administração de 250mg/kg de pilocarpina, continuamente conectados a um sistema de registro eletroencefalográfico (EEG) Biopac. Trinta minutos após o primeiro evento convulsivo os animais receberam os diferentes tratamentos (solução salina, fenobarbital e o extrato de *Passiflora*) e por 4 horas consecutivas após a administração da pilocarpina avaliamos o comportamento geral dos animais, alterações no EEG e a o escore de convulsão destes. Todos os animais apresentaram escore entre 3 e 4, necessário para gerar lesão neuronal sem provocar mortalidade. A redução de 300mg/kg para 250mg/kg de pilocarpina foi essencial, pois proporcionou um escore convulsivo mais brando, porém dentro dos parâmetros de SE capaz de gerar alterações eletroencefalográficas e amena lesão neuronal, porém diminuindo o sofrimento dos animais bem como a incidência de óbitos. Ao finalizar o registro os animais foram transferidos para suas caixas e os demais procedimentos foram realizados (itens de 4.8-4.11) para obtenção dos resultados a seguir. Os procedimentos foram acompanhados pela equipe de veterinários do Instituto Butantan, vinculados a CEUA e ao Biotério do Instituto, para verificação do estado dos animais pré e pós-cirúrgico e do escore convulsivo destes.

5.1 Estudo Comportamental

Os animais em teste foram divididos em três grupos: Salina, Fenobarbital e *Passiflora* onde cada grupo foi composto por 6 animais (número de animais que sobreviveram a cirurgia de implantação de eletrodos), estes foram induzidos ao SE por administração de Pilocarpina e avaliados de acordo com a intensidade das crises. No período médio de 2 minutos surgiram os primeiros eventos pré-convulsivos como: imobilidade, automatismos faciais, mioclonia de face e movimentos mastigatórios (score 1-2). A partir dos 5 minutos os eventos se intensificaram, apresentando clonias de patas anteriores, posteriores e elevações (score 3-4). Essas alterações motoras contínuas foram registradas e descritas na tabela 1 de acordo com os eventos de cada grupo antes do tratamento, durante a primeira hora do tratamento e registro final do tratamento.

Tabela 1. Registro de alterações motoras contínuas em resposta aos tratamentos de Salina, Fenobarbital e *Passiflora* de acordo com a escala de Racine de 1985.

Grupos	Antes do tratamento	Primeira Hora	Quarta hora
Salina	Mioclonia, Clonia de ambas as patas, movimento mastigatório, tremor, pulo, cavando e agitação	Mioclonia, Clonia de ambas as patas, movimento mastigatório, tremor, pulo e cavando e agitação	Mioclonia, Clonia de ambas as patas, movimento mastigatório, tremor, pulo e cavando
Fenobarbital	Mioclonia, Clonia de ambas as patas, movimento mastigatório, tremor e girando	Letárgicos, desequilibrados, movimento mastigatório, tremor e deitados de lado	Miclonia fraca, movimento de cabeça, pulos esporádicos, movimento mastigatório menor
Passiflora	Mioclonia, Clonia de ambas as patas, movimento mastigatório, tremor, pulo e tremor corporal	Movimento mastigatório e mioclonia de menor intensidade em intervalos espaçados e de menor duração	Miclonia fraca, movimento de cabeça, pulos esporádicos

Todos os grupos apresentaram eventos convulsivos de score 3 e 4 antes do tratamento, mas quando comparamos as alterações motoras do grupo salina com os demais grupos é possível perceber que seus eventos foram iguais do início ao fim demonstrando um maior período de crises convulsivas persistentes.

O grupo tratado com Fenobarbital antes do tratamento mostrou-se igual ao grupo salina, mas na primeira hora do tratamento demonstrou menos agitação, um período de letargia e sedação, apresentando na última hora de registro uma severidade menor das crises, quando comparado ao grupo salina.

Os animais do grupo tratado com o extrato de *Passiflora* apresentaram na primeira hora de registro eventos convulsivos semelhantes aos dos demais grupos, porém, nas primeiras horas após o tratamento apresentou eventos de menor severidade, com intervalos maiores entre um evento e outro e no final do registro o grupo *Passiflora* demonstrou um melhor controle da crise, com comportamentos mais equilibrados e próximos da normalidade. O grupo tratado com *Passiflora* apresentou comportamento ativo diferindo do grupo tratado com Fenobarbital, que apresentaram sedação e letargia.

5.2 Alterações Eletroencefalográficas

Como foi demonstrado na tabela 1 os animais apresentaram alterações comportamentais, sendo estas acompanhadas por alterações elétricas observadas pelo traçado eletroencefalográfico do córtex e hipocampo. Conforme o traçado eletroencefalográfico se modifica o comportamento do animal é influenciado, sendo possível a detecção do estabelecimento do SE induzido pela pilocarpina. A princípio, o registro a ser observado é o estado basal demonstrado na Figura 10 onde visualizamos o registro prévio com traçado eletroencefalográfico do córtex e hipocampo com amplitude e frequência sem alteração nos animais, confirmando que o eletroencefalograma de um animal sadio e com a cirurgia de implantação de eletrodo realizada de maneira correta, não apresenta alterações elétricas no córtex e hipocampo no período antes da indução do SE.

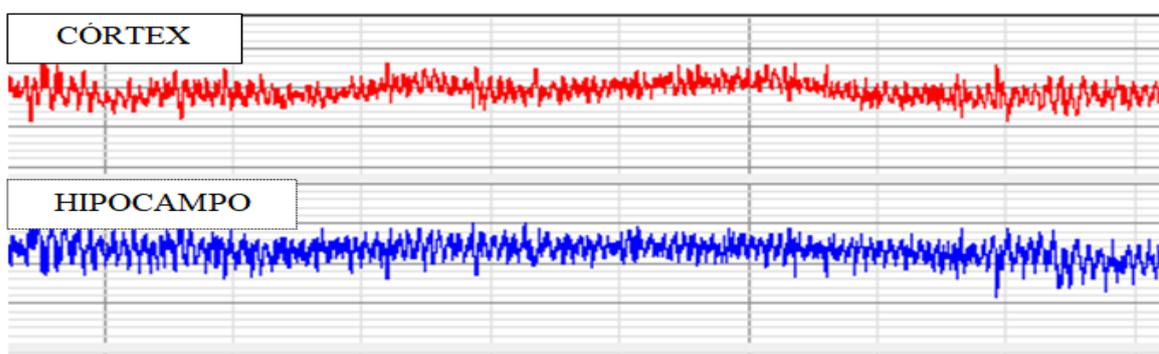


Figura 10. Representação de registro prévio de um animal antes da indução do SE sem alteração epileptiformes.

O indutor do SE (pilocarpina) é administrado no animal e com uma média de 2 minutos o animal começa a apresentar alterações motoras de score 1 (automatismo orofacial e hipoatividade) conforme a escala de Racine de 1972. O tempo passa e os comportamentos referentes ao score 2 a 4 começam a se manifestar caracterizando o modelo agudo da ELT em ratos. Com isso o registro eletroencefalográfico também se modifica através do aparecimento de descargas com ondas discretas de baixa amplitude de origem hipocampal que se espalham

para o córtex. Essa descarga torna-se progressiva, rítmica e contínua até culminar no SE (Figura 11,12 e 13) como resultados da alteração elétrica do hipocampo e córtex há eventos convulsivos de maior duração e frequência. Quando não interrompidas, essas descargas elétricas de longa duração podem evoluir para um estado de tônus generalizado, levando o animal ao óbito. Em nosso estudo nenhum animal veio a óbito durante a indução do SE por pilocarpina na dose de 250 mg/kg.

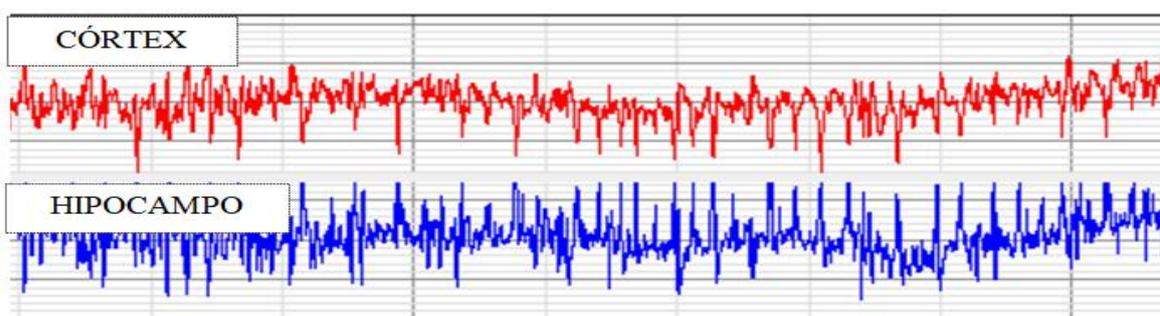


Figura 11. Representação de registro de um animal apresentando espículas agrupadas de pequena amplitude.

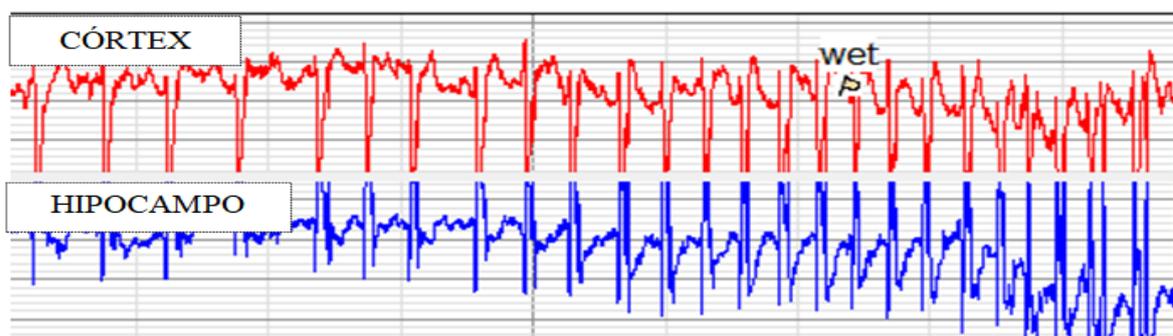


Figura 12. Representação de registro de um animal com espículas agrupadas de grande amplitude

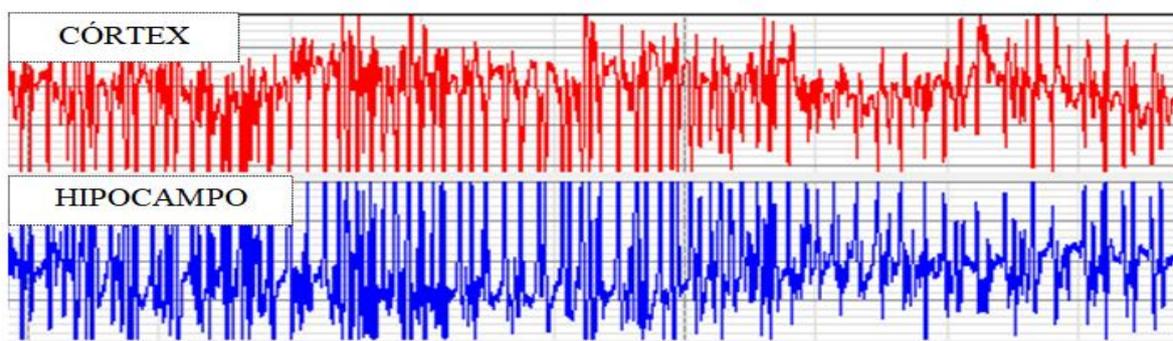


Figura 13. Representação de Registro de um animal apresentando descarga intensa.

Após a administração dos tratamentos (fenobarbital e o extrato) os animais tendem a apresentar menos episódios de espículas agrupadas e descargas de menor intensidade com tendência a se normalizar, assim como sinais comportamentais de recuperação (Figura 14 e 15) tendendo ao estado de reversão das convulsões.

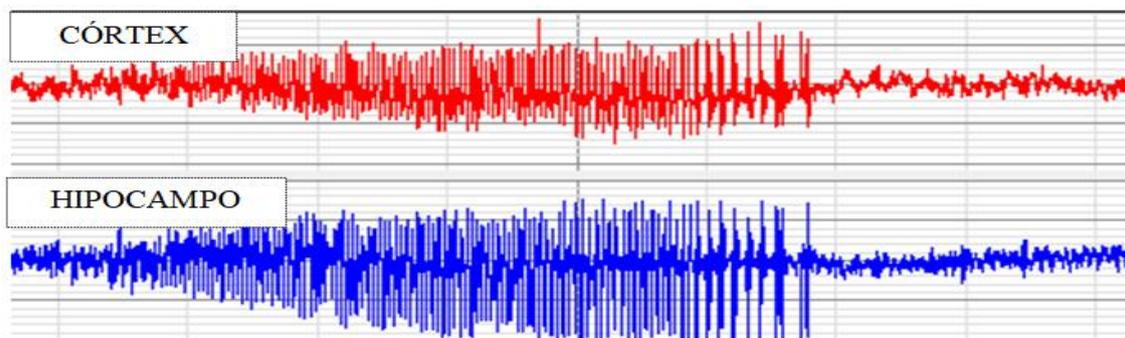


Figura 14. Representação de registro de animal com descargas moderadas.

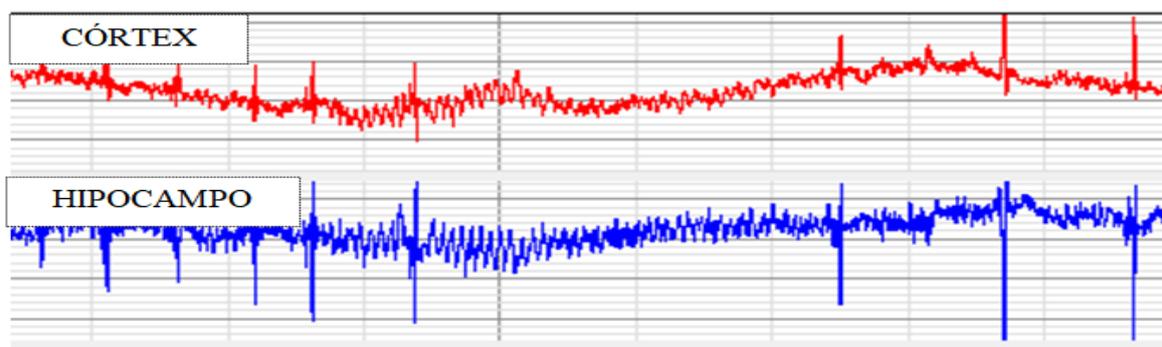


Figura 15. Representação de registro de animal com espículas isoladas.

O tempo total das alterações elétricas de cada animal foi computado e a média de cada grupo foi representada na Figura 15 (ANOVA de múltiplas comparações seguida de teste de Tukey).

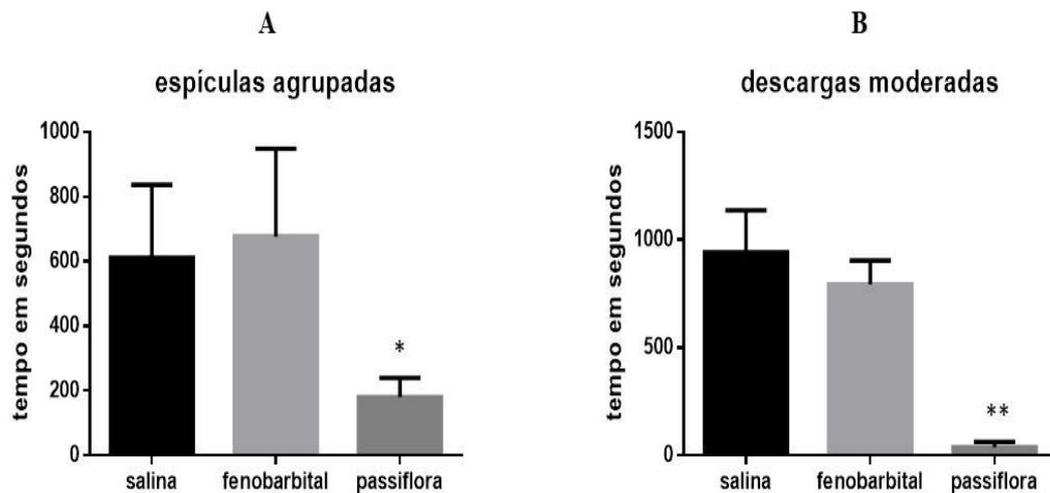


Figura 16. Média \pm DPM do Tempo total das alterações eletrográficas em quatro horas de registro: **A.** Espículas agrupadas no córtex e/ou hipocampo; **B.** Descargas moderadas em córtex e/ou hipocampo. ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer com * $p < 0,05$ ** $p < 0,001$ em relação ao grupo controle.

Os dados demonstrados na Figura 16 não notificam as descargas intensas, pois somente dois animais apresentaram descargas intensas com um tempo médio de 86 segundos e um número de episódios inferiores a 4 nessa condição. Isso está de acordo com a bioética estabelecida pela CEUA do Instituto Butantan, e como resultado positivo não obtivemos nenhum óbito por convulsão severa.

Na Figura 16 A os animais tratados com Salina continuaram apresentando alterações que resultaram em espículas agrupadas de grande amplitude demonstrando que não houve mudanças significativas de resolução da convulsão neste tratamento. Este mesmo grupo apresentou descargas intensas e agrupadas após a administração de solução salina e mantiveram os comportamentos convulsivos do início ao fim do registro. O grupo tratado com Fenobarbital apresentou uma depressão transitória (comportamento letárgico e sedação) no EEG com alguns eventos convulsivos de menor frequência após a administração do antiepilético, mas ainda assim permaneceu apresentando alterações elétricas com tempo total semelhante ao grupo controle, porém de menor amplitude e com comportamento convulsivo abrandado. Observando o grupo tratado com o extrato de *Passiflora* e comparando com os demais grupos, este apresentou uma diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao controle no tempo total de espículas agrupadas, apresentando alterações mais brandas no fim do registro. Sendo assim, o grupo *Passiflora* apresentou uma menor severidade dos episódios

convulsivos, sendo estes mais brandos e espaçados com uma menor alteração elétrica no registro após o tratamento.

Na Figura 16 B o grupo Salina apresentou descargas moderadas em um período maior, pois manteve o comportamento convulsivo até o fim do registro. O grupo de animais tratados com fenobarbital apresentou descargas moderadas por um menor período que o grupo salina, porém sem diferença significativa. O grupo *Passiflora* apresentou um tempo total de descargas moderadas bem menor que o grupo salina e fenobarbital, apresentando o EEG com menor tempo total de alterações elétricas, com uma diferença significativa de $p < 0,001$ em comparação ao grupo controle. Esses resultados demonstram que o extrato de *Passiflora* controlou as crises convulsivas tanto no componente de registro elétrico quanto nos eventos comportamentais, em modelo de indução de SE por administração de pilocarpina em ratos Wistar. Os dados obtidos com o Fenobarbital são condizentes com o descrito em parte da literatura, bem como na clínica, pois indivíduos epilépticos continuam apresentando alterações eletrográficas mesmo sob tratamento com esse fármaco.

5.3 Avaliação da lesão neuronal por histologia

As amostras de tecido cerebral foram coletadas, processadas, emblocadas e coradas com cresil violeta para contagem dos neurônios íntegros ao microscópio óptico nas regiões CA1, CA3 e giro denteado (GD) no aumento de 40x. A área de contagem dos neurônios íntegros foi delimitada por um retículo de $10\mu\text{m}^2$, e o foco ajustado antes do início da contagem e não foi mais alterado durante o procedimento. Não houve diferença entre o número de neurônios em cada área nos dois hemisférios, então efetuou-se a contagem tanto no hemisfério direito quanto esquerdo. Os resultados baseados nas médias de neurônios íntegros de cada grupo em cada área do hipocampo analisada são demonstrados nas figuras 17, 18, 19 e 20.

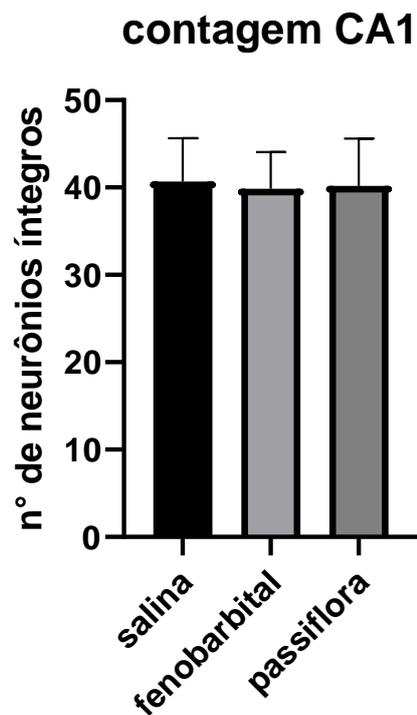


Figura 17. Média \pm DPM do número de neurônios íntegros da região CA1 do hipocampo dorsal após o tratamento com solução salina (0,9%), fenobarbital 100mg/kg e extrato de *P. nitida*. 200mg/kg. ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

A figura 17 ilustra que não houve diferença significativa no número de células após os tratamentos em relação ao grupo salina na região CA1 hipocampal, o mesmo ocorrendo quanto a região CA3 do hipocampo dorsal ilustrado na Figura 18. Com relação aos resultados isso pode ter acontecido devido ao tempo e severidade das crises durante o SE.

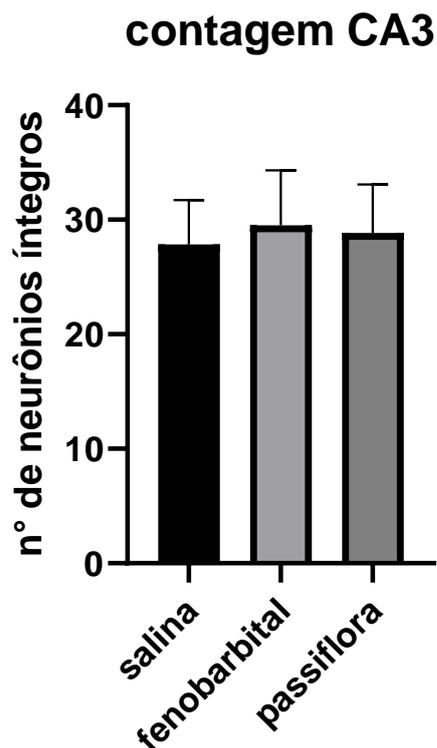


Figura 18. Média \pm DPM do número de neurônios íntegros da região CA3 do hipocampo dorsal após o tratamento com solução salina (0,9%), fenobarbital 100mg/kg e extrato de *P. nítida* 200mg/kg. ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

Entretanto ao analisar a média de neurônios íntegros do GD foi observado que houve uma redução do número de células nesta região do hipocampo dorsal no grupo controle tratado com solução salina e esse resultado foi estatisticamente diferente quando comparado aos outros tratamentos (fenobarbital e Passiflora) conforme as Figuras 19 e 20. Isso demonstra que o fenobarbital (100mg/kg) e o extrato hidroetanólico (200mg/kg) de Passiflora possuem um efeito neuroprotetor sobre o GD durante o status epilepticus por indução de pilocarpina em modelo agudo de ELT em ratos.

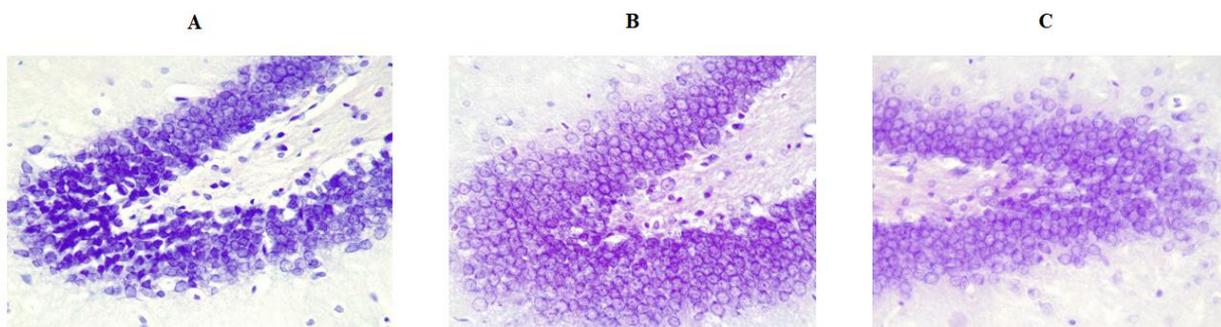


Figura 19. Fotomicrografia no aumento de 40x na região do GD do hipocampo dorsal
A- Grupo Salina; B- Fenobarbital; C- Extrato hidroetanólico de *P. nitida*.

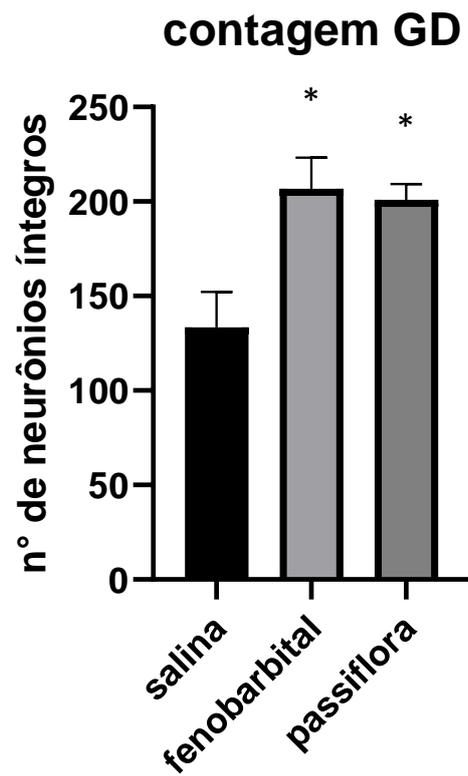


Figura 20. Média \pm DPM do número de neurônios íntegros da região do giro denteado (GD) do hipocampo dorsal após o tratamento com solução salina (0,9%), fenobarbital e extrato de *P. nitida*. Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer com * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle.

5. DISCUSSÃO

A Epilepsia do Lobo temporal é um distúrbio neurológico refratário aos tratamentos farmacológicos atuais no qual inúmeras pesquisas se voltam para o desenvolvimento de novos medicamentos capazes de controlar/prevenir as crises convulsivas dessa condição e evitar efeitos adversos contidos nos medicamentos existentes. As espécies do gênero *Passiflora L.* possuem diversos constituintes químicos que indicam sua atividade farmacológica e seu potencial para o desenvolvimento de medicamentos com ação no SNC. A espécie *P. nitida* pertence a esse gênero e já vem sendo descrita na literatura com propriedade antioxidante, anticoagulante, antiagregante plaquetária, anti-inflamatório, hipoglicêmico e hepatoprotetor em roedores, além de apresentar efeito redutor sobre a melanogênese em células de melanoma murino B16F10. (CARVALHO et.al.; 2010; OLIVEIRA, 2011; LIMA et.al.; 2012; MONTEFUSCO-PEREIRA et.al., 2013; TEXEIRA et.al., 2014). Assim como outras espécies do gênero, a *Passiflora nitida* possui ação no SNC ao apresentar efeito ansiolítico e hipnótico na indução do sono por barbitúrico, dados obtidos em um screening farmacológico realizado em nosso laboratório (dados não publicados).

Dessa maneira, nosso objetivo foi avaliar os efeitos antiepilético e neuroprotetor do extrato de *P. nitida* em modelo agudo de ELT por administração de pilocarpina (250mg/kg) em ratos Wistar através da análise de alterações comportamentais (escala de Racine), elétricas (EEG) e neurodegeneração (histologia).

Os modelos experimentais *in vivo* baseados em roedores são de grande importância, pois mimetizam as alterações fisiológicas, comportamentais e eletroencefalográficas semelhante a ELT em humanos (SMOLENSKY et.al., 2019, HEYSIEATTALAB E SADEGHI, 2021). Além disso, são de baixo custo, fácil controle, praticidade e conhecimento quanto às bases neuroanatômicas, neuroquímicas e comportamentais destes roedores (LÖSCHER, 2011). Os ratos e camundongos são os roedores mais utilizados e estes auxiliam no entendimento da epileptogênese e no desenvolvimento de tratamentos farmacológicos mais eficientes no controle/prevenção das crises (SMOLENSKY et.al., 2019).

Um dos modelos mais usados na indução da ELT em roedores é o modelo PILO no qual a administração intraperitoneal sistêmica de pilocarpina (~360mg/kg) é capaz de desencadear alterações comportamentais, elétricas recorrentes e espontâneas e dano cerebral. Essas alterações são divididas em 3 períodos: agudo, latente e crônico (TURSKI et.al., 1983, CARVALHEIRO 1995). O modelo agudo de ELT é caracterizado pelo insulto inicial de crises que evoluem para o estabelecimento do SE que pode se perpetuar por até 24h (SCORZA et.al., 2009).

A pilocarpina é um agonista colinérgico muscarínico extraído da planta *Pilocarpus jaborandi* que induz convulsões límbicas que evoluem para o SE através do comprometimento da sinalização glutamatérgica/gabaérgica (GOFFIN et.al., 2007, VIZUETE et.al., 2017). Esse modelo envolve neurodegeneração, inflamação, estresse oxidativo, alterações comportamentais e elétricas no cérebro e possui um índice alto de mortalidade em roedores (WANG et.al., 2008, CASTRO et.al., 2010, AUVIN et.al., 2010, LIU et.al., 2010).

Estudos recentes apontam que os episódios convulsivos do SE por pilocarpina em animais experimentais levam a alterações neurodegenerativas nas regiões hipocampais específicas (CA1, CA3 e giro denteado), determinando a esclerose hipocampal na fase aguda do modelo (MELO et.al., 2016, NIRWAN et.al., 2018).

Como já descrito anteriormente, a pilocarpina induz a alterações motoras durante o SE que podem ser avaliadas de acordo com a escala de Racine, proposta em 1972, na qual podemos avaliar o início e a gravidade das crises em resposta a pilocarpina administrada de forma sistêmica. A escala de Racine modificada é dividida em 5 fases: 1- automatismo facial, bucal e hipoatividade, 2- acenar com a cabeça e tremor corporal, 3-clonus de membros anteriores, 4- elevação de membros posteriores e 5- elevação corporal e queda. Essas fases auxiliam na determinação das intensidades das crises e pode ser correlacionada com as alterações elétricas observadas no eletroencefalograma para acompanhar a fase aguda do SE.

O EEG assim como a escala de Racine são facilitadores do diagnóstico e da severidade das crises, sendo que o EEG tem sido utilizado em modelos de indução da ELT para quantificar eventos convulsivos e determinar a confiabilidade dos dados observados pela escala de Racine durante o status epilepticus (PHELAN et.al., 2015). O EEG é baseado em eletrodos que captam os sinais elétricos do somatório de milhares de neurônios em sincronia e os amplia para demonstrar oscilações e mudanças de frequências que determinam a presença de algumas patologias neurológicas (DA MOTA GOMES, 2015). Além disso, o EEG é capaz de ajudar na compreensão do impacto da gravidade das crises na epileptogênese, entretanto há poucos estudos que apresentam dados quantitativos que determinam a gravidade das crises (SHARMA et.al., 2018).

Com base nesse contexto nosso experimento utilizou o modelo Pilo para induzir crises convulsivas comportamentais e eletroencefalográficas como base para avaliar a atividade anticonvulsiva do extrato hidroetanólico de *P. nitida* em ratos Wistar. Nossos achados demonstram que todos os 18 ratos que foram induzidos ao SE pela administração Pilocarpina (250mg/kg) apresentaram alterações comportamentais semelhantes durante os 30 minutos de convulsão que estão de acordo com a condição de ELT, sem reversão, sem causar mortalidade, e isso foi observável pelas fases características da escala de Racine 1972. Para

isso, foi necessário padronizar a dose de Pilocarpina em ratos sem causar a morte nesse experimento. As doses mais utilizadas nos estudos estão entre 100-400mg/kg, entretanto doses acima de 300 mg/kg possuem uma grande porcentagem de óbitos e elevada toxicidade nas 24h durante o SE (TURSKI et.al.,1983, SANTOS et.al., 2008, COSTA et.al., 2012).

Nós demonstramos através dos nossos resultados que apesar das alterações tônico-clônicas terem sido mais brandas, os ratos apresentaram scores entre 3-4 característico da deflagração do modelo agudo de epilepsia do lobo temporal após a administração de 250 mg/kg de pilocarpina via intraperitoneal. Esses dados são consistentes com outros trabalhos que utilizaram doses similares para indução do SE, como nos estudos de Phelan e colaboradores 2015 que utilizaram doses de pilocarpina de forma crescente de 175-280mg/kg para induzir status epilepticus que resultaram no estabelecimento do modelo agudo através de alterações semelhantes as descritas em nossos resultados; e Niwan e colaboradores 2018 também utilizaram uma dose de 260 mg/kg similar a nossa em animais o que permitiu o desenvolvimento do status epilepticus mais brandos.

Além disso, nossos resultados confirmam que o SE foi estabelecido no período médio de 30 minutos conforme a observação de alterações comportamentais de score 3-4 semelhante a outros estudos como de Hanada e pazeiros 2014 e Deng e colaboradores 2019. O SE é uma atividade convulsiva com duração igual ou superior a 30 min que está relacionado com lesão neuronal irreversível, refratariedade ao tratamento com antiepiléticos e consequências graves a longo prazo (LÖSCHER, 2015). Como nós queríamos observar os efeitos anticonvulsivos dos tratamentos durante o SE, nós administramos os tratamentos nesse período e observamos que o grupo controle (solução salina) apresentou alterações tônico-clônicas iguais do início ao fim das 4h de observação e isso demonstra que é necessário uma terapia eficiente para suprimir as crises convulsivas a partir dos 30 min de eventos convulsivos contínuos. Por isso, utilizamos o fenobarbital (100mg/kg) como um FAE de primeira geração para observar sua ação durante o SE. O fenobarbital é um antiepilético muito utilizado na clínica devido ao baixo custo, eficácia e longa experiência na clínica e possui efeitos sedativos prolongados, hipnóticos e anticonvulsivos por potencializar a neurotransmissão gabaérgica e prolongar a abertura de canais de Cl⁻ (AUVIN, 2014). Além disso, os efeitos antiepiléticos do fenobarbital aparecem de forma mais lenta, causando frequentemente sedação e letargia duradoura após o tratamento. (SIMON et.al., 1985, CAPACIO et.al., 1992, JACKSON et.al., 2019). Essas descrições sobre o fenobarbital dão embasamento para o seu uso no tratamento da ELT e estão de acordo com os resultados observados em nossos experimentos nos quais o fenobarbital na dosagem de 100 mg/kg apresentou uma redução da gravidade das crises convulsivas nos ratos, sedação e letargia após a sua administração oral, com concomitante

diminuição da intensidade da crise convulsiva, sendo essa diminuição variável entre os animais do grupo. Um estudo realizado por Jones e colaboradores em 2002 demonstra que 10 minutos após o score 3 da escala de Racine 1972 os ratos não reverteram as crises independente das doses utilizadas (2,5-100mg/kg) de fenobarbital, esse estudo é consistente com nossos dados, visto que o tratamento com fenobarbital atenuou, porém não suprimiu os eventos convulsivos comportamentais e elétricos.

O uso do extrato hidroetanólico de *P. nitida* (200mg/kg) neste experimento levou a um controle das crises, sem causar sedação e letargia nos animais, apresentando intervalos maiores entre um evento convulsivo e outro. Essa dose foi padronizada em experimentos desenvolvidos no laboratório de Farmacologia/DCF/UFAM. A dose de 200mg/kg não apresentou toxicidade e produziu efeitos anticonvulsivos através da reversão das crises tanto em modelo agudo como em modelo crônico de ELT induzido por pilocarpina em camundongos Swiss. A *P. nitida* possui diversos constituintes químicos em sua composição e estes são responsáveis pelos diversos efeitos terapêuticos das espécies de Passiflora, sendo os flavonoides os majoritários. Um desses efeitos está relacionado com a atividade antioxidante já descrita para este extrato (CARVALHO et.al., 2010, OLIVEIRA, 2011, DE VARGAS et.al., 2016).

A atividade convulsiva induzida por pilocarpina leva a um aumento da produção de substâncias oxidantes no tecido neuronal, através do aumento da liberação de glutamato, aumentando o influxo de cálcio e da quantidade de radicais livres, deflagrando morte celular (PESTANA et.al., 2010, CARDENAS-RODRIGUEZ et.al., 2013). Estudos atuais demonstram que a presença dos flavonoides em diversas espécies de plantas tem ação antiepiléptica através da inibição de diversas enzimas relacionadas a produção de radicais livres e a modulação de receptores de GABA_A e canais de Cl⁻, pois são estruturalmente similares aos benzodiazepínicos (CHOUDHARY E SWARNKAR, 2011, DINIZ et.al., 2015). Nassiri-Asl e colaboradores (2008) relata o efeito antiepiléptico do extrato de *Passiflora incarnata* em camundongos Balb-c, atribuindo ao alto teor de flavonoides (4% do extrato seco) esse efeito. Administrado previamente ao pentilenotetrazol (PTZ), o extrato inibiu a mortalidade em 100% dos animais, além de atenuar as crises convulsivas eliciadas pelo PTZ, efeito este revertido pela administração de flumazenil (antagonista GABA_A) e naloxona (antagonista opioide), demonstrando que pelo menos em parte, o extrato atua via ação em receptores GABA e opioides.

Esse efeito antiepiléptico observado nos nossos resultados é referido também por Elsas e colaboradores (2010) com o extrato de *Passiflora incarnata* na dose de 100 mg/kg

promoveu redução na frequência e na severidade das crises induzidas por PTZ em camundongos, com possível ação sobre os receptores gabaérgicos segundo a conclusão dos autores. Em outro estudo também é possível verificar que o extrato hidroetanólico de *P. incarnata* (150, 300 e 300 mg/kg) levou a uma diminuição dos eventos convulsivos induzidos por PTZ e um efeito protetor contra a depressão pós-ictal que acomete animais experimentais e pacientes na clínica, em razão das convulsões repetidas ou pelo uso de antiepiléticos que por si induzam um quadro depressivo como efeito adverso (SINGH et.al., 2012). Esses dados de outras espécies do mesmo gênero, demonstram que, apesar de não conhecermos de fato como o extrato hidroetanólico da espécie *P. nitida* reduz a gravidade dos eventos convulsivos, entendemos a partir deste experimento que o extrato possui potencial no tratamento da ELT induzida por pilocarpina em ratos, e que após mais estudos seja possível transpor essa terapêutica para clínica.

Entretanto, vale ressaltar que a principal forma para detectar, avaliar e diagnosticar as crises epiléticas é através do eletroencefalograma. Os dados obtidos durante as 4h de registro do eletroencefalograma em nosso experimento corroboram com os resultados das alterações motoras descritas acima. Para detecção das alterações elétricas é necessário o uso de sistemas de aquisição de registro, neste experimento utilizamos o sistema Biopac que nos auxiliou na amplificação, redução de ruídos e detecção de descargas epileptiformes. A presença de descargas, sua frequência, repetição e amplitude determinam a gravidade do SE em ratos (AL SAWAF, 2020).

A exposição dos animais a pilocarpina resulta em alteração da atividade cerebral (crises epiléticas recorrentes) observáveis pelo eletroencefalograma. Essa atividade elétrica alterada ocorre através da atividade anormal e excessiva dos neurônios iniciando nas regiões corticais (CHEN et.al., 2015).

Treiman e colaboradores 1990 determinaram que existem 5 padrões identificáveis de descargas elétricas que ocorrem durante todo o período de status epilético em humanos e animais não tratados durante 24h. Esses 5 padrões são definidos em 1- descargas discretas, 2- descargas com diferenças de amplitudes e frequências, 3- descarga ictal contínua de alta amplitude, 4-atividade ictal contínua com achatamento das espículas 5- descargas ictais periódicas característicos do período latente do SE.

Dessa maneira, nossos resultados demonstram que todos os animais atingiram o padrões 2 e 3 de descargas ictais durante os 30 minutos que antecedem os tratamentos. Entretanto, a partir dos 30 minutos houve a administração dos tratamentos e mudança nos padrões anteriores. O grupo tratado com solução salina apresentou espículas ictais agrupadas de alta amplitude com descargas intensas e moderadas de padrões 2 e 3 por um maior período

demonstrando que a solução salina não é capaz de reverter as alterações elétricas causadas pela administração de pilocarpina intraperitoneal e isso também se relaciona com o padrão comportamental observado pela escala de Racine 1972.

O grupo tratado com fenobarbital 100 mg/kg apresentou descargas de menor amplitude e frequência durante as primeiras horas devido ao efeito sedativo e antiepiléptico característico da droga, mas não obteve resultado significativo quando comparado ao grupo controle no final do registro. Além disso, esse grupo continuou apresentando espículas agrupadas e descargas moderadas com menor intensidade, mas sem diferença no tempo total de alterações, contudo sem evoluir para deflagração de descargas intensas, fato que ocorreu em dois animais do grupo salina, durante as 4h de registro. De acordo com alguns estudos clínicos e em animais do SE as convulsões superiores a 30 minutos são difíceis de controlar por medicamentos antiepilépticos, pois levam a alterações no receptor GABA_A o que pode explicar a perda de ação dos benzodiazepínicos e barbitúricos (LÖSCHER, 2007).

Os estudos atuais relacionados com a atividade do fenobarbital sobre o registro elétrico em modelo agudo de ELT por pilocarpina em roedores são escassos, em sua maioria, descrevem sua ação em modelos crônicos, na prevenção das crises e em modelos que utilizam neonatos com outros tipos de indução. Brandt e colaboradores 2004 demonstraram em seus experimentos que o fenobarbital apresenta efeitos anticonvulsivos diferentes em ratos após a indução da SE pela estimulação elétrica da amígdala basolateral em modelo crônico de ELT. Em seu experimento de 2014 ele tratou ratos epiléticos com fenobarbital por duas semanas com diversas doses diárias e observou que 64% dos ratos responderam bem ao tratamento e 36% dos ratos não responderam ao controle das crises mesmo em doses altas e até apresentaram uma frequência maior de crises do que antes do tratamento, demonstrando que essa porcentagem de não respondedores está ligada com a resistência ao fenobarbital observada através da detecção de descargas no EEG.

Compreender esses mecanismos de resistência é importante para prevenir e reverter o desenvolvimento das crises, afinal a melhor forma de prevenir as crises epiléticas refratárias é através do interrompimento do SE.

Os resultados obtidos do EEG em ratos tratados com o extrato hidroetanólico de *P. nitida* (200 mg/kg) demonstram que o extrato nessa dose conseguiu apresentar um melhor controle sobre as crises através da presença de espículas agrupadas discretas (padrão 1 e 2 de Treiman) e descargas moderadas em intervalos maiores de tempo quando comparada ao grupo controle e fenobarbital. Esses resultados são consistentes com os resultados das alterações motoras já relatadas aqui anteriormente. Isso nos sugere que o extrato possui ação antiepiléptica ao reduzir a intensidade e o tempo total das alterações elétricas no EEG além de

amenizar o comportamento convulsivo. Apesar da necessidade de mais experimentos, uma possível explicação para esses efeitos seria a redução das espécies reativas de oxigênio, que são aumentadas pela pilocarpina durante o SE, uma vez que o extrato é antioxidante; e pela presença de flavonoides em sua composição, pois existem evidências de que os flavonoides são capazes de se ligar aos sítios dos receptores GABA_A, e isso reduz a frequência e a intensidade das crises (MARDER E PALADINI, 2002, DINIZ et.al., 2015). Assim como o fenobarbital, os estudos atuais utilizando espécies de *Passiflora L* no controle das descargas ictais em modelos agudos de ELT são escassos, necessitando de mais pesquisas voltadas para esse assunto. O que se sabe é que os extratos das espécies de *Passiflora* (*P. alata*, *P. foetida*, *P. caerulea*, *P. tenuifolia*) controlam os eventos convulsivos motores em ratos e que o extrato hidroetanólico da espécie *P. incarnata* além de controlar as crises e reduzir sua severidade também apresenta eficácia sobre a depressão pós-ictal observada em modelo crônico de ELT por indução por PTZ (OGA et.al., 1985, SINGH et.al., 2012, ASEERVATHAM et.al., 2020, HOLANDA et.al., 2020). É necessário que novos estudos sejam realizados para demonstrar por qual mecanismo o extrato de *P. nitida* atua na redução da severidade de crises em modelo agudo de epilepsia do lobo temporal por pilocarpina e quais compostos químicos atuam nesse processo.

Para avaliar a neurodegeneração causada pela administração sistêmica de Pilocarpina 250mg/kg nos cérebros dos ratos, analisamos através da contagem de neurônios íntegros, a perda neuronal nas regiões CA1, CA3 e giro denteado. Sabemos que a ELT leva a neurodegeneração de áreas sensíveis no hipocampo, como as células específicas do corno de Ammon CA1, CA3 e células do GD, por isso escolhemos essas áreas para nossa avaliação. Nossos resultados demonstram que o grupo tratado com fenobarbital 100mg/kg e com extrato hidroetanólico de *P. nitida* não tiveram perda neuronal significativa após 4 horas de SE comparada ao grupo controle e que apenas o grupo controle tratado com solução salina apresentou perda neuronal registrada na região do giro denteado (GD).

A duração do SE e a severidade das crises estão relacionados com o grau de neurodegeneração e, portanto, conhecer o perfil do dano neuronal é importante para compreender os mecanismos envolvidos e planejar a intervenção de drogas neuroprotetoras no início do SE. Em um estudo realizado por Fujikawa 1996 ele observou a evolução do dano neuronal em ratos Wistar após a administração de pilocarpina (400mg/kg-500mg/kg) via intraperitoneal e observou que após 40 min de SE houve uma lesão leve no giro denteado dorsal e ventral e que essa lesão foi aumentando conforme as horas passavam. Carvalheiro e colaboradores 1996 também observaram que ao induzir status epilepticus por pilocarpina 300mg/kg em camundongos houve perda neuronal de 72% no GD em modelo crônico pós SE.

Alguns autores descrevem uma suscetibilidade inicial dos neurônios do giro denteado, que incluem células granulares, células musgosas e interneurônios gabaérgicos, e esta degeneração inicial leva a uma neuroplasticidade com reorganização de sinapses no giro denteado. Essa nova dinâmica pode contribuir para sincronizar a hiperexcitabilidade induzida pela perda dos interneurônios durante o período de silêncio do modelo de pilocarpina, levando ao aparecimento de crises crônicas. (ANDRE et.al., 2001). No circuito hipocampal, as células granulares DG são o primeiro estágio de processamento da alça trissináptica, recebendo informações do córtex entorrinal e enviando projeções para a região CA3. Após a perda de interneurônios gabaérgicos há uma redução da inibição de células granulares no giro denteado e essa vulnerabilidade à excitação é descrita por vários autores (HENSHALL, 2007, KURUBA et.al., 2011, MARX et.al., 2013, SCHARFMAN, 2016). Os interneurônios gabaérgicos são abundantes no GD e são perdidos durante o ELT tanto em humanos como em animais diminuindo as sinapses inibitórias com as células granulares do GD e aumentando as conexões excitatórias com outras regiões do hipocampo (HOFMANN et.al., 2016). As convulsões aumentam a neurogênese e essas novas células migram para as regiões ectópicas, incluindo o hilo do GD (ZHAN E NADLER, 2009). Um estudo realizado por Do Nascimento e colaboradores 2012 demonstrou que após 3h da indução do SE foi possível observar que a camada de células granulares do GD foi a área com maior dano neuronal do que outras áreas do hipocampo. Essas células possuem receptores glutamatérgicos permeáveis a Ca^{2+} e isso explica a susceptibilidade ao dano nessa região. Pois o influxo excessivo de Ca^{2+} levam a uma sobrecarga intracelular ativando vias metabólicas através da formação de radicais livres que medeiam a morte celular (ARUNDINE E TYMIANSKI 2003).

O giro denteado apresenta algumas funções dentro do hipocampo, sendo as principais: separar padrões (distinguir estímulos), segregar novas e velhas memórias e formar novos neurônios (neurogênese). Por estar envolvido na atividade cognitiva é importante aprender sobre o que os danos nessa região causam, pois umas das maiores consequências da ELT é no aspecto cognitivo.

Não há dados descritos na literatura que comprovem que o giro denteado é a primeira região a sofrer danos na clínica, mas os estudos demonstram que a administração sistêmica de pilocarpina leva a mudanças das regiões do GD com relação a reorganização de circuitos, dispersão de células e neurogênese favorecendo a disseminação da ELT, pois essas novas células utilizam o glutamato como neurotransmissor levando a um aumento da excitabilidade. Esse achado histopatológico comum pode ser observado tanto em animais como em humanos (ARELLANO et.al., 2004, GUALTIERI et.al., 2013, CURIA et.al., 2014).

Nossos resultados demonstram que tanto o fenobarbital como a *P.nitida* tiveram efeitos neuroprotetores contra a neurodegeneração no GD em ratos após a administração de pilocarpina, entretanto faz-se necessário mais estudos para avaliar qual mecanismo do extrato hidroetanólico de *P. nitida* está envolvido nessa proteção.

Nos padrões experimentais utilizados por nós neste estudo, as regiões CA1 e CA3 não sofreram lesão neuronal mesmo nos animais do grupo salina. Esse dado é facilmente explicado devido a dose mínima de 250mg/kg de pilocarpina e a presença de convulsões mais brandas.

6. CONCLUSÃO

- O extrato hidroetanólico de *P. nitida* na dose (200mg/kg) administrada por via oral, possui efeito antiepiléptico ao reduzir as crises convulsivas em ratos, atenuando estas crises, tornando-as mais brandas e espaçadas sem causar sedação nos animais, ficando estes ativos durante 4h de observação.
- O extrato foi capaz de diminuir o tempo das descargas moderadas e a presença de espículas agrupadas durante as 4h de registro em modelo agudo de epilepsia do lobo temporal demonstrando, ter potencial para o controle das crises.
- O extrato hidroetanólico de *P. nitida* possui efeito neuroprotetor sobre a região do giro denteado, ao reduzir a perda de neurônios após o status epilepticus em modelo agudo de epilepsia do lobo temporal em ratos.

7. EQUIPE DO PROJETO

Nome	Instituição	Formação	Função
Gabrielly Corrêa Baraúna	PPGIBA/UFAM	Biotecnóloga	Mestranda
GeaneAntiques Lourenço	PPGIBA/UFAM	Bióloga Doutora em Farmacologia	Orientadora
Ana Leonor Abrahão Nencioni	Instituto Butantan	Bióloga Doutora em Farmacologia	Pesquisador Colaborador
Emerson Silva Lima	FCF/UFAM	Farmacêutico Doutor em Farmácia	Pesquisador Colaborador
Luiz Fernando Marques Barcellos	PPGIBA/UFAM	Biólogo Doutor em Histologia	Pesquisador Colaborador
Elias Fragata Farias	FCF/UFAM	Aluno do curso de Farmácia	Aluno de iniciação científica
Maria Beatriz Tavares da Costa	FAO/UFAM	Aluna do curso de Odontologia	Aluna de Iniciação científica
Verônica Gonçalves	ICB/UFAM	Aluna do curso de Biotecnologia	Aluna de Iniciação científica

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, S., & SHAJU, M. (2013). **Innovations in epilepsy management—an overview.** *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 16(4), 564-576. Disponível em: <https://journals.library.ualberta.ca/jpps/index.php/jpps/article/view/19516> Acesso: 10 de Janeiro de 2020.
- ALI, R., CONNOLLY, I. D., FEROZE, A. H., AWAD, A. J., CHOUDHRI, O. A., & GRANT, G. A. (2016). **Epilepsy: a disruptive force in history.** *World neurosurgery*, 90, 685-690. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878875015016617> Acesso: 01 de Fevereiro de 2020.
- ALLONE, C., BUONO, V. L., CORALLO, F., PISANI, L. R., POLLICINO, P., BRAMANTI, P., & MARINO, S. (2017). **Neuroimaging and cognitive functions in temporal lobe epilepsy: a review of the literature.** *Journal of the neurological sciences*, 381, 7-15. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28991719/> Acesso: 20 de Abril de 2021.
- AL SAWAF, A., GUDLAVALLETI, A., & MURR, N. (2020). **EEG Basal Cortical Rhythms.** StatPearls. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532986/> Acesso: 12 de Maio de 2021.
- ANDRÉ, V., MARESCAUX, C., NEHLIG, A., & FRITSCHY, J. M. (2001). **Alterations of hippocampal GABAergic system contribute to development of spontaneous recurrent seizures in the rat lithium- pilocarpine model of temporal lobe epilepsy.** *Hippocampus*, 11(4), 452-468. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hipo.1060> Acesso: 02 de Julho de 2021.
- ARELLANO, J. I., MUNOZ, A., BALLESTEROS- YANEZ, I., SOLA, R. G., & DEFELIPE, J. (2004). **Histopathology and reorganization of chandelier cells in the human epileptic sclerotic hippocampus.** *Brain*, 127(1), 45-64. Disponível em: <https://academic.oup.com/brain/article/127/1/45/289164?login=true> Acesso: 10 de Julho de 2021.
- ARUNDINE, M., & TYMIANSKI, M. (2003). **Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity.** *Cell calcium*, 34(4-5), 325-337. Disponível

em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143416003001416> Acesso: 04 de Julho de 2021.

ASEERVATHAM, G.S.B., ABBIRAMI, E., SIVASUDHA, T., & RUCKMANI K. (2020) **Passiflora caerulea L. fruit extract and its metabolites ameliorate epileptic seizure, cognitive deficit and oxidative stress in pilocarpine-induced epileptic mice.** *Metabolic brain disease*, 35(1):159-173 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31728889/> Acesso: 29 de Junho de 2021.

AUVIN, S. (2014). **Antiepilépticos.** *EMC-Pediatria*, 49(1), 1-12. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S124517891467013X> Acesso: 21 de Junho de 2021.

AUVIN, S., Mazarati, A., SHIN, D., & SANKAR, R. (2010). **Inflammation enhances epileptogenesis in the developing rat brain.** *Neurobiology of disease*, 40(1), 303-310. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0969996110002007> Acesso: 22 de Junho de 2021.

ANDRADE, L. N. (2018). **Efeitos biológicos de extratos da Passiflora alata: uma revisão da literatura.** *Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE*, 5(2), 33. Disponível em: <https://periodicos.set.edu.br/cadernobiologicas/article/view/5913> Acesso: 12 de Maio de 2020.

ASADI-POOYA, A. A., STEWART, G. R., ABRAMS, D. J., & SHARAN, A. (2017). **Prevalence and incidence of drug-resistant mesial temporal lobe epilepsy in the United States.** *World neurosurgery*, 99, 662-666. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878875016313894> Acesso: 30 de Janeiro de 2021.

BAUMGARTEN, A., & CANCINO, C. M. H. (2016). **Epilepsy and Dentistry: a literature review.** *Revista Brasileira de Odontologia*, 73(3), 231-236. Disponível em: http://revodonto.bvsalud.org/scielo.php?pid=S003472722016000300010&script=sci_abstract&tlng=en Acesso: 14 de Fevereiro de 2020.

BECKER, A. J. (2018). **Animal models of acquired epilepsy: insights into mechanisms of human epileptogenesis.** *Neuropathology and applied neurobiology*, 44(1), 112-129. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/nan.12451> Acesso: 25 de Julho de 2020.

BEGHI, E. (2020). **The epidemiology of epilepsy.** *Neuroepidemiology*, 54(2), 185-191. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/503831> Acesso: 10 de Abril de 2020.

BENDINI, A., CERRETANI, L., PIZZOLANTE, L., TOSCHI, T. G., GUZZO, F., CEOLDO, S., ... & LEVI, M. (2006). **Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of Passiflora spp. extracts.** *European Food Research and Technology*, 223(1), 102-109. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-005-0150-7> Acesso: 30 de Janeiro de 2021.

BENARROCH, EE (2010). **Transportadores de glutamato: diversidade, função e envolvimento em doenças neurológicas.** *Neurology* , 74 (3), 259-264. Disponível em: <https://n.neurology.org/content/74/3/259.short> Acesso: 21 de Janeiro de 2021.

BENINCÁ, J. P., MONTANHER, A. B., ZUCOLOTTI, S. M., SCHENKEL, E. P., & FRÖDE, T. S. (2007). **Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of Passiflora edulis.** *Food Chemistry*, 104(3), 1097-1105. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814607000775> Acesso: 12 de Setembro de 2019.

BERNACCI, L. C., SOARES-SCOTT, M. D., JUNQUEIRA, N. T. V., PASSOS, I. R. D. S., & MELETTI, L. M. M. (2008). **Passiflora edulis Sims: the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors).** *Revista Brasileira de fruticultura*, 30(2), 566-576. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/sMqkSZgTVNCPpj7zQNckNn/?lang=en> Acesso: 10 de Outubro de 2020.

BERNACCI, L. C., & SOUZA, M. M. (2012). **Passiflora cacao (Passifloraceae), a new species from Southern Bahia, Brazil.** *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature*, 22(1), 1-8. Disponível em: <https://bioone.org/journals/novon-a-journal-for-botanical-nomenclature/volume-22/issue-1/2010043/Passiflora-cacaoPassifloraceae-a-New-Species-from-Southern-Bahia-Brazil/10.3417/2010043.short> Acesso: 11 de Janeiro de 2020.

BENICZKY, S., AURLIEN, H., BRØGGER, J. C., HIRSCH, L. J., SCHOMER, D. L., TRINKA, E., & HERMAN, S. T. (2017). **Standardized computer-based organized**

reporting of EEG: SCORE–second version. *Clinical Neurophysiology*, 128(11), 2334-2346. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/epi.12135> Acesso: 12 de Janeiro de 2020.

BLÜMCKE, I., THOM, M., ARONICA, E., ARMSTRONG, D. D., BARTOLOMEI, F., BERNASCONI, A., ... & SPREAFICO, R. (2013). **International consensus classification of hippocampal sclerosis in temporal lobe epilepsy: a Task Force report from the ILAE Commission on Diagnostic Methods.** *Epilepsia*, 54(7), 1315-1329. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/epi.12220> Acesso: 12 de Janeiro de 2021.

BORTOLUZZI, M. M., SCHMITT, V., & MAZUR, C. E. (2020). **Efeito fitoterápico de plantas medicinais sobre a ansiedade: uma breve revisão.** *Research, Society and Development*, 9(1), e02911504-e02911504. Disponível em: <https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/1504> Acesso: 20 de Junho de 2021.

BRANDÃO, L. E. M., NÔGA, D. A. M. F., DIERSCHNABEL, A. L., CAMPÊLO, C. L. D. C., MEURER, Y. D. S. R., LIMA, R. H. & ESTEVAM, C. D. S. (2017). **Passiflora cincinnata extract delays the development of motor signs and prevents dopaminergic loss in a mice model of parkinson's disease.** *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/8429290/> Acesso: 02 de Março de 2021.

BRANDT, C., VOLK, H. A., & LÖSCHER, W. (2004). **Striking differences in individual anticonvulsant response to phenobarbital in rats with spontaneous seizures after status epilepticus.** *Epilepsia*, 45(12), 1488-1497. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.0013-9580.2004.16904.x> Acesso: 28 de Junho de 2021.

BRANDT, C., & LÖSCHER, W. (2014). **Antiepileptic efficacy of lamotrigine in phenobarbital-resistant and -responsive epileptic rats: A pilot study.** *Epilepsy Research*, 108(7), 1145–1157. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0920121114001405> Acesso: 27 de Junho de 2021.

CAPACIO, B. R., HARRIS, L. W., ANDERSON, D. R., LENNOX, W. J., GALES, V., & DAWSON, J. S. (1992). **Use of the Accelerating Rotarod for Assessment of Motor Performance Decrement Induced by Potential Anticonvulsant Compounds DM Nerve**

Agent Poisoning. Drug and chemical toxicology, 15(3), 177-201. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/01480549209014150> Acesso; 27 de Junho de 2021.

CAVALHEIRO, E. A. (1995). **The pilocarpina and model of epilepsy.** The Italian Journal of Neurological Sciences, 16(1-2), 33-37. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02229072> Acesso: 14 de Janeiro de 2021.

CAVALHEIRO, E. A., SANTOS, N. F., & PRIEL, M. R. (1996). **The pilocarpine model of epilepsy in mice.** Epilepsia, 37(10), 1015-1019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1528-1157.1996.tb00541.x> Acesso: 27 de Junho de 2021.

CARVALHO, M. J. D. (2008). **Caracterização fitoquímica e atividades farmacológicas de extratos das folhas do maracujá-do-mato (Passiflora nitida Kunth).** Tese de doutorado pela Universidade Federal do Amazonas. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/3652> Acesso: 17 de Abril de 2021.

CARVALHO, M. J. D., PEDROSA, T. D. N., GUILHON-SIMPLICIO, F., NUNEZ, C. V., OHANA, D. T., PEREIRA, M. D. M., & LIMA, E. S. (2010). **Pharmacognostic study and in vitro activity on blood coagulation and platelet aggregation of leaves of Passiflora nitida Kunth (Passifloraceae).** Acta Amazonica, 40(1), 199-206. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aa/a/kDdTvhqGyCLWRfHHmBsSRrg/?lang=pt> Acesso em: 10 de Julho de 2020.

CARDENAS-RODRIGUEZ, N., HUERTA-GERTRUDIS, B., RIVERA-ESPINOSA, L., MONTESINOS-CORREA, H., BANDALA, C., CARMONA-APARICIO, L., & COBALLASE-URRUTIA, E. (2013). **Role of oxidative stress in refractory epilepsy: evidence in patients and experimental models.** International journal of molecular sciences, 14(1), 1455-1476. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/14/1/1455> Acesso: 27 de Junho de 2021.

CASTRO, O. W., FURTADO, M. A., TILELLI, C. Q., FERNANDES, A., PAJOLLA, G. P., & GARCIA-CAIRASCO, N. (2011). **Comparative neuroanatomical and temporal characterization of FluoroJade-positive neurodegeneration after status epilepticus induced by systemic and intrahippocampal pilocarpine in Wistar rats.** Brain research, 1374, 43-55. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000689931002651X> Acesso: 20 de Abril de 2021.

CERVI, A. C., & LINSINGEN, L. V. (2010). **Passiflora kikiana, a new species of Passifloraceae from the Brazilian Amazon.** Acta Botanica Brasilica, 24(4), 1062-1064. Disponível: <https://www.scielo.br/j/abb/a/LWNPQrzRNkrgVgGBssLjCqC/abstract/?lang=es> Acesso: 27 de Maio de 2020.

CHEN, H. Y., ALBERTSON, T. E., & OLSON, K. R. (2016). **Treatment of drug- induced seizures.** British journal of clinical pharmacology, 81(3), 412-419. Disponível em: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bcp.12720> Acesso: 27 de Junho de 2021.

CHOUDHARY, R. K., & SWARNKAR, P. L. (2011). **Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India.** Natural product research, 25(11), 1101-1109. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2010.498372> Acesso: 27 de Junho de 2021.

COELHO, E. M., de AZEVÊDO, L. C., & UMZA-GUEZ, M. A. (2016). **Fruto do maracujá: Importância econômica e industrial, produção, subprodutos e prospecção tecnológica.** Cadernos de Prospecção, 9(3), 347.

CORRÊA, R. C., PERALTA, R. M., HAMINIUK, C. W., MACIEL, G. M., BRACHT, A., & FERREIRA, I. C. (2016). **The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of Passiflora spp. (passion fruit).** Trends in Food Science & Technology, 58, 79-95. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224416303533> Acesso: 25 de Abril de 2019.

COSTA, J. P., FERREIRA, P. B., De SOUSA, D. P., JORDAN, J., & FREITAS, R. M. (2012). **Anticonvulsant effect of phytol in a pilocarpine model in mice.** Neuroscience letters, 523(2), 115-118. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304394012008634> Acesso: 21 de Junho de 2021.

CURIA, G., LONGO, D., BIAGINI, G., JONES, R. S., & AVOLI, M. (2008). **The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy.** Journal of neuroscience methods, 172(2), 143-

157. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165027008002550>
Acesso: 02 de Maio de 2021.

CURIA, G., LUCCHI, C., VINET, J., GUALTIERI, F., MARINELLI, C., TORSELLO, A., ... & BIAGINI, G. (2014). **Pathophysiology of mesial temporal lobe epilepsy: is prevention of damage antiepileptogenic?**. *Current medicinal chemistry*, 21(6), 663-688. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cmc/2014/00000021/00000006/art00003>
Acesso: 12 de Julho de 2021.

DA MOTA GOMES, M. 2015. **Bases fisiológicas do eletroencefalograma**. *Revista Brasileira de Neurologia*, v. 51, n. 1. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0101-8469/2015/v51n1/a4729.pdf> Acesso: 12 de Junho de 2021.

DA SILVA, E. L. P., SOARES, J. C. F., MACHADO, M. J., REIS, I. M. A., & COVA, S. C. (2020). Evaluation of the production profile of phytotherapies for the treatment of anxiety and depression by the brazilian pharmaceutical industries. *Braz. J. of Develop*, 6(1), 3119-3135jan. Disponível em: <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/> Acesso: 11 de Fevereiro de 2020.

DE OLIVEIRA COHEN, K., PAES, N. S., COSTA, A. M., TUPINAMBÁ, D. D., DA SILVA, N., FALEIRO, F. G., & FARIA, D. A. **PASSIFLORA NITIDA: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E COMPOSTOS FUNCIONAIS**. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Fabio-Faleiro/publication/268047610_PASSIFLORA_NITIDA_CHARACTERISTICAS_FISICOQUIMICAS_E_COMPOSTOS/links/54b6e8220cf2e68eb27fff94/PASSIFLORANITIDA-CARACTERISTICAS-FISICO-QUIMICAS-E-COMPOSTOS.pdf Acesso: 21 de Junho de 2021.

DENG, X., WANG, M., HU, S., FENG, Y., SHAO, Y., XIE, Y., ... & SHI, X. (2019). **The neuroprotective effect of astaxanthin on pilocarpine-induced status epilepticus in rats**. *Frontiers in cellular neuroscience*, 13, 123. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2019.00123/full> Acesso: 20 de Junho de 2021

DE OLIVEIRA, J. C., & RUGGIERO, C. (2005). **Espécies de maracujá com potencial agrônômico**. Embrapa. CAP 06. Disponível em: http://ivrtpm.cpac.embrapa.br/homepage/capitulos/cap_6.pdf Acesso: 21 de Junho de 2021.

DE VARGAS, F. S., ALMEIDA, P. D., DE BOLETI, A. P. A., PEREIRA, M. M., de SOUZA, T. P., de VASCONCELLOS, M. C., ... & LIMA, E. S. (2016). **Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory**. BMC complementary and alternative medicine, 16(1), 1-8. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12906-016-1061-9> Acesso: 23 de Janeiro de 2021.

DHAWAN, K., DHAWAN, S., & SHARMA, A. (2004). **Passiflora: a review update**. *Journal of ethnopharmacology*, 94(1), 1-23. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874104000856> Acesso: 15 de Março de 2020.

DINIZ, T. C., SILVA, J. C., LIMA-SARAIVA, S. R. G. D., RIBEIRO, F. P. R. D. A., Pacheco, A. G. M., de Freitas, R. M., ... & Almeida, J. R. G. D. S. (2015). **The role of flavonoids on oxidative stress in epilepsy**. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2015. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2015/171756/> Acesso: 27 de Junho de 2021.

DO NASCIMENTO, A. L., DOS SANTOS, N. F., PELAGIO, F. C., TEIXEIRA, S. A., DE MORAES FERRARI, E. A., & LANGONE, F. (2012). **Neuronal degeneration and gliosis time-course in the mouse hippocampal formation after pilocarpine-induced status epilepticus**. *Brain research*, 1470, 98-110. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000689931201061X> Acesso: 03 de Julho de 2021.

EL-DIB, M., & SOUL, J. S. (2017, October). **The use of phenobarbital and other anti-seizure drugs in newborns**. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 22, No. 5, pp. 321-327). WB Saunders. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1744165X17300732> Acesso: 20 de Junho de 2021.

ELSAS, S. M., ROSSI, D. J., RABER, J., WHITE, G., SEELEY, C. A., GREGORY, W. L., ... & SOUMYANATH, A. (2010). **Passiflora incarnata L. (Passionflower) extracts elicit GABA currents in hippocampal neurons in vitro, and show anxiogenic and**

anticonvulsant effects in vivo, varying with extraction method. *Phytomedicine*, 17(12), 940-949. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711310000619> Acesso: 10 de Janeiro de 2020.

ENGLLOT, D. J., MORGAN, V. L., & CHANG, C. (2020). **Impaired vigilance networks in temporal lobe epilepsy: Mechanisms and clinical implications.** *Epilepsia*, 61(2), 189-202. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/epi.16423> Acesso: 20 de abril de 2021.

FALEIRO, F. G., JUNQUEIRA, N. T. V., & COSTA, A. M. (2015). **Ações de Pesquisa e Desenvolvimento para o Uso Diversificado de Espécies Comerciais e Silvestres de Maracujá.** *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 32(4), 429-436. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1038064> Acesso: 12 de Janeiro de 2020.

FAUSTINO, T. T., ALMEIDA, R. B. D., & ANDREATINI, R. (2010). **Plantas medicinais no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada: uma revisão dos estudos clínicos controlados.** *Brazilian Journal of Psychiatry*, 32(4), 429-436. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-44462010005000026&script=sci_arttext&tlng=pt Acesso: 13 de Março de 2019

FEYISSA, A. M., & TATUM, W. O. (2019). **Adult EEG.** *Handbook of clinical neurology*, 160, 103-124. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31277842/> Acesso: 20 de Junho de 2021.

FERNANDES, M. J. D. S. (2013). **Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas.** *estudos avançados*, 27(77), 85-98. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ea/a/VhDCBsJQ3749LKxwLsvkG3m/abstract/?lang=es> Acesso: 10 de Dezembro de 2019.

FERNANDES, P. D. S. (2016). **Tradução da escala de funcionalidade para a pessoa com epilepsia (Social and Occupational Functioning Scale for Epilepsy-SOFSE) para o português-Brasil.** Dissertação de Mestrado. Disponível em: <https://www.acervodigital.ufpr.br/handle/1884/40964> Acesso: 15 de Junho de 2020.

FIEST KM, SAURO KM, WIEBE S, PATTEN SB, KWON CS, DYKEMAN J, et al. 2017. Prevalence and incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*, 88(3), 296-303. Disponível em: <https://n.neurology.org/content/88/3/296.short> Acesso: 11 de Junho de 2021.

FISHER, R. S., ACEVEDO, C., ARZIMANOGLU, A., BOGACZ, A., CROSS, J. H., ELGER, C. E., & HESDORFFER, D. C. (2014). **Relato oficial da ILAE: Uma definição prática de epilepsia**. *Epilepsia*, 55(4), 475-82. Disponível em: <https://www.ilae.org/files/ilaeGuideline/Definition-2014-Brazil.pdf> Acesso: 22 de Outubro de 2020.

FISHER, R. S., CROSS, J. H., D'SOUZA, C., FRENCH, J. A., HAUT, S. R., HIGURASHI, N., ... & PELTOLA, J. (2017). **Manual de instrução da ILAE 1017 para a Classificação Operacional dos Tipos de Crises Epilépticas**. Disponível em: <https://neurologiahu.paginas.ufsc.br/files/2012/08/Manualdeinstruc%CC%A7a%CC%3o-para-a-Classificac%CC%A7a%CC%83o-das-Crises-da-ILAE-2017.pdf> Acesso: 23 de Julho de 2020.

FLORA DO BRASIL, 2020. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/> Acesso: 29 de Junho de 2021.

FUJIKAWA, D. G. (1996). **The temporal evolution of neuronal damage from pilocarpine-induced status epilepticus**. *Brain research*, 725(1), 11-22. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/000689939600203X> Acesso: 02 de Julho de 2021.

GALLUCCI NETO, J. & MARCHETTI, R.L. (2005). **Aspectos epidemiológicos e relevância dos transtornos mentais associados à epilepsia**. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 27 (4), 323-328. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbp/a/kdw6zCmYTgC4yjXf6vgk38y/abstract/?lang=es> Acesso: 20 de Abril de 2020.

GLOOR, P., OLIVIER, A., QUESNEY, L. F., ANDERMANN, F., & HOROWITZ, S. (1982). **The role of the limbic system in experiential phenomena of temporal lobe epilepsy**. *Annals of neurology*, 12(2), 129-144. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ana.410120203> Acesso: 10 de Abril de 2021.

GOMES, D., PIMENTEL, J., BENTES, C., DE SOUSA, D. A., ANTUNES, A. P., ALVAREZ, A., & e SILVA, Z. C. **Consensus Protocol for the Treatment of Super-Refractory Status Epilepticus**. Acta Med Port 2018 Oct;31(10):598-605. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/a448/53443d69ceab9761c7618782d7a242dce387.pdf>

Acesso: 02 de Maio de 2020.

GOMES, F. M. M. (2016). **Avaliação antiepiléptica do peptídeo neuropolybina no modelo crônico de epilepsia do lobo temporal induzido por pilocarpina em camundongos**. Dissertação de mestrado da Universidade de Brasília. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/21111/1/2016_FlaviaMariaMedeirosGomes.pdf

Acesso: 11 de Janeiro de 2020.

GOFFIN, K., NISSINEN, J., VAN LAERE, K., & PITKÄNEN, A. (2007). **Cyclicality of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat**. Experimental neurology, 205(2), 501-505. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014488607001045> Acesso: 22 de Junho de 2021.

GRISI, M. D. M., GUIMARAES, T., FALEIRO, F., COSTA, A., & OLIVEIRA, J. D. S. (2019). O maracujá suspiro (passiflora Nitida Kunth). Embrapa Cerrados-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E). Disponível: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1116610> Acesso: 20 de Abril de 2020.

GUALTIERI, F., MARINELLI, C., LONGO, D., PUGNAGHI, M., NICHELLI, P. F., MELETTI, S., & BIAGINI, G. (2013). **Hypoxia markers are expressed in interneurons exposed to recurrent seizures**. Neuromolecular medicine, 15(1), 133-146. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12017-012-8203-0> Acesso: 10 de Julho de 2021.

GUERRIERO RM, GIZA CC, ROTENBERG A. 2015. **Glutamate and GABA imbalance following traumatic brain injury**. Curr Neurol Neurosci. May;15(5):27. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11910-015-0545-1> Acesso: 02 de Setembro de 2020.

HAMEED, I. H., COTOS, M. R. C., & HADI, M. Y. (2017). **Antimicrobial, Antioxidant, Hemolytic, Anti-anxiety, and Antihypertensive activity of Passiflora species**. Research

Journal of Pharmacy and Technology, 10(11), 4079-4084. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Imad-](https://www.researchgate.net/profile/Imad-Hameed/publication/322909977_Antimicrobial_Antioxidant_Hemolytic_Antianxiety_and_Antihypertensive_activity_of_Passiflora_species/links/5aa17434aca272d448b37139/Antimicrobial-Antioxidant-Hemolytic-Anti-anxiety-and-Antihypertensive-activity-of-Passiflora-species.pdf)

[Hameed/publication/322909977_Antimicrobial_Antioxidant_Hemolytic_Antianxiety_and_Antihypertensive_activity_of_Passiflora_species/links/5aa17434aca272d448b37139/Antimicrobial-Antioxidant-Hemolytic-Anti-anxiety-and-Antihypertensive-activity-of-Passiflora-species.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Imad-Hameed/publication/322909977_Antimicrobial_Antioxidant_Hemolytic_Antianxiety_and_Antihypertensive_activity_of_Passiflora_species/links/5aa17434aca272d448b37139/Antimicrobial-Antioxidant-Hemolytic-Anti-anxiety-and-Antihypertensive-activity-of-Passiflora-species.pdf) Acesso: 20 de Junho de 2021.

HANADA, T., IDO, K., & KOSASA, T. (2014). **Effect of perampanel, a novel ampa antagonist, on benzodiazepine-resistant status epilepticus in a lithium-pilocarpine rat model.** *Pharmacology research & perspectives*, 2(5), e00063. Disponível em: 20 de Junho de 2021.

HARI, R., & PARKKONEN, L. (2015). **The brain timewise: how timing shapes and supports brain function.** *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1668), 20140170. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rstb.2014.0170> Acesso: 10 de Janeiro de 2020.

HENSHALL, D. C. (2007). **Apoptosis signalling pathways in seizure-induced neuronal death and epilepsy.** *Biochemical society transactions*, 35(2), 421-423. Disponível em: <https://portlandpress.com/biochemsoctrans/article-abstract/35/2/421/65350/Apoptosis-signalling-pathways-in-seizure-induced> Acesso: 22 de Junho de 2020.

HEYSIEATTALAB, S., & SADEGHI, L. (2021). **Dynamic structural neuroplasticity during and after epileptogenesis in a pilocarpine rat model of epilepsy.** *Acta Epileptologica*, 3(1), 1-9. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s42494-020-00037-7> Acesso: 22 de Junho de 2021.

HIGASHI, A., UCHIZONO, K., TANI, Y., HOSHINO, M., YANO, T., & YAZAWA, K. (1979). **Real time online data processing system for the eeg and body movement during the lifetime of a freely moving mouse.** *Medical and Biological Engineering and Computing*, 17(3), 416-418. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02443835> Acesso: 28 de Junho de 2021.

HOFMANN, G., BALGOOYEN, L., MATTIS, J., DEISSEROTH, K., & BUCKMASTER, P. S. (2016). **Hilar somatostatin interneuron loss reduces dentate gyrus inhibition in a mouse model of temporal lobe epilepsy.** *Epilepsia*, 57(6), 977-983. Disponível em:

<https://scholar.google.com.br/scholar?hl=pt->

BR&as_sdt=0%2C5&q=hofmann+2016+gyrus&btnG= Acesso: 03 de Julho de 2021.

HOLANDA, D. K. R., WURLITZER, N. J., DIONISIO, A. P., CAMPOS, A. R., MOREIRA, R. A., DE SOUSA, P. H. M., ... & COSTA, A. M. (2020). **Garlic passion fruit (*Passiflora tenuifila* Killip): Assessment of eventual acute toxicity, anxiolytic, sedative, and anticonvulsant effects using in vivo assays.** Food Research International, 128, 108813. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919306994> Acesso: 23 de Junho de 2021.

IBGE – **Produção Agrícola Municipal, 2018.** Disponível em: [biblioteca. ibge.gov.br](http://biblioteca.ibge.gov.br) Acesso: 30 de Dezembro de 2019.

International League Against Epilepsy- ILAE, (2003). Disponível em: <https://www.ilae.org/> Acesso: 27 de janeiro de 2020.

JACKSON, C., ARDINGER, C., WINTER, K. M., MCDONOUGH, J. H., & MCCARREN, H. S. (2019). **Validating a model of benzodiazepine refractory nerve agent-induced status epilepticus by evaluating the anticonvulsant and neuroprotective effects of scopolamine, memantine, and phenobarbital.** Journal of pharmacological and toxicological methods, 97, 1-12. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1056871918307858> Acesso: 22 de Junho de 2021.

JAVIDAN, M. (2012). **Electroencephalography in mesial temporal lobe epilepsy: a review.** Epilepsy research and treatment. Disponível em: <https://downloads.hindawi.com/archive/2012/637430.pdf> Acesso: 31 de Julho de 2020.

JONES, D. M., ESMAEIL, N., MAREN, S., & MACDONALD, R. L. (2002). **Characterization of pharmacoresistance to benzodiazepines in the rat Li-pilocarpine model of status epilepticus.** Epilepsy Research, 50(3), 301–312. Disponível em: [https://sci-hub.se/10.1016/s0920-1211\(02\)00085-2](https://sci-hub.se/10.1016/s0920-1211(02)00085-2) Acesso: 27 de Junho de 2021.

JÚNIOR, L. R. V., & BERNARDES, P. M. (2015). **GÊNERO *Passiflora* E SUA IMPORTÂNCIA: REVISÃO DE LITERATURA** Katiuss Ferreira Borges¹, Abel Souza da Fonseca², Afonso Vizula de Castro. Encontro Latino Americano de Iniciação científica. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Paula-Mauri-Bernardes/publication/332423982_GENERO_Passiflora_E_SUA_IMPORTANCIA_REVISA

O_DE_LITERATURA/links/5cb4af6ea6fdcc1d499786fb/GENERO-Passiflora-E-SUA-IMPORTANCIA-REVISAO-DE-LITERATURA.pdf Acesso: 12 de Março de 2020.

JUNQUEIRA, K.; FALEIRO, F.; RAMOS, J.; BELLON, G.; JUNQUEIRA, N.; BRAGA, M. (2007). **Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro com base em marcadores moleculares**. Revista Brasileira de Fruticultura, volume 29, n. 3, p.571-5, dez. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/PBp7r9cP4DjsqZLGWBmfnFC/?lang=pt> Acesso: 15 de Março de 2021.

KARAKIS, I. (2019). **Neuroscience and Greek mythology**. Journal of the History of the Neurosciences, 28(1), 1-22. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0964704X.2018.1522049> Acesso: 03 de Outubro de 2019.

KARIMZADEH, F., HOSSEINI, M., MANGENG, D., ALAVI, H., HASSANZADEH, G. R., BAYAT, M., ... & GORJI, A. (2012). **Anticonvulsant and neuroprotective effects of Pimpinella anisum in rat brain**. BMC complementary and alternative medicine, 12(1), 1-9. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1472-6882-12-76> Acesso: 20 de Junho de 2020.

KHAN, H., & NABAVI, S. M. (2019). **Passiflora (Passiflora incarnata)**. In **Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements** (pp. 361-366). Academic Press. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128124918000497> Acesso: 12 de Maio de 2021.

KIM, J. E., & CHO, K. O. (2018). **The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy and EEG monitoring using radiotelemetry system in mice**. Journal of visualized experiments: JoVE, (132). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5931368/> Acesso: 22 de Junho de 2021.

KURUBA, R., HATTIANGADY, B., PARIHAR, V. K., SHUAI, B., & SHETTY, A. K. (2011). **Differential susceptibility of interneurons expressing neuropeptide Y or parvalbumin in the aged hippocampus to acute seizure activity**. PloS one, 6(9), e24493. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0024493> Acesso: 01 de Julho de 2021.

LAXER, K. D., TRINKA, E., HIRSCH, L. J., CENDES, F., LANGFITT, J., DELANTY, N., ... & BENBADIS, S. R. (2014). **The consequences of refractory epilepsy and its**

treatment. *Epilepsy & behavior*, 37, 59-70. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1525505014002054> Acesso: 21 de Janeiro de 2020

LANCASTER, E., & DALMAU, J. (2012). **Neuronal autoantigens—pathogenesis, associated disorders and antibody testing.** *Nature Reviews Neurology*, 8(7), 380. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrneuro.2012.99> Acesso em: 15 de Junho de 2021.

LI, F., LIANG, Y., ZHANG, L., YI, C., LIAO, Y., JIANG, Y., ... & XU, P. (2019). **Transition of brain networks from an interictal to a preictal state preceding a seizure revealed by scalp EEG network analysis.** *Cognitive neurodynamics*, 13(2), 175-181. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11571-018-09517-6> Acesso em: 14 de Junho de 2021.

LIMA, E. S., SCHWERTZ, M. C., SOBREIRA, C. R. C., & BORRAS, M. R. L. (2012). **Efeito hipoglicemiante da farinha do fruto de maracujá-do-mato (*Passiflora nitida* Kunth) em ratos normais e diabéticos.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14, 383-388. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/Mv8czSXmgtgLMY4qwkMPPQq/?format=html&lang=pt> Acesso: 21 de Junho de 2021.

LIU, J., WANG, A., LI, L., HUANG, Y., XUE, P., & HAO, A. (2010). **Oxidative stress mediates hippocampal neuron death in rats after lithium–pilocarpine-induced status epilepticus.** *Seizure*, 19(3), 165-172. Disponível em: https://scholar.google.com.br/scholar?hl=ptBR&as_sdt=0%2C5&q=DO+Barros+++stresse+oxidative+status+epilepticus&btnG= Acesso: 18 de Março de 2021.

LIU, H., YANG, Y., WANG, Y., TANG, H., ZHANG, F., ZHANG, Y., & ZHAO, Y. (2018). **Ketogenic diet for treatment of intractable epilepsy in adults: a meta-analysis of observational studies.** *Epilepsia Open*, 3(1), 9-17. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/epi4.12098> Acesso: 15 de Junho de 2021.

LÖSCHER, W. (2007). **Mechanisms of drug resistance in status epilepticus.** *Epilepsia*, 48, 74-77. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1528-1167.2007.01357.x> Acesso: 27 de Junho de 2021.

LÖSCHER, W. (2011). **Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs.** *Seizure*, 20(5), 359-368. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1059131111000124> Acesso: 22 de Junho de 2021.

LÖSCHER, W. (2015). **Single versus combinatorial therapies in status epilepticus: novel data from preclinical models.** *Epilepsy & Behavior*, 49, 20-25. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1525505015000839> Acesso: 20 de Junho de 2021.

MELETTI, L. M. M., SOARES-SCOTT, M. D., BERNACCI, L. C., ALVARES, V., & de AZEVEDO FILHO, J. A. (2011). **Caracterização de Passiflora mucronata Lam.: nova alternativa de maracujá ornamental.** *Ornamental Horticulture*, 17(1), 87-95. Disponível em: <https://ornamentalhorticulture.emnuvens.com.br/rbho/article/view/721> Acesso: 26 de Abril de 2020.

MENESES, M. S., ROCHA, S. B., KOWACS, P. A., ANDRADE, N. O., SANTOS, H. L., NARATA, A. P., & HUNHEVICZ, S. C. (2005). **Tratamento cirúrgico da epilepsia do lobo temporal: análise de 43 casos consecutivos.** *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 63(3A), 618-624. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/anp/a/FVYvfkJwFkmMDrRkjrmYLJP/?lang=pt> Acesso: 10 de Abril de 2020.

MACDOUGAL, J. M., OCHOA, J., & KROSNICK, S. E. (2018). **Passiflora intricata, an apetalous new species from the Dominican Republic in supersection Auriculatae (Passifloraceae).** *Phytotaxa*, 367(3), 291-296. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203133797> Acesso: 15 de Abril de 2021

MAGIORKINIS, E., SIDIROPOULOU, A. & DIAMANTIS, A. (2010) **“Hallmarks in the history of epilepsy: epilepsy in antiquity,”** *Epilepsy and Behavior*, vol. 17, no. 1, pp. 103–108. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1525505009006052> Acesso: 09 de Abril de 2020.

MAGNI, D. V., SOUZA, M. A., OLIVEIRA, A. P. F., FURIAN, A. F., OLIVEIRA, M. S., FERREIRA, J., ... & FIGHERA, M. R. (2011). **Lipopolysaccharide enhances glutaric acid-induced seizure susceptibility in rat pups: behavioral and electroencephalographic**

approach. Epilepsy research, 93(2-3), 138-148. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920121110003323> Acesso: 22 de Fevereiro de 2021.

MANOUZE, H., GHESTEM, A., POILLERAT, V., BENNIS, M., BA-M'HAMED, S., BENOLIEL, J. J., ... & BERNARD, C. (2019). **Effects of single cage housing on stress, cognitive, and seizure parameters in the rat and mouse pilocarpine models of epilepsy.** Eneuro, 6(4). Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6709207/> Acesso: 15 de Junho de 2020.

MARDER, M., & PALADINI, A. (2002). **GABA-A-Receptor Ligands of Flavonoid Structure.** Current Topics in Medicinal Chemistry, 2(8), 853–867. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12171576/> Acesso: 27 de Junho de 2021.

MATONDO, A., KILEMBE, J. T., MWANANGOMBO, D. T., NSIMBA, B. M., GBOLO, B. Z., BONGO, G. N., ... & MPIANA, P. T. (2020). **Facing COVID-19 via anti-inflammatory mechanism of action: Molecular docking and pharmacokinetic studies of six anti-inflammatory compounds derived from Passiflora edulis.** Researt Square Disponível em: <https://assets.researchsquare.com/files/rs-87703/v1/4413cafc-7458-4a5e-83f6-0122dc248d37.pdf> Acesso: 20 de Janeiro de 2021.

MARX, M., HAAS, C. A., & HÄUSSLER, U. (2013). **Differential vulnerability of interneurons in the epileptic hippocampus.** Frontiers in cellular neuroscience, 7, 167. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2013.00167/full?utm_source=newsletter&utm_medium=email&utm_campaign=Neuroscience-w42-2013 Acesso: 03 de Julho de 2021.

MELO, I. S., SANTOS, Y. M., COSTA, M. A., PACHECO, A. L., SILVA, N. K., CARDOSO-SOUSA, L., ... & CASTRO, O. W. (2016). **Inhibition of sodium glucose cotransporters following status epilepticus induced by intrahippocampal pilocarpine affects neurodegeneration process in hippocampus.** Epilepsy & Behavior, 61, 258-268. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1525505016301111> Acesso: 23 de Junho de 2021.

MENDES, N. F., PANSANI, A. P., CARMANHÃES, E. R. F., TANGE, P., MEIRELES, J. V., OCHIKUBO, M., ... & SUEUR-MALUF, L. (2019). **The blood-brain barrier breakdown during acute phase of the pilocarpine model of epilepsy is dynamic and time-dependent.** Frontiers in neurology, 10, 382. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2019.00382/full> Acesso: 07 de Junho de 2021.

MIRODDI, M., CALAPAI, G., NAVARRA, M., MINCIULLO, P. L., & GANGEMI, S. (2013). **Passiflora incarnata L.: ethnopharmacology, clinical application, safety and evaluation of clinical trials.** *Journal of ethnopharmacology*, 150(3), 791-804. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874113006983> Acesso: 30 de Março de 2019.

MONNERAT, B. Z., VELASCO, T. R., ASSIRATI, J. A., CARLOTTI, C. G., & SAKAMOTO, A. C. (2013). **On the prognostic value of ictal EEG patterns in temporal lobe epilepsy surgery: A cohort study.** *Seizure*, 22(4), 287–291. doi:10.1016/j.seizure.2013.01.019. Disponível em: <https://sci-hub.se/10.1016/j.seizure.2013.01.019> Acesso: 12 de Janeiro de 2021.

MONTEFUSCO-PEREIRA, C. V., DE CARVALHO, M. J., DE ARAÚJO BOLETI, A. P., TEIXEIRA, L. S., MATOS, H. R., & LIMA, E. S. (2013). **Antioxidant, anti-inflammatory, and hypoglycemic effects of the leaf extract from Passiflora nitida Kunth.** *Applied biochemistry and biotechnology*, 170(6), 1367-1378. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12010-013-0271-6> Acesso: 02 de Fevereiro de 2020.

MORAES, M. C., VIEIRA, M. L. C., NOVAES, Q. S., & REZENDE, J. A. (2002). **Susceptibilidade de Passiflora nitida ao Passion fruit woodiness virus.** *Fitopatologia Brasileira*, 27(1), 108-108. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/95BPhP4nqBthcjFyqZmhYTN/?format=html> Acesso: 12 de Maio de 2021.

MOTA, N. S., KVIECINSKI, M. R., ZEFERINO, R. C., DE OLIVEIRA, D. A., BRETANHA, L. C., FERREIRA, S. R., ... & OURIQUE, F. (2018). **In vivo antitumor activity of by-products of Passiflora edulis f. flavicarpa Deg. Rich in medium and long chain fatty acids evaluated through oxidative stress markers, cell cycle arrest and apoptosis induction.** *Food and Chemical Toxicology*, 118, 557-565. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691518303843> Acesso: 16 de Abril de 2021.

MONTANHER, A. B., ZUCOLOTTI, S. M., SCHENKEL, E. P., & FRÖDE, T. S. (2007). **Evidence of anti-inflammatory effects of Passiflora edulis in an inflammation model.**

Journal of Ethnopharmacology, 109(2), 281-288. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874106003680> Acesso: 03 de Novembro de 2020.

MONTENEGRO, M. A., CENDES, F., GUERREIRO, M. M., & GUERREIRO, C. A. M. (2018). **EEG na prática clínica**. Thieme Revinter Publicações LTDA. Disponível em: https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=jCBpDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT4&dq=montenegro+2018+eeg&ots=FR19jTcGS&sig=7b_wDh5H55h_daw4dXH0IIqblik Acesso: 02 de Abril de 2020.

MONTERO, D. A. V., MELETTI, L. M. M., & MARQUES, M. O. M. (2013). **Fenologia do florescimento e características do perfume das flores de Passiflora quadrangularis** L.(maracujá-melão). Ornamental Horticulture, 19(2), 99-106. Disponível em: <https://ornamentalhorticulture.emnuvens.com.br/rbho/article/view/654> Acesso: 13 de Abril de 2020

NARAIN, N., SHANMUGAM, S., & de SOUZA ARAÚJO, A. A. (2019). **Antioxidant, antimicrobial, analgesic, anti-inflammatory and antipyretic effects of bioactive compounds from Passiflora species**. Medicinal Plants, 243-274. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2020/6598434/> Acesso: 10 de Julho de 2020.

NASSIRI-ASL, M., SHARIATI-RAD, S., & ZAMANSOLTANI, F. (2007). **Anticonvulsant effects of aerial parts of Passiflora incarnata extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors**. BMC complementary and alternative medicine, 7(1), 1-6. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1472-6882-7-26> Acesso: 13 de Julho de 2021.

NEGRI, A. P. R., & DE MEDEIROS, D. D. S. (2014). **Identificação de crises epiléticas baseada em sinais de eletroencefalograma utilizando a transformada wavelet**. (Doctoral dissertation, Master'sthesis, Universidade Federal de Santa Catarina). Disponível em: http://www.sps.fee.unicamp.br/anais/vol01/VSPS_a09_ANegri.pdf Acesso: 10 de Janeiro de 2020.

NIEDERMEYER, E. (2003). **The clinical relevance of EEG interpretation**. Clinical Electroencephalography, 34(3), 93-98. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/155005940303400303> Acesso: 30 de Janeiro de 2020.

NIRWAN, N., SIRAJ, F., & VOHORA, D. (2018). **Inverted-U response of lacosamide on pilocarpine-induced status epilepticus and oxidative stress in C57BL/6 mice is independent of hippocampal collapsin response mediator protein-2.** *Epilepsy research*, 145, 93-101. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0920121117306745> Acesso: 23 de Junho de 2021.

NOLASCO, M. N., FERREIRA, W. M., & RIVERO, J. R. L. (2020). **Epidemiologia dos casos de internação hospitalar por epilepsia no estado do Tocantins em 2018.** *Brazilian Journal of Health Review*, 3(6), 17268-17280. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/20729/16558> Acesso: 07 de Abril de 2020.

OGA, S., de FREITAS, P., DA SILVA, A., & HANADA, S. (1984). **Pharmacological Trials of Crude Extract of Passiflora alata.** *Planta Medica*, 50(04), 303–306. doi:10.1055/s-2007-969715 Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6505080/> Acesso: 28 de Junho de 2021.

OLIVEIRA, N. S. M. D. O. (2011). **Avaliação da atividade antioxidante e efeito sobre a melanogênese de extratos das folhas de Passiflora nitida Kunth.** Dissertação de mestrado pela Universidade Federal do Amazonas. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/4865> Acesso: 11 de Março de 2021.

OLIVEIRA, E. M. S. D., REGIS, S. A., & RESENDE, E. D. D. (2011). **Caracterização dos resíduos da polpa do maracujá-amarelo.** *Ciência Rural*, 41(4), 725-730. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-707506> Acesso: 13 de Janeiro de 2020.

OLIVEIRA, J. D. S., Faleiro, F. G., & JUNQUEIRA, N. (2017). **Importância dos maracujás (Passiflora L. spp.) e seu uso comercial.** Embrapa Cerrados-Artigo em periódico indexado (ALICE). Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1086042/1/apagar.pdf> Acesso: 10 de Novembro de 2020.

PARK, J. W., KWON, O. K., RYU, H. W., PAIK, J. H., PARYANTO, I., YUNIATO, P., ... & AHN, K. S. (2018). **Anti-inflammatory effects of Passiflora foetida L. in LPS-stimulated RAW264. 7 macrophages.** *International journal of molecular medicine*, 41(6),

3709-3716. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/ijmm/41/6/3709> Acesso: 12 de Dezembro de 2020.

PATEL, M., BAGARY, M., & MCCORRY, D. (2015). **The management of convulsive refractory status epilepticus in adults in the UK: no consistency in practice and little access to continuous EEG monitoring.** *Seizure*, 24, 33-37. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1059131114003045> Acesso: 21 de Julho de 2020

PERSIKE, D. S., MARQUES-CARNEIRO, J. E., STEIN, M. L. D. L., YACUBIAN, E. M. T., CENTENO, R., CANZIAN, M., & FERNANDES, M. J. D. S. (2018). **Altered proteins in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy.** *Pharmaceuticals*, 11(4), 95. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8247/11/4/95> Acesso: 10 de Abril de 2020.

PESTANA, R. D. R. F. (2009). **Geração de espécies reativas de oxigênio e morte neuronal no modelo de epilepsia do lobo temporal induzido por pilocarpina em ratos.** (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo). Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/47/47135/tde20102010154826/publico/pestana_me.pdf Acesso: 20 de Junho de 2021.

PESTANA, R. R., KINJO, E. R., HERNANDES, M. S., & BRITTO, L. R. (2010). **Reactive oxygen species generated by NADPH oxidase are involved in neurodegeneration in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy.** *Neuroscience letters*, 484(3), 187-191. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304394010011079> Acesso: 28 de Junho de 2021.

PHELAN, K. D., SHWE, U. T., WILLIAMS, D. K., GREENFIELD, L. J., & ZHENG, F. (2015). **Pilocarpine-induced status epilepticus in mice: a comparison of spectral analysis of electroencephalogram and behavioral grading using the Racine scale.** *Epilepsy research*, 117, 90-96. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0920121115300504> Acesso: 25 de Junho de 2021.

PITKÄNEN, A., LÖSCHER, W., VEZZANI, A., BECKER, A. J., SIMONATO, M., LUKASIUK, K., ... & BECK, H. (2016). **Advances in the development of biomarkers for epilepsy.** *The Lancet Neurology*, 15(8), 843-856. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1474442216001125> Acesso: 05 de Maio de 2020.

RACHID, M. A. (2017). **Avaliação do desfecho pós-cirúrgico de pacientes com epilepsia do lobo temporal farmacorresistente** do HC-UFG e caracterização farmacoterapêutica pré e pós-cirúrgica. *Rev Med Minas Gerais*, 2019(29). Disponível em: <http://rmmg.org/artigo/detalhes/2590> Acesso: 01 de Junho de 2021.

RACINE, R. J. (1972). **Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure.** *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 32(3), 281-294. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0013469472901770> Acesso: 22 de Junho de 2021.

REDDY, D. S., ZAAYMAN, M., KURUBA, R., & WU, X. (2021). **Comparative profile of refractory status epilepticus models following exposure of cholinergic agents pilocarpine, DFP, and soman.** *Neuropharmacology*, 191, 108571. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0028390821001258> Acesso em: 20 de Junho de 2021.

REDDY, D. S., & KURUBA, R. (2013). **Experimental models of status epilepticus and neuronal injury for evaluation of therapeutic interventions.** *International journal of molecular sciences*, 14(9), 18284-18318. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/14/9/18284> Acesso: 23 de Maio de 2020.

REIF, P. S., STRZELCZYK, A., & ROSENOW, F. (2016). **The history of invasive EEG evaluation in epilepsy patients.** *Seizure*, 41, 191-195. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S105913111630022X> Acesso: 03 de Março de 2021.

REKTOR, I., SCHACHTER, S. C., ARZY, S., BALOYANNIS, S. J., BAZIL, C., BRÁZDIL, M., ... & KORCZYN, A. D. (2013). **Epilepsy, behavior, and art (Epilepsy, Brain, and Mind, part 1).** *Epilepsy & Behavior*, 28(2), 261-282. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1525505013001509> Acesso: 18 de Junho de 2020.

RENISUS. 2020. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/junho/06/renisus.pdf> Acesso: 20 de Junho de 2020.

RIBEIRO, P. T. (2015). **Desenvolvimento de emulsões utilizando extrato seco de Passiflora Nitida Kunth**. Dissertação de Mestrado na Universidade Federal do Amazonas. Disponível em:

SALLES, B. C. C., DA SILVA, M. A., TANIGUTHI, L., FERREIRA, J. N., DA ROCHA, C. Q., VILEGAS, W., ... & de ARAÚJO PAULA, F. B. (2020). **Passiflora edulis leaf extract: evidence of antidiabetic and antiplatelet effects in rats**. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 43(1), 169-174. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/43/1/43_b18-00952/_article/-char/ja/ Acesso: 21 de Junho de 2021.

SAFAHANI, M., ALIGHOLI, H., & ASADI-POOYA, A. A. (2020). **Management of antiepileptic drug–induced nutrition-related adverse effects**. Neurological Sciences, 1-12. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10072-020-04573-5> Acesso em 06 de Maio de 2020.

SANTOS, L. F., FREITAS, R. L., XAVIER, S. M., SALDANHA, G. B., & FREITAS, R. M. (2008). **Neuroprotective actions of vitamin C related to decreased lipid peroxidation and increased catalase activity in adult rats after pilocarpine-induced seizures**. Pharmacology biochemistry and behavior, 89(1), 1-5. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S009130570700319X> Acesso: 22 de Junho de 2021.

SCHARFMAN, H. E. (2016). **The enigmatic mossy cell of the dentate gyrus**. Nature Reviews Neuroscience, 17(9), 562-575. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrn.2016.87> Acesso: 02 de Julho de 2021.

SCHEFFER, I. E., BERKOVIC, S., CAPOVILLA, G., CoNNOLLY, M. B., FRENCH, J., GUILHOTO, L., ... & ZUBERI, S. M. (2017). **ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology**. Epilepsia, 58(4), 512-521. Disponível: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/epi.13709> Acesso: 12 de Maio de 2021.

SCORZA, F. A., ARIDA, R. M., NAFFAH-MAZZACORATTI, M. D. G., SCERNI, D. A., CALDERAZZO, L., & CAVALHEIRO, E. A. (2009). **The pilocarpine model of epilepsy: what have we learned?**. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 81(3), 345-365. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/G9GyM4R6qFxxKbjMxJDk34p/?lang=en> Acesso: 22 de Junho de 2021.

SEIFFERT, I., VAN DIJK, R. M., KOSKA, I., DI LIBERTO, V., MÖLLER, C., PALME, R., ... & POTSCHKA, H. (2019). **Toward evidence- based severity assessment in rat models with repeated seizures: III. Electrical post- status epilepticus model.** *Epilepsia*, 60(8), 1539-1551. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/epi.16095> Acesso: 13 de Janeiro de 2021.

SHAFI, M. (2017). 25. **Probing Brain Networks with Transcranial Magnetic Stimulation and EEG.** *Biological Psychiatry*, 81(10), S11. Disponível em: [https://www.biologicalpsychiatryjournal.com/article/S0006-3223\(17\)30156-7/abstract](https://www.biologicalpsychiatryjournal.com/article/S0006-3223(17)30156-7/abstract) Acesso: 15 de Junho de 2021.

SHARMA, S., PUTTACHARY, S., THIPPESWAMY, A., KANTHASAMY, A. G., & THIPPESWAMY, T. (2018). **Status epilepticus: behavioral and electroencephalography seizure correlates in kainate experimental models.** *Frontiers in neurology*, 9, 7. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2018.00007/full> Acesso: 23 de Junho de 2021.

SILVA, D. C., FREITAS, A. L. P., BARROS, F. C. N., LINS, K. O., ALVES, A. P. N., ALENCAR, N. M., ... & DE PAULA, R. C. (2012). **Polysaccharide isolated from Passiflora edulis: Characterization and antitumor properties.** *Carbohydrate polymers*, 87(1), 139-145. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861711006205> Acesso: 21 de Junho de 2020.

SILVEIRA, G., de OLIVEIRA, ACP, & TEIXEIRA, AL (2012). **Insights sobre inflamação e epilepsia das ciências básicas e clínicas.** *Journal of Clinical Neuroscience*, 19 (8), 1071-1075. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0967586812000094> Acesso: 04 de Março de 2020.

SIMON, R. P., BENOWITZ, N., HEDLUND, R., & COPELAND, J. (1985). **Influence of the blood-brain pH gradient on brain phenobarbital uptake during status epilepticus.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 234(3), 830-835. Disponível: <https://jpet.aspetjournals.org/content/234/3/830.short> Acesso: 27 de Junho de 2021.

SMOLENSKY, I. V., ZUBAREVA, O. E., KALEMENEV, S. V., LAVRENTYEVA, V. V., DYOMINA, A. V., KAREPANOV, A. A., & ZAITSEV, A. V. (2019). **Impairments in cognitive functions and emotional and social behaviors in a rat lithium-pilocarpine**

model of temporal lobe epilepsy. Behavioural brain research, 372, 112044. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166432819304206> Acesso: 24 de Junho de 2021.

SINGH, B., SINGH, D., & GOEL, R. K. (2012). **Dual protective effect of Passiflora incarnata in epilepsy and associated post-ictal depression.** Journal of ethnopharmacology, 139(1), 273-279. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874111008099> Acesso: 27 de Junho de 2021.

SOUZA, V. C., & LORENZI, H. J. (2008). **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II.** Nova Odessa: Instituto Plantarum. Disponível em: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=AGB.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=242089> Acesso: 20 de Julho de 2020.

TANG, F., HARTZ, A., & BAUER, B. (2017). **Drug-resistant epilepsy: multiple hypotheses, few answers.** Frontiers in neurology, 8, 301. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2017.00301/full> Acesso: 18 de Julho de 2020.

TEIXEIRA, L. S., LIMA, A. S., BOLETI, A. P. A., LIMA, A. A., LIBÓRIO, S. T., DE PAULA, L., ... & LIMA, E. S. (2014). **Effects of Passiflora nitida Kunth leaf extract on digestive enzymes and high caloric diet in rats.** Journal of natural medicines, 68(2), 316-325. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11418-013-0800-1> Acesso: 17 de Março de 2020.

TERRONE, G., BALOSSO, S., PAULETTI, A., RAVIZZA, T., & VEZZANI, A. (2020). **Inflammation and reactive oxygen species as disease modifiers in epilepsy.** Neuropharmacology, 167, 107742. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0028390819303016> Acesso: 22 de Abril de 2020.

THOM, M. (2014). **Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review.** Neuropathology and applied neurobiology, 40(5), 520-543. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nan.12150> Acesso: 02 de Maio de 2020.

TORCHI, C., BELIZARIO, G., UEDA, S., & SILVA, A. **Seguimento do uso da Passiflora Incarnata no tratamento da insônia.** II Simpósio de assistência farmacêutica. Disponível em: <http://www.saocamilo-sp.br/novo/eventos-noticias/saf/resumo-27.pdf>. Acesso em, 29 de Junho de 2020.

TREIMAN, D. M., WALTON, N. Y., & KENDRICK, C. (1990). **A progressive sequence of electroencephalographic changes during generalized convulsive status epilepticus.** *Epilepsy research*, 5(1), 49-60. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0920121190900654> Acesso em: 22 de Junho de 2021.

TURSKI, W. A., CAVALHEIRO, E. A., SCHWARZ, M., CZUCZWAR, S. J., KLEINROK, Z., & TURSKI, L. (1983). **Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioural, electroencephalographic and neuropathological study.** *Behavioural brain research*, 9(3), 315-335. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0166432883901365> Acesso: 10 de Novembro de 2020.

ULLOA, C. U., ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P., BECK, S., BELGRANO, M. J., BERNAL, R., BERRY, P. E., ... & JØRGENSEN, P. M. (2017). **An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas.** *Science*, 358(6370), 1614-1617. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/358/6370/1614.abstract> Acesso: 02 de Fevereiro de 2020.

VIEIRA, J. C. P., de SOUZA, L. G., & DE SOUZA ANDRADE FILHO, A. (2019). **Desfechos associados à epilepsia de início precoce e tardio em pacientes com idade economicamente ativa.** *Revista Brasileira de Neurologia e Psiquiatria*, 23(3). Disponível em: <https://rbnp.emnuvens.com.br/rbnp/article/view/578> Acesso: 12 de Março de 2020.

VIZUETE, A. F. K., HENNEMANN, M. M., GONÇALVES, C. A., & DE OLIVEIRA, D. L. (2017). **Phase-dependent Astroglial alterations in Li-pilocarpine-induced status epilepticus in young rats.** *Neurochemical research*, 42(10), 2730-2742. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-017-2276-y> Acesso: 21 de Junho de 2021.

VOGLER, E. C., FLYNN, D. T., BUSCIGLIO, F., BOHANNAN, R. C., TRAN, A., MAHAVONGTRAKUL, M., & BUSCIGLIO, J. A. (2017). **Low cost electrode assembly for eeg recordings in mice.** *Frontiers in neuroscience*, 11, 629. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2017.00629/full> Acesso: 27 de Junho de 2021.

WANG, X., YIN, F., LI, L., KONG, H., YOU, B., ZHANG, W., ... & PENG, J. (2018). **Intracerebroventricular injection of miR-146a relieves seizures in an immature rat model of lithium-pilocarpine induced status epilepticus.** *Epilepsy research*, 139, 14-19. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0920121117300190> Acesso: 20 de Junho de 2021.

ZHAN, R. Z., & NADLER, J. V. (2009). **Enhanced tonic GABA current in normotopic and hilar ectopic dentate granule cells after pilocarpine-induced status epilepticus.** *Journal of neurophysiology*, 102(2), 670-681. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/jn.00147.2009> Acesso: 01 de Julho de 2021.

ZHAO, X., ZHOU, Z. Q., XIONG, Y., CHEN, X., XU, K., LI, J., ... & ZHU, W. Z. (2019). **Reduced interhemispheric white matter asymmetries in medial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis.** *Frontiers in neurology*, 10, 394. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2019.00394/full> Acesso: 16 de Janeiro de 2021.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação dos efeitos neuroprotetor e antiepiléptico do extrato de *Passiflora nitida* em modelo agudo de epilepsia do lobo temporal", protocolada sob o CEUA nº 4304060919 (ID 001898), sob a responsabilidade de **Ana Leonor Abrahão Nencioni** e equipe; *Geane Antiques Lourenço* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Butantan (CEUAIB) na reunião de 17/10/2019.

We certify that the proposal "Evaluation of the neuroprotective and antiepileptic effects of *Passiflora nitida* extract in the model of acute temporal lobe epilepsy", utilizing 30 Heterogenics rats (30 males), protocol number CEUA 4304060919 (ID 001898), under the responsibility of **Ana Leonor Abrahão Nencioni** and team; *Geane Antiques Lourenço* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Butantan Institute (CEUAIB) in the meeting of 10/17/2019.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de [10/2019](#) a [12/2019](#) Área: [Farmacologia](#)

Origem: [Biotério Central](#)

Espécie: [Ratos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [2 a 3 meses](#)

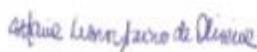
N: [30](#)

Linhagem: [Wistar](#)

Peso: [180 a 220 g](#)

Local do experimento: Laboratório de Farmacologia

São Paulo, 02 de junho de 2020



Maria Leonor Sarno de Oliveira
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan



Nancy Oguiura
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto Butantan