

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

ANNA PAULA AMARO GERVAZIO DA SILVA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE GERGELIM (*Sesamum indicum*
Lim) SOBRE EPILEPTOGÊNESE INDUZIDA POR PILOCARPINA EM RATOS
WISTAR**

JOÃO PESSOA

2017

ANNA PAULA AMARO GERVAZIO DA SILVA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE GERGELIM (*Sesamum indicum*
Lim) SOBRE EPILEPTOGÊNESE INDUZIDA POR PILOCARPINA EM RATOS
WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Nutrição. Área de concentração: Clínica e Epidemiologia aplicada à Nutrição.

Orientadora: Prof^a. Dra. Liana Clébia de Moraes Pordeus

JOÃO PESSOA
2017

S586e Silva, Anna Paula Amaro Gervazio da.
Efeito da suplementação com óleo de gergelim (*Sesamum indicum* Lim) sobre epileptogênese induzida por pilocarpina em Ratos Wistar / Anna Paula Amaro Gervazio da Silva. - João Pessoa, 2017.
83 f. : il. -

Orientadora: Liana Clébia de Moraes Pordeus.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS

1. Óleo de gergelim. 2. Ácidos graxos poliinsaturados.
3. Anticonvulsivante. 4. Epilepsia. I. Título.

UFPB/BC

CDU: 664.34(043)

ANNA PAULA AMARO GERVAZIO DA SILVA

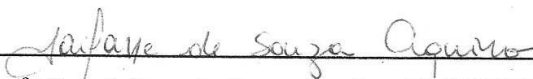
**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO DE GERGELIM (*Sesamum indicum*
Lim) SOBRE EPILEPTOGÊNESE INDUZIDA POR PILOCARPINA EM RATOS
WISTAR.**

Dissertação de Mestrado aprovada em 31/03/2017

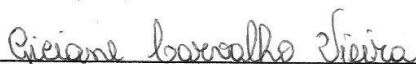
BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dra. Liana Clébia de Moraes Pordeus- PPGCN/CCS/UFPB
Coordenadora da Banca Examinadora



Prof^a. Dra. Jailane de Souza Aquino- PPGCN/CCS/UFPB
Examinador Interno



Prof^a. Dra. Giciane Carvalho Vieira- PgPNSB/CCS/UFPB
Examinador Externo



Prof. Dr. Hemerson Iury Ferreira Magalhães- PPGCN/CCS/UFPB
Examinador Suplente Interno

Prof^a. Dra. Caliandra Maria Bezerra Luna Lima- DFP/CCS/UFPB
Examinador Suplente Externo

Dedico este trabalho à Deus por todas as bênçãos à mim concedidas e a meus pais, pois sem eles não teria chegado até o fim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que esteve presente em todos os momentos, sentiu as minhas dificuldades e nos momentos de angústia me amparou com sua mão e me fez sentir que seria possível e que um dia, no momento certo, eu estaria aqui alcançando este título.

A minha orientadora Dra. Liana Clébia de Moraes Pordeus que se mostrou além de uma grande professora, uma grande amiga, confiando na minha capacidade e me incentivando a crescer cada dia mais na vida acadêmica.

A Prof^a. Dra Giciane Carvalho Vieira, que aceitou o convite para me auxiliar durante a pesquisa, me recebendo com muito amor, carinho e acima de tudo com respeito durante os momentos de orientações.

Aos membros da banca, por terem aceitado o convite e me passado as sugestões necessárias para abrilhantar este trabalho, em especial a Prof^a. Dra Jailane de Souza Aquino, que desde o início se mostrou prestativa e sempre disposta a responder minhas dúvidas e questionamentos.

Aos meus colegas de laboratório Crispim Duarte, Renan Braga, Kardilândia Oliveira, Raquel Pereira e Priscilla Lins, que foram peças fundamentais no desenvolvimento da pesquisa e na coleta dados.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo importante e fundamental auxílio financeiro da bolsa de estudo durante este período.

A meus pais Antônio Gildo e Ana Maria, vocês foram o estímulo do início e a força necessária ao longo desses anos. Obrigada por terem suportado os encargos dos meus estudos, e nos momentos de ansiedade e aflição, terem me dado seu colo me passando todo o amor necessário para que eu seguisse em frente.

A meu irmão Brenner Gervazio, a seu modo sempre se orgulhou de mim e confiou na minha capacidade, me passando força e fazendo com que eu acreditasse que ser Mestre seria possível.

Aos meus amigos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste sonho, em especial à Pâmella Keyla, que não exitou em me ajudar nos dias dos meus experimentos e ao dividir apartamento comigo, suportou meus momentos de mau-humor e encheu meus dias com sua alegria.

A jornada é árdua e difícil, porém se torna mais facilmente vencida quando além dos nossos próprios passos, outro pés compartilham também desta aventura. Todos vocês foram o estímulo e a ajuda necessária para concretização deste sonho, **Obrigada.**

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o mesmo de antes”

Marthin Luther King.

RESUMO

O óleo de gergelim (*Sesamum indicum* Lim) é rico em ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), que são essenciais para a integridade e o desenvolvimento cerebral, e em antioxidantes naturais que apresentam potencialidade anticonvulsivante em modelos animais. No entanto, o potencial efeito do óleo de gergelim no tratamento da epilepsia refratária, foi pouco estudado, esta doença acomete pacientes que não respondem satisfatoriamente ao tratamento medicamentoso e necessitando assim de estratégias não farmacológicas como o uso da dieta cetogênica e dos PUFAs. O estudo tem como objetivo investigar os efeitos da suplementação do óleo de gergelim sobre epileptogênese induzida por pilocarpina. Esse trabalho foi submetido e aprovado com protocolo nº 002/2016 pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA). Foram utilizados ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) que foram mantidos sob padrão de iluminação (ciclo claro/escuro, 12/12h) e randomizados em cinco grupos com 8 animais cada: água destilada (GW), óleo mineral (GMO), óleo de gergelim torrado (RSO), óleo de gergelim natural (NSO) e diazepam (GD). Os animais receberam as substâncias via orogástrica na dose de 5 mL/kg uma vez ao dia durante 30 dias. O grupo GD foi composto por animais que também receberam água destilada via orogástrica e trinta minutos antes da indução do *status epilepticus*, foram tratados via intraperitoneal (i.p.) com diazepam na dose de 5 mg/kg. No 31º dia foi aplicada pilocarpina na dose de 350 mg/kg (i.p.) para indução do *status epilepticus* em todos os grupos. As alterações comportamentais e a intensidade das convulsões foram analisadas de acordo com a escala de Racine. Após o experimento os animais foram anestesiados e eutanasiados por exanguinamento, o sangue foi utilizado para análises bioquímicas e o cérebro foi retirado para análises histológicas. [Houve uma redução no consumo da ração nos grupos RSO ($148,2 \pm 5,2$ g, $p < 0,05$) e NSO ($137,6 \pm 5,9$ g, $p < 0,001$) em comparação ao grupo GW (GW $166,1 \pm 3,5$ g) e GMO ($171,1 \pm 6,1$ g). Não houve diferença ($p > 0,05$) entre os grupos no ganho de peso final dos animais (GW= $81,74 \pm 8,64$ g; GMO= $66,24 \pm 9,29$ g; RSO= $68,98 \pm 5,99$ g; NSO= $84,3 \pm 6,98$ g). Nos exames bioquímicos o grupo RSO apresentou níveis mais baixos de Colesterol ($58 \pm 2,89$ mg $p < 0,05$) quando comparados ao grupo GW ($73 \pm 5,91$ mg). O grupo NSO apresentou níveis mais baixos ($p < 0,05$) de triglicerídios ($59 \pm 6,78$ mg) e VLDL ($11,8 \pm 1,35$), com aumento do HDL ($45 \pm 0,96$, $p < 0,05$) quando comparados com o grupo GW ($77,75 \pm 5,16$; $15,55 \pm 1,03$; $36,75 \pm 2,76$, respectivamente). Na atividade anticonvulsivante apresentaram tempo de latência maior para aparecimento do grau 3 da escala de Racine os grupos RSO ($533,5 \pm 63,21$ s, $p < 0,01$) e GD ($600,3 \pm 61,84$ s, $p < 0,001$) quando comparados ao grupo GW ($316,9 \pm 37,5$ s). Os grupos NSO e GD conseguiram proteger os animais contra crises do tipo tônico-clônicas e generalizadas ($3178 \pm 251,4$ s, $p < 0,01$; $3600 \pm 0,0$ s, $p < 0,001$, respectivamente), quando comparados ao grupo GW ($2070 \pm 273,3$ s). Na análise histológica o grupo GMO apresentou diminuição do número de células neuronais, desarranjo das camadas celulares e destruição de tecido a nível do córtex cerebral e hipocampo. Enquanto que os grupos GW, RSO, NSO e GD preservaram a organização das camadas corticais e hipocámpais, assim como as ligações existentes entre as células neuronais]. Conclui-se que o óleo de gergelim natural apresenta potencial anticonvulsivante e neuroprotetor, podendo ser utilizada como coadjuvante no tratamento farmacológico da epilepsia refratária.

Palavras-chave: Ácidos graxos poliinsaturados, Anticonvulsivante, Epilepsia, Óleo de Gergelim

ABSTRACT

Sesame oil (*Sesamum indicum* Lim) is rich in polyunsaturated fatty acids (PUFAs), which are essential for brain integrity and development, and in natural antioxidants that have anticonvulsive potential in animal models. However, the potential effect of sesame oil on the treatment of refractory epilepsy has been poorly studied. This disease affects patients who do not respond satisfactorily to drug treatment and thus need non-pharmacological strategies such as ketogenic diet and PUFAs. The objective of this study was to investigate the effects of sesame oil supplementation on pilocarpine-induced epileptogenesis. This work was submitted and approved with protocol n ° 002/2016 by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA). Wistar (*Rattus norvegicus*) rats were kept under illumination pattern (light/dark cycle, 12/12h) and randomized into five groups with 8 animals each: distilled water (GW), mineral oil (GMO), oil of roasted sesame seeds (RSO), natural sesame oil (NSO) and diazepam (GD). The animals received the substances via orogastric at a dose of 5 ml/kg once daily for 30 days. The GD group consisted of animals that also received distilled water via orogastric and thirty minutes before the induction of status epilepticus, were treated intraperitoneally (i.p.) with diazepam at a dose of 5 mg/kg. On the 31st day, pilocarpine at a dose of 350 mg/kg (i.p.) was used for induction of status epilepticus in all groups. Behavioral changes and seizure intensity were analyzed according to the Racine scale. After the experiment the animals were anesthetized and euthanized by exanguination, the blood was used for biochemical analyzes and the brain was removed for histological analysis. [There was a reduction in feed intake in the RSO groups (148.2 ± 5.2 g, $p < 0.05$) and NSO (137.6 ± 5.9 g, $p < 0.001$) compared to the GW group (166.1 ± 3.5 g) and GMO (171.1 ± 6.1 g). There was no difference ($p > 0.05$) between the groups in the final weight gain of the animals (GW = $81, 74 \pm 8.64$ g, GMO = 66.24 ± 9.29 g, RSO = 68.98 ± 5.99 g, NSO = 84.3 ± 6.98 g). In the biochemical tests, the RSO group had lower levels of Cholesterol (58 ± 2.89 mg $p < 0.05$) when compared to the GW group (73 ± 5.91 mg). The NSO group presented lower levels ($p < 0.05$) of triglycerides (59 ± 6.78 mg) and VLDL (11.8 ± 1.35), with an increase in HDL (45 ± 0.96 , $p < 0.05$) when compared with the GW group (77.75 ± 5.16 , 15.55 ± 1.03 , 36.75 ± 2.76 , respectively). In the anticonvulsant activity, there was a greater latency time for the appearance of grade 3 of the Racine scale in the RSO groups (533.5 ± 63.21 s, $p < 0.01$) and GD (600.3 ± 61.84 s, $p < 0.001$) when compared to the GW group (316.9 ± 37.5 s). The NSO and GD groups were able to protect the animals against tonic-clonic and generalized seizures (3178 ± 251.4 s, $p < 0.01$, 3600 ± 0.0 s, $p < 0.001$, respectively) when compared to the group GW (2070 ± 273.3 s). In the histological analysis the GMO group presented a decrease in the number of neuronal cells, disarrangement of the cellular layers and destruction of tissue in the cerebral cortex and hippocampus. While the groups GW, RSO, NSO and GD preserved the organization of the cortical and hippocampal layers, as well as the connections between the neuronal cells]. It is concluded that natural sesame oil has an anticonvulsive and neuroprotective potential and can be used as a coadjuvant in the pharmacological treatment of refractory epilepsy.

Key words: Anticonvulsant, Epilepsy, Polyunsaturated fatty acids, Sesame oil

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Dissertação

Figura 1 Estrutura química dos ácidos linoleico e linolênico	23
Figura 2 Sementes e óleo de gergelim	26
Figura 3 Desenho do estudo experimental	32
Figura 4 Desenho do estudo para indução da fase aguda da epilepsia	35
Figura 5 Etapas do processamento histológico	36
Figura 6 Microtômo utilizado na preparação de lâminas histológicas	37

Artigo

Figura 1- Efeito da suplementação com óleo de gergelim sobre o consumo da ração	57
Figura 2- Efeito da suplementação com óleo de gergelim sobre o ganho de peso	58
Figura 3- Efeito da suplementação com óleo de gergelim no grau 2 da escala de Racine.....	60
Figura 4- Efeito da suplementação com óleo de gergelim no grau 3 da escala de Racine.....	60
Figura 5- Efeito da suplementação com óleo de gergelim no grau 4 da escala de Racine.....	61
Figura 6- Efeito da suplementação com óleo de gergelim no grau 5 da escala de Racine	62
Figura 7- Fotomicrografias do córtex cerebral dos animais após suplementação	63
Figura 8- Fotomicrografias do hipocampo dos animais após suplementação	64
Figura 9- Fotomicrografias do córtex cerebral dos animais com <i>status epilepticus</i>	65
Figura 10- Fotomicrografias do hipocampo dos animais com <i>status epilepticus</i>	66

TABELAS

Dissertação

Tabela 1- Composição nutricional do óleo de gergelim torrado e natural	30
--	----

Artigo

Tabela 1- Composição nutricional do óleo de gergelim torrado e natural	54
Tabela 2- Efeito da suplementação com óleo de gergelim sobre os parâmetros bioquímicos de ratos Wistar	59

QUADROS

Dissertação

Quadro 1- Composição nutricional das sementes de gergelim	27
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
AI	Ingestão adequada
ALA	Alfa-linolênico
ATP	Adenosina trifosfato
GHE	Barreira hematoencefálica
CBD	Canabidiol
DAE	Drogas antiepiléticas
DC	Dieta cetogênica
DHA	Ácido docosahexaenóico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPA	Ácido eicosapentaenoico
ER	Epilepsia refratária
GABA	Sistema gabaérgico
GD	Grupo diazepam
GW	Grupo água destilada
GMO	Grupo óleo mineral
HDL	Lipoproteína de alta densidade
i.p	Intraperitoneal
IL-1	Interleucina-1
IL-2	Interleucina-2
IL-6	Interleucina-6
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
NSO	Grupo óleo de gergelim natural
Ômega-3	Ácido linolênico
Ômega-6	Ácido linoleico
PUFAs	Ácidos graxos poli-insaturados
RSO	Grupo óleo de gergelim torrado
SE	<i>Status Epilepticus</i>
SNC	Sistema nervoso central
THC	Tetrahydrocannabinol
TNF-α	Fator de necrose tumoral- α
VLDL	Lipoproteína de muita baixa densidade

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 FISIOPATOLOGIA DA EPILEPSIA	17
2.1.1 Epilepsia refratária	19
2.1.2 Tratamentos não farmacológicos.....	20
2.2 PRINCIPAIS AÇÕES DOS LIPÍDIOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL	22
2.2.1 Caracterização de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAS)	22
2.2.2 Ações dos ácidos graxos nas funções cerebrais	23
2.3 ÓLEO DE GERGELIM E SEUS EFEITOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS ...	25
3 ABORDAGEM METODOLÓGICA.....	30
3.1 ÓLEOS EXPERIMENTAIS E FÁRMACOS	30
3.2 DESENHO EXPERIMENTAL	31
3.3 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO	33
3.4 AVALIAÇÃO DO PESO E CONSUMO ALIMENTAR	33
3.5 INDUÇÃO À FASE AGUDA DA EPILEPSIA.....	34
3.6 EUTANÁSIA.....	35
3.7 EXAMES BIOQUÍMICOS	35
3.8 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	36
4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
REFERÊNCIAS	39
APÊNDICES	49
ARTIGO	50
RESULTADOS NÃO PUBLICADOS	76
ANEXOS.....	82

1 INTRODUÇÃO

As doenças neurológicas surgem de causas de complexidade variada, algumas são resultantes de uma simples deficiência ou excesso de determinado nutriente, enquanto outras possuem causas mais complexas (REMIG; WEEDEN, 2012). A epilepsia é uma doença neurológica crônica, caracterizada por convulsões recorrentes e não provocadas, que ocorrem quando há excitação anormal da atividade elétrica no cérebro (KOBOW et al., 2012).

De acordo com Moreira (2004) um percentual variável de aproximadamente 30% dos pacientes epiléticos, apresentam quadro clínico de crises de difícil controle terapêutico, mesmo fazendo uso de diversas combinações medicamentosas, correspondendo a chamada epilepsia refratária (ER). Por esta razão, nos últimos anos, as estratégias de tratamento não farmacológico para ER são cada vez mais consideradas, dentre elas, destaca-se o uso da dieta cetogênica e dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) (SIERRA et al., 2012).

Os PUFAs são essenciais para a integridade e o desenvolvimento cerebral, sua deficiência está relacionada com o surgimento de diversos transtornos neurológicos (PUSCEDDU et al., 2015). Os ácidos graxos consumidos na dieta, particularmente os PUFAs, são importantes para o desenvolvimento cerebral, tanto no período fetal, como no pós-natal (UAUY; DANGOUR, 2006). As mudanças na dieta representam uma estratégia viável para melhorar a capacidade cognitiva e proteger o cérebro contra danos, contrariando assim os efeitos do envelhecimento neuronal (LOGAN, 2003). Existem evidências de que os PUFAs alteram a excitabilidade nos neurônios e, portanto são neuroprotetores, além de demonstrarem potencialidade ansiolítica e anticonvulsivante em camundongos Swiss (LUNA, 2015).

Os PUFAs exercem papel essencial na construção da estrutura do cérebro sendo componentes das membranas celulares, também atuando como mensageiros (moléculas de sinalização), além de estarem envolvidos na síntese de neurotransmissores cerebrais. A deficiência de PUFAs pode tornar o organismo vulnerável ao desenvolvimento de distúrbios neurológicos e psiquiátricos (CHALON, 2006).

Dentre os óleos vegetais ricos em ácidos graxos de cadeia longa ou poliinsaturados, destaca-se o óleo de gergelim (*Sesamun indicum* Lim) (CARVALHO et al., 2012). O óleo de gergelim é rico em ácidos graxos insaturados, apresenta maior estabilidade oxidativa quando comparado com a maioria dos óleos vegetais devido à sua composição lipídica e a presença de antioxidantes naturais como: sesamina, sesamolina, sesamol e gama tocoferol (MONTEIRO et al., 2014).

O gergelim da família *Pedaliaceae*, é a mais antiga oleaginosa conhecida. Essa espécie de distribuição tropical e subtropical é tolerante à seca e sua produção é proveniente de pequenos e médios agricultores (LAGO et al., 2001). A Embrapa (2007) classificou o gergelim como a nona oleaginosa mais plantada no mundo, sendo considerado também como um alimento de alto valor nutritivo.

De acordo com John et al., (2015) o óleo de gergelim é utilizado na Índia para corrigir desordens do sistema nervoso central, assim como, diminuir níveis de colesterol e triglicerídios em modelos agudos crônicos de hiperlipidemia, o estudo mostra que o óleo apresenta efeito antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora.

Conhecendo a importância dos lipídios dietéticos no desenvolvimento do sistema nervoso, a suplementação com óleo de gergelim pode representar um potencial coadjuvante no tratamento da epilepsia, propiciando melhoria nos aspectos clínicos e na qualidade de vida dos pacientes acometidos por esse transtorno.

Considerando tais aspectos, esse trabalho tem como objetivo geral investigar se a suplementação com óleo de gergelim (*Sesamum indicum* L.) apresenta efeito anticonvulsivante em ratos Wistar induzidos à epilepsia. Os objetivos específicos são: avaliar peso e consumo alimentar; investigar possíveis ações do óleo de gergelim sobre o sistema nervoso central de ratos Wistar; investigar se o óleo de gergelim torrado ou natural apresentam capacidade anticonvulsivante após indução da fase aguda da epilepsia; investigar possíveis alterações histológicas no cérebro dos animais; avaliar possíveis alterações em exames bioquímicos (glicose, triglicerídios, colesterol total e frações) dos animais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FISIOPATOLOGIA DA EPILEPSIA

A epilepsia é uma afecção crônica caracterizada pela presença de crises epiléticas recorrentes que são decorrentes de descarga neuronal excessiva em determinada área do encéfalo (WHO, 2012). Existem vários tipos de crises epiléticas (convulsivas e não convulsivas), cujas manifestações clínicas dependem da área encefálica envolvida na atividade neuronal, podendo ser a única manifestação de uma doença ou até mesmo a expressão neurológica de um quadro clínico sistêmico (MOSHÉ et al., 2015).

Convulsões são desarranjos intermitentes na função cerebral causados pela atividade elétrica anormal de um grupo de células cerebrais, que se apresentam com sintomas e achados clínicos aparentes (VALENTINA; ALLISHA, 2012). *Status epilepticus* é definido como uma crise duradoura que não mostra sinais clínicos de interrupção após o tempo habitual da maioria das crises daquele tipo na maior parte dos pacientes ou ainda a ocorrência de crises recorrentes sem que a função do sistema nervoso central retorne ao período interictal (FALIP; CODINA, 2011).

Cerca de 65 milhões de pessoas no mundo apresentam epilepsia, e 80% encontram-se nas regiões em desenvolvimento, ocorrendo principalmente em crianças e idosos (HIROSE, 2013). A maioria das convulsões começa ainda na infância, mas podem surgir após os 60 anos, a primeira ocorrência de convulsão em adultos deve ser imediatamente investigada para encontrar a causa. Aproximadamente três quartos das pessoas que desenvolvem epilepsia podem controlar as crises através do uso de drogas antiepiléticas (DAE), e dois terços das que obtiveram controle podem interromper o tratamento com DAE, após o período aproximado de dois anos (MARRONI; PORTUGUÊS; COSTA, 2006).

As DAE provocam inibição de crises convulsivas, por promover modulação alostérica, facilitando a ligação do GABA ao receptor GABA-A e reduzindo a excitabilidade promovida pelo glutamato ativando substâncias que diminuem suas concentrações. Ao nível da membrana celular dos neurônios, os fármacos podem bloquear canais de cálcio e sódio voltagem dependentes, impedindo a despolarização da membrana e a propagação das descargas elétricas responsáveis pelas convulsões (IBÁÑEZ; AGUILAR-AMAT, 2011).

Existem vários graus de crises epiléticas que cursam com graus diferentes de envolvimento muscular. O evento motor consiste de um aumento ou diminuição da contração

muscular, definindo assim um fenômeno positivo e negativo, respectivamente. O aumento da contração muscular pode ser do tipo tônico (significando contração muscular mantida com duração de poucos segundos a minutos), clônico (na qual cada contração muscular é seguida por movimentos bruscos sucessivos) ou mioclônicos (contrações musculares muito breves, semelhantes à choque (GUILHOTO, 2011).

As crises podem ser classificadas de acordo com a localização em focais e generalizadas. As crises que ocorrem em redes neuronais bilateralmente distribuídas que rapidamente as engajam são generalizadas; e aquelas que ocorrem dentro de redes delimitadas a um hemisfério ou discretamente localizadas ou mais amplamente distribuídas são focais. A subclassificação dessas últimas em crises parciais (não compromete a consciência), crises complexas (altera a consciência) e crises secundariamente generalizadas (evoluindo para uma crise convulsiva bilateral) foi eliminada, porém ainda pode ser utilizada individualmente ou em combinação com outras características, dependendo da finalidade (BERG et al., 2010; GUILHOTO, 2011).

As características dos ataques epiléticos variam e dependem do local no cérebro onde a crise iniciou pela primeira vez, e o quão longe ela se espalha. Sintomas temporários podem ocorrer, como a perda da consciência, alterações dos movimentos, das sensações (incluindo visão, audição e paladar), do humor e das funções mentais. As pessoas com epilepsia tendem a ter mais problemas físicos, como fraturas e hematomas, assim como maior prevalência de outras doenças ou condições psiquiátricas, como ansiedade e depressão (WHO, 2012).

Um dos métodos utilizados para criar um quadro de epilepsia crônica em estudos clínicos com animais, é utilizando doses de pilocarpina. A pilocarpina é um alcaloíde extraído da planta *Pilocarpus jaborandi*, ela age como agonista em receptores colinérgicos muscarínicos no sistema nervoso central. A injeção i.p. de altas doses de pilocarpina (300 – 380 mg/kg, i.p.) induz um quadro de alterações comportamentais e eletroencefalográficas, com excitação difusa, marcado pelo comprometimento hipocampal decorrente da liberação excessiva de glutamato após estimulação colinérgica, a lesão provocada pela pilocarpina assemelha-se a encontrada na epilepsia do lobo temporal (ELT) no homem (WANG et al., 2016; LENZ et al., 2017).

As convulsões produzidas no modelo da pilocarpina produzem danos neuronais em diversas áreas, como: hipocampo, corpo estriado, amígdala, córtex piriforme, córtex entorrinal, córtex frontal, tálamo e substância cinzenta (LENZ et al., 2017).

2.1.1 Epilepsia refratária

A maioria dos pacientes epiléticos com um diagnóstico preciso quanto ao tipo de crise e síndrome epilética, tratados de forma adequada, terá um controle total ou parcial das crises. O paciente com epilepsia refratária (ER) pode ser definido como aquele em que não se consegue controle das crises apesar da utilização de adequados esquemas terapêuticos com drogas potencialmente efetivas, em doses ou níveis que não ocasionam efeitos colaterais inaceitáveis (MOREIRA, 2004).

Hoje o mercado apresenta mais de 20 tipos de drogas para tratamento da Epilepsia, dentre estes fármacos estão os fenobarbitais que agem aumentando a neurotransmissão gabaérgica, inibindo assim a excitabilidade neuronal, a fenitoína e carbamazepina que atuam inibindo a excitabilidade da membrana de ação sobre os canais de sódio voltagem dependentes, e o valproato que além de aumentar a ação do sistema GABA por ação pós-sináptica, também atua inibindo de forma discreta os canais de sódio (COSTA; CORRÊA; PARTATA, 2012).

Os benzodiazepínicos são um grupo de fármacos utilizados como coadjuvantes no controle de crises convulsivas, eles agem seletivamente em vias polissinápticas do sistema nervo central (SNC), aumentando a ação do neurotransmissor GABA. Dentre os fármacos benzodiazepínicos destaca-se o diazepam e o clonazepam, muito prescrito pelos médicos como complemento na terapia da epilepsia por impedir o surgimento de novas crises convulsivas (RANG; DALE, 2007; SHORVON, 1990)

A escolha do fármaco ideal depende de diversos fatores como o tipo de crise, a frequência com que ocorre, a idade e o estilo de vida do paciente. Quando as crises ocorrem frequentemente, apesar do uso de altas doses de medicamentos, o paciente torna-se refratário ao tratamento medicamentoso e pode ser um candidato à cirurgia da epilepsia, como recurso para o controle das crises. Não existe uma frequência absoluta de crises que designe o paciente como candidato à cirurgia, mas geralmente considera-se fora do controle medicamentoso àquele paciente com uma ou mais crises por mês (IBÁÑES; AGUILAR-AMAT, 2011; FERNANDES, 2013).

A ER é uma condição que interfere direta e negativamente na qualidade de vida dos pacientes, dificultando-lhes a interação social (BERG et al., 2010).

2.1.2 Tratamentos não farmacológicos

A dieta cetogênica (DC) possui um elevado teor de gordura e baixo teor de carboidrato, é utilizada há bastante tempo podendo-se encontrar relatos sobre ela em textos de Hipócrates no século 5 a.C. (YOON; KIM; KANG, 2014). Existem evidências de que a DC é eficaz no tratamento de crises convulsivas mesmo em casos refratários (SHARMA; TRIPATHI, 2013).

Doentes tratados com DC consomem 90% das necessidades diárias de lipídios e 10% de hidratos de carbono e proteína. Para obter essa proporção, quatro partes da dieta são constituídas de lipídios e uma parte de carboidratos e proteínas (relação 4:1) (INUZUKA-NAKAHARADA, 2008). Porém essa proporção pode ser reduzida para crianças, adolescentes ou pacientes que apresentem baixa aceitação e efeitos adversos graves (KOSSOFF; ZUPECKANIAN; RHO, 2009).

A comunidade científica ainda não chegou num consenso sobre o real mecanismo de ação da DC, acredita-se que o alto teor calórico derivado de lipídios faz com que a produção de ATP ocorra prioritariamente a partir destes nutrientes, o que desvia o metabolismo de corpos cetônicos, sendo esses necessários para os efeitos anticonvulsivantes da dieta, seja pelo efeito neuroprotetor, por inibição da glicólise ou por modulação da bioenergética mitocondrial (GOMES et al, 2011). Tanto as drogas anticonvulsivantes como a DC exercem seus efeitos clínicos através de interações com um ou mais de um conjunto diversificado de alvos moleculares no cérebro (ROGAWSKI; RHO; LOSCHER, 2016).

Os PUFA's podem trazer inúmeros benefícios quando utilizados como base na dieta cetogênica, já que esta terapia nutricional aumenta a produção de ATP, promove a biogênese mitocondrial e aumenta os níveis de antioxidantes reduzindo assim o dano oxidativo e aumentando a sobrevivência axonal (ROGAWSKI; RHO; LOSCHER, 2016).

Segundo Ruskin et al (2013) como essa dieta foi desenvolvida para criar e manter um estado de cetose, seu efeito benéfico na epilepsia pode ser atribuído a alteração no metabolismo neuronal, pois as cetonas inibem neurotransmissores produzindo efeito anticonvulsivante no corpo (KOBOW et al., 2012).

Além dos benefícios para o tratamento da ER, alguns estudos relatam os efeitos positivos da DC no tratamento de outras doenças neurológicas como a esclerose múltipla, alzheimer, e autismo (STORONI; PLANT, 2015; SMITH; RHO; TESKEY, 2016).

A DC apresenta efeito anti-inflamatório, já que é capaz de reduzir a expressão de citocinas inflamatórias em ratos, melhorando a aprendizagem, memória e capacidade motora após indução de febre por lipopolissacarídeos (STORONI; PLANT, 2015).

Embora a dieta seja inicialmente difícil de seguir e necessite de esforços contínuos mesmo após a primeira etapa, ela controla completamente a epilepsia em um terço das crianças em que as convulsões são incontroláveis de outra maneira (FERNANDES, 2013). Este tipo de dieta apresenta alguns efeitos colaterais como, baixa glicemia no sangue, dores no estômago a princípio causados pelas grandes quantidades de gordura, constipação e aumento do colesterol total e triglicerídios (MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2012).

Apesar de seu uso ter aumentado nas últimas décadas e de sua eficácia já ter sido comprovada em vários estudos prospectivos, retrospectivos e ensaios clínicos, sua utilização em adultos permanece relativamente baixa por uma série de motivos, incluindo aceitabilidade pelo paciente, treinamento para administração da dieta e a resistência por parte dos neurologistas em iniciar a terapia nutricional (LUTAS; YELLEN, 2013).

Para que a dieta cetogênica apresente os benefícios já relatados, é primordial que os ácidos graxos sejam em sua maioria do tipo poliinsaturados, já que estes modificam a composição da membrana celular no sistema nervoso central e melhoram mecanismos de atenuação da inflamação neuronal (SMITH; JONG; TESKEY, 2016).

Existem outros manejos dietéticos como a dieta de Atkins modificada, a dieta de baixo índice glicêmico e a dieta rica com ácidos graxos poliinsaturados que também apresentam bons resultados como coadjuvantes no tratamento da ER e são fortemente recomendadas para doentes que sofrem de problemas com a dieta cetogênica convencional (YOON; KIM; KANG, 2014).

O uso do canabidiol (CBD) – composto extraído da maconha (*Cannabis sativa*), vem se destacando para fins medicinais no tratamento da epilepsia cada vez maiores. Desde 1980 que ensaios clínicos vêm demonstrando que o CBD apresenta atividade antiepiléptica em pacientes com epilepsia refratária (SZAFLARSKI; BERBIN, 2014).

As duas principais substâncias farmacologicamente ativas da *Cannabis sativa* são o tetraidrocannabinol (THC) e o canabidiol (CBD), além destes há mais de 600 outros compostos canabinóides ou não, que podem representar um problema já que não há métodos seguros para separação de todos esses compostos. Todavia, o CBD puro não apresenta efeito psicótico e apresenta-se como um excelente anticonvulsivante (DEVINSKY et al., 2014; SZAFLARSKI; BERBIN, 2014).

Porém com poucos estudos científicos sobre o canabidiol, algumas questões permanecem sem respostas, como o papel do sistema cannabinoide na epilepsia, seus efeitos cognitivos, psicossociais, comportamentais, segurança a longo prazo, propriedades farmacocinéticas e interações com outros fármacos (GONZALES-REYES et al., 2013).

Embora existam vários tratamentos não farmacológicos para controle da ER, nenhum deles é substituto dos medicamentos anticonvulsivantes. Existe a necessidade de mais estudos experimentais, epidemiológicos e clínicos para estabelecer com precisão a relação de cada um com a epilepsia, sendo necessário também uma comprovação da dosagem ideal de cada método e melhor preparação lipídica com envolvimento maior de produtos ricos em PUFA's (SCORZA et al., 2008; JONH et al., 2015).

2.2 PRINCIPAIS AÇÕES DOS LIPÍDIOS NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

2.2.1 Caracterização de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA's)

As gorduras e os lipídios constituem aproximadamente 34% da energia na dieta dos seres humanos. Como a gordura é rica em calorias fornecendo 9 kcal/g de energia, os seres humanos são capazes de obter energia adequada com um consumo diário razoável de alimentos que contenham gordura. A gordura alimentar é armazenada nas células adiposas, a capacidade de armazenar e utilizar grande quantidade de gordura torna os seres humanos capazes de sobreviver, estando privados de alimentos por semanas e, algumas vezes, por meses (GALLAGHER, 2012).

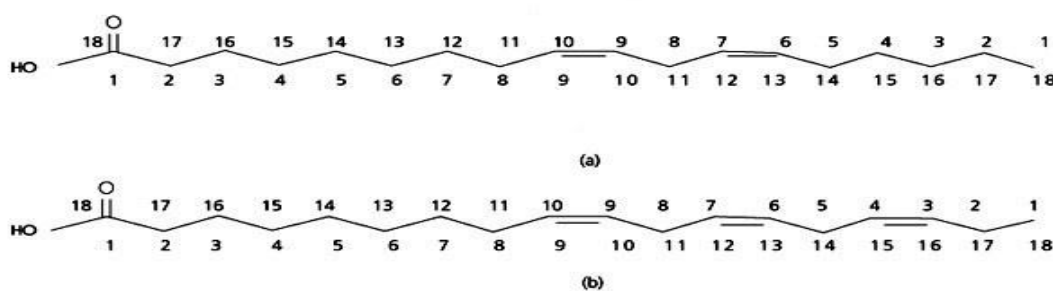
Ácidos graxos são ácidos orgânicos com moléculas lineares que podem ter de 4 a 22 carbonos em sua estrutura. Eles são classificados em saturados, monoinsaturados (com uma dupla ligação) e poliinsaturados (com mais de uma dupla ligação). A diferença do tamanho, do grau e da posição da insaturação na molécula lhes confere propriedade física, química e nutricionais diferentes, como solubilidade, ponto de fusão, digestibilidade, conversão de energia e destino metabólico (COLLI; SARDINHA; FILISETTI, 2005).

Existem dois tipos de ácidos graxos essenciais poliinsaturados: ácido linolênico comumente conhecido como ômega-3 (ω -3) e o ácido linoléico, também conhecido como

ômega-6 (ω -6), que se diferenciam de acordo com a posição da dupla ligação em relação ao terminal metil (Figura 1). Os ácidos graxos de cadeia longa, criados a partir dessas famílias são componentes importantes das membranas celulares e precursores de eicosanoídes, tais como prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (TAHA; BURNHAM; AUVIN, 2010).

Os ácidos graxos derivados do ômega-3 podem melhorar o funcionamento cerebral durante o envelhecimento e apresentar benefícios em uma série de doenças, incluindo a ER. O equilíbrio entre o ômega-6 e ômega-3 no consumo alimentar é essencial para diminuir processos inflamatórios e manter a homeostasia, visto que, eles apresentam propriedades fisiológicas opostas no organismo (TRÉPANIER et al., 2015; TEJADA et al., 2016).

Figura 1. Estrutura química dos ácidos linoléico (a) e linolênico (b).



Fonte: Martin et al., 2006.

Níveis de ingestão adequada (AI) de ácidos graxos essenciais foram estabelecidos pelo Institute of Medicine (2005), por meio das Dietary Reference Intakes (DRIs), baseadas na ingestão média da população americana estabeleceu-se a relação ideal para consumo entre ômega-6/ômega-3 na dieta de 5:1 para que estes possam proporcionar benefícios ao organismo, como proteger o cérebro contra danos.

2.2.2 Ação dos ácidos graxos nas funções cerebrais

Depois do tecido adiposo, o sistema nervoso central possui o maior conteúdo de lipídios do corpo humano, sendo o cérebro possuidor de 60% desse conteúdo lipídico. Assim, os ácidos graxos estão entre as moléculas mais importantes que determinam a integridade e o desenvolvimento cerebral. Há evidências de que os PUFA's alteram a excitabilidade neuronal

e são neuroprotetores, além de possuírem ação anticonvulsivante (ABD-ELGHAFOR et al., 2016).

Os lipídios cerebrais podem ser encontrados principalmente em dois componentes estruturais: a membrana neuronal (50%) e a bainha de mielina (70%), essa composição lipídica tem alta taxa de rotatividade e varia de acordo com o tipo de lipídio que é consumido na dieta (ELSHARBINY; EMARA; GODBOUT, 2013). As membranas celulares dos neurônios contêm fosfolipídios precursores de mensageiros lipídicos específicos, que participam da cascata de sinalização neuronal e podem promover dano neuronal ou a neuroproteção. Assim, a suplementação de diferentes proporções de PUFA's pode afetar a composição e função da membrana neuronal e sua deficiência no período pós natal, por exemplo, pode atrasar o período de mielinização, causando anormalidades na função motora, aprendizagem, visão e audição, além de na fase adulta poder causar doenças, como esclerose múltipla (LANDS, 2012; FORSYTH; GAUTIER; SALEM, 2017).

PUFA's do tipo ômega-3 como ácido eicosapentaenóico (EPA), ácido docosahexaenóico (DHA) e alfa-linolênico (ALA), possuem ação anti-inflamatória, pois são capazes de diminuir a produção e atividade de citocinas pró-inflamatórias (interleucina-1, interleucina-2, interleucina-6 e fator de necrose tumoral- α), enquanto os do grupo ômega-6 precursor do ácido araquidônico (AA) têm efeito oposto (INOVE et al., 2017). O ácido linolênico e linoléico são encontrados abundantemente no sistema nervoso central na forma de seus derivados DHA e AA respectivamente (MCNAMARA; VANNESI; VALENTINE, 2015).

Dos 60% do conteúdo lipídico no cérebro, cerca de 40% são de PUFA's e desses, cerca de 10% são de AA e 15% de DHA (MCNAMARA; VANNESI; VALENTINE, 2015). O DHA exerce atividade neuroprotetora diminuindo os efeitos da acumulação do peptídeo β -amilóide e a hiperfosforilação da proteína TAU, diminuindo também a formação de placas neuríticas e neurofibrilas no cérebro, alterações que ocorrem na doença de Alzheimer (YASSINE et al., 2017).

O AA é extremamente importante nos primeiros meses de vida, sua deficiência está relacionada com distúrbios no cérebro e na retina. Embora seja encontrado no cérebro em quantidades menores que o DHA, os fosfolipídios associados aos neurônios são altamente enriquecidos com este ácido graxo, o que tem sugerido o seu envolvimento na transmissão sináptica (SILVA; JÚNIOR; ABREU, 2008)

A propriedade do ômega-3 de reduzir citocinas pró-inflamatórias e prostaglandinas justifica o uso do óleo de peixe em ações antinociceptiva. Pacientes com depressão também

podem se beneficiar desse uso, tendo em vista que esta patologia apresenta uma ativação do sistema de resposta inflamatória, resultando num aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias e eicosanóides. Essas substâncias causam uma peroxidação e, consequentemente, um catabolismo dos fosfolípidos da membrana, especialmente dos ácidos graxos poliinsaturados (POMPILLI et al., 2017).

DeGiorgio et al., (2015) avaliaram se o óleo de peixe seria capaz de reduzir convulsões ou melhorar a saúde cardiovascular em pacientes com epilepsia resistente a fármacos. O estudo constatou que, uma dose baixa de óleo de peixe (3 cápsulas/dia), contendo 1080 mg de ácido eicosapentaenoico + ácido docosahexaenoico foi associada com uma redução de 33,6% na frequência de crises em comparação com o placebo, assim como, diminuição estatisticamente significativa na pressão arterial.

Os PUFA's possuem a capacidade de se difundirem através da barreira hematoencefálica (BHE), que é um importante componente da rede de comunicação entre o sistema nervoso central e os tecidos periféricos, funcionando como uma interface que limita e regula a troca de substâncias entre o encéfalo e os capilares sanguíneos. Após se difundirem pela BHE, esses ácidos são capturados pela acil-CoA sintetase passando por processos de incorporação, oxidação e/ou biossíntese de ácidos graxos saturados, insaturados ou esteroides (BANKS; ERICKSON, 2010).

No estudo realizado por Kmietowicz (2014), para avaliar se o óleo de peixe era capaz de reduzir a frequência de crises em epilepsia resistente a fármacos, constatou-se que ácidos graxos do tipo ômega-3 podem atravessar a barreira hematoencefálica e reduzir a excitabilidade das células do cérebro que desencadeiam ataques, diminuindo as crises convulsivas.

2.3 ÓLEO DE GERGELIM E SEUS EFEITOS FUNCIONAIS E NUTRACÊUTICOS

Com o crescente avanço de doenças crônicas na população mundial, vem surgindo uma nova percepção especialmente no meio dos consumidores, a fim de melhorar a qualidade de vida e reduzir danos da saúde e gastos com tratamentos medicamentosos. Isso tem contribuído para o desenvolvimento e aumento do uso de alimentos do tipo funcionais e nutracêuticos (VARZAKAS; ZAKYNTHINOS; VERPOORT, 2016).

São caracterizados alimentos funcionais aqueles alimentos capazes de suprir as necessidades nutricionais básicas do organismo, ao mesmo tempo em que trazem

propriedades benéficas aos sistemas fisiológicos, como também a prevenção de doenças (GONZÁLES-SARRÍAS et al., 2013). Um alimento ou componente de alimentos e bebidas é considerado funcional, quando apresentam além do valor nutritivo inerente à sua composição química, substâncias bioativas que podem produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos úteis na manutenção da saúde física e mental (PITCHAIAH; AKULA; CHANDI, 2017).

O alimento é considerado nutracêutico quando parcialmente ou na sua totalidade é capaz de proporcionar benefícios à saúde, que vão desde a prevenção até o tratamento da doença. Podem ser nutrientes isolados, suplementos dietéticos, produtos herbais e alimentos processados tais como cereais, sopas e bebidas, ou até mesmo sob a forma de cápsulas (GUPTA; PRAKASH, 2015). Os nutracêuticos são classificados por clases em fibras dietéticas, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, peptídios, aminoácidos ou cetoácidos, minerais, vitaminas antioxidantes e outros antioxidantes (SHARMA et al., 2014).

Os alimentos com propriedade funcionais e nutracêuticas concentram-se em sua maioria nos grupos de alimentos de origem vegetal, devido à presença natural de fitoquímicos, a exemplo do alho, cebola, tomate, chá-verde ou preto, soja, sementes de linhaça e gergelim (NAMIKI, 2007; KAMAL-ELDIN; MOAZZAMI; WASHI, 2011). Em meio a estes alimentos, destaca-se o gergelim. De acordo com Figueiredo e Filho (2008), o gergelim está inscrito na primeira e quarta edição da Farmacopéia Brasileira, para sua utilização como alimento funcional ou nutracêutico, devido a sua composição nutricional e seus efeitos na prevenção e no tratamento de doenças crônicas.

O óleo de gergelim (*Sesamum indicum* Lim) representado na Figura 2, é extraído das sementes de gergelim e bastante utilizado nas indústrias farmacêuticas e de alimentos, devido a sua composição lipídica, seu elevado teor de proteínas e seu sabor característico (CORSO, 2008).

Figura 2- Sementes e óleo de gergelim



Fonte: <http://beneficiosnaturais.com.br/oleo-de-gergelim-para-quem-deseja-emagrecer/>

Este óleo apresenta-se rico em ácidos graxos insaturados como o ácido palmítico, esteárico, oleico, linolênico e ácido linoleico, com características e propriedades de diminuir níveis de colesterol. Além disso, o óleo de gergelim pode ser utilizado como suplemento alimentar produzindo efeito analgésico, antipirético e anti-inflamatório comprovados em experimentos com modelos animais (CARVALHO et al., 2012; LIU; LIU, 2016).

Segundo a Embrapa (2006), este óleo pode ser comercializado sob a forma natural e torrado, ambos apresentam sabor e aroma característico e agradável e maior estabilidade oxidativa quando comparado com a maioria dos óleos vegetais, por causa de sua composição em ácidos graxos e pela presença de antioxidantes naturais. O óleo é amplamente consumido como alimento nutritivo, apresentando vários benefícios no tratamento do diabetes, hipertensão, hipercolesterolemia e doenças neurológicas (SALEEM; CHETTY; KAVIMANI, 2012; HASSANZADEH; ARBABI; ROSTAMI, 2014).

As sementes de gergelim possuem elevado valor nutricional (Quadro 1), devido à quantidade significativa de vitaminas principalmente do complexo B e constituintes minerais como cálcio, ferro, fósforo, magnésio, sódio, zinco e selênio. O teor de óleo e proteína presentes nas sementes pode variar amplamente, dependendo da variedade e da origem da semente. Além disso, o óleo de gergelim apresenta grande resistência a rancificação por oxidação, devido à presença de substâncias antioxidantes naturais como sesamol e gama tocoferol (LAGO et al., 2001; NAMIKI, 2007).

Quadro 1- Composição nutricional da semente de gergelim.

Composição da semente de gergelim (por 100g)	
Energia (calorias) 578	Fe (mg) 9,6
Umidade (%) 4,7	Na (mg) 2
Gordura (g) 51,9	K (mg) 400
Proteína (g) 19,8	Vitamina A (UI) 0
Carboidrato (g) 18,4	Caroteno (µg) 17
Fibra (g) 10,8	Vitamina B1 (mg) 0,95
Cinzas (g) 5,2	Vitamin B2 (mg) 0,25
Ca (mg) 1200	Niacina (mg) 5,1
Mg (mg) 370	Vitamina C (mg) 0
P (mg) 540	

Fonte: NAMIKI, 2007.

O sesamol é um composto orgânico natural presente no óleo de gergelim. Caracteriza-se como um sólido cristalino branco derivado do fenol. É moderadamente solúvel em água, mas miscível na maioria dos óleos, e além das propriedades antioxidantes apresenta-se também como antifúngio (MAJDALAWIEH; RO, 2015).

O tocoferol é considerado um dos melhores antioxidantes naturais, sendo amplamente aplicado como meio para inibir a oxidação dos óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados. A atividade antioxidante dos tocoferóis se dá principalmente por sua capacidade de doar seus hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos interrompendo a propagação em cadeia (BOONNOY; KARTTUNEN; WONG-EKKABUT, 2017).

Além do sesamol e gama tocoferol, o óleo de gergelim é composto por lignanas como sesamina e sesamolina, ambas mostraram efeitos terapêuticos com atividades antioxidantes, antiproliferativa, anti-hipertensivo, neuroprotetor e de diminuição dos níveis de colesterol (CHENG et al., 2006).

O efeito anti-inflamatório do óleo de gergelim foi comprovado no estudo feito com ratos Wistar, induzindo inflamação pleural após administração de carragenina via intrapleural. O óleo conseguiu diminuir o volume do exsudato pleural e a migração de leucócitos utilizando-se a dose de 400 mg/kg (MONTEIRO et al., 2014).

O gergelim tem apresentado benefícios no tratamento de doenças crônicas, no estudo de Figueiredo e Filho (2008) a ingestão de farinha de gergelim na dieta contribuiu beneficemente na redução do risco de diabetes e obesidade, assim como, auxiliou no controle do perfil glicêmico e do peso em pacientes diabéticos tipo 2. Ademais o gergelim é apontado no tratamento de doenças cardiovasculares, com ação de diminuição de lesões ateroscleróticas e reduções nos níveis de colesterol, triglicerídios e lipoproteína de baixa densidade (LDL), em estudos feitos em animais (BHASKARAN et al., 2006).

Do ponto de vista químico, é sabido que o óleo de gergelim apresenta-se com um elevado teor de ácidos graxos insaturados, lignanas (sesamol, sesamina, sesamolina e asarinin) e gama-tocoferol. Estes compostos podem ser os responsáveis pelas atividades farmacológicas, uma vez que vários estudos indicam que os ácidos graxos reduzem os níveis de prostaglandinas e leucotrienos, substâncias que agem no processo da dor e inflamação (GUIMARÃES et al., 2013).

Em um estudo para avaliar a ação de lignanas isoladas e o sesamol quanto à atividade antioxidante, eliminação de radicais livres e propriedades antibacterianas, constatou-se que o sesamol foi o melhor antioxidante e captador de radicais livres dentre as moléculas estudadas.

Nos ensaios antibacterianos contra agentes patogênicos de origem alimentar o sesamol apresenta-se como um agente antimicrobiano com concentração inibitória mínima de 2 mg/mL em cultura, mostrando atividade sinérgica com o gama-tocoferol (MAHENDRA; SINGH, 2015).

De acordo com Jonh et al. (2015), o sesamol foi capaz de reverter efeitos deletérios no cérebro de animais de experimentação, provocados pela exposição ao cloreto de alumínio (AlCl_3). O estudo mostrou que o sesamol melhorou reações comportamentais, reverteu o déficit de memória, corrigiu hiperlipidemia, reduziu o estresse oxidativo, óxido nítrico e o nível de $\text{TNF-}\alpha$, mostrando ser um candidato potencial para controlar distúrbios neuronais.

Um estudo experimental concluiu que o sesamol é capaz de atenuar sinais clínicos da doença de Huntington, após neurotoxicidade induzida com ácido 3-nitropropiónico (3-PN) em animais. O pré-tratamento com sesamol melhorou o peso corporal, a atividade locomotora, a coordenação motora, e os danos oxidativos foram atenuados em diferentes regiões do cérebro de ratos. O trabalho concluiu que o tratamento com sesamol melhorou significativamente enzimas mitocondriais em todas as regiões do cérebro (KUMAR; KALONIA; KUMAR, 2009).

3 ABORDAGEM METODOLÓGICA

3.1 ÓLEOS EXPERIMENTAIS E FÁRMACOS

Os óleos de gergelim torrado e natural são comercializados e produzidos pela Sésamo Real Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios LTDA (Vlinhos, SP, BRA). Na Tabela 1, estão os resultados fornecidos pelo fabricante com a composição nutricional referente a cada óleo de gergelim utilizado no estudo.

Tabela 1- Composição nutricional do óleo de gergelim torrado e natural da Sésamo Real-2016

	QUANTIDADE POR PORÇÃO*	
	Óleo de Gergelim Torrado	Óleo de Gergelim Natural
Valor Calórico (kcal)	107	120
Carboidratos (g)	0	0
Proteínas (g)	0	0
Gorduras Totais (g)	14	14
Gorduras Saturadas (g)	2	2
Gorduras Mono (g)	5	5
Gorduras Polii (g)	6	6
Gorduras trans (g)	0	0
Ômega 3 (g)	0,05	0,05
Ômega 6 (g)	6	6
Ômega 9 (g)	5	5
Colesterol (mg)	0	0
Fibra alimentar (mg)	0	0
Ferro (mg)	0	0
Sódio (mg)	0	0
Vitamina E (mg)	1,5	1,5

*Porção de 13mL, Fonte: Dados do fabricante, acesso em:
http://www.sesamoreal.com.br/site/wp-content/tabelas/tabela_oleo_gerg_natural.pdf

O óleo mineral foi adquirido comercialmente, da marca Óleo Mineral 100% Puro produzido pelo Laboratório Tayuyna Ltda, este não apresenta nenhum componente nutricional visto ser um derivado do petróleo, sem nenhum nutriente a ser metabolizado ou utilizado pelo organismo. Os fármacos diazepam, pilocarpina, N-metil-scopolamina, cloridrato de cetamina e xilazina foram comprados na Sigma (St. Louis, MO, USA).

3.2 DESENHO EXPERIMENTAL

Trata-se de um estudo experimental *in vivo* de fase pré-clínica, que foi realizado em ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), estes foram randomizados em cinco grupos com 8 animais cada: água destilada (GW); óleo mineral (GMO); óleo de gergelim torrado (RSO); óleo de gergelim natural (NSO); diazepam (GD).

O projeto foi submetido e aprovado com protocolo nº 002/ 2016, pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba (ANEXO).

Os animais dos grupos GW e GD receberam por via orogástrica água destilada na quantidade de 5 mL/kg de peso corporal, uma vez ao dia durante trinta dias. No dia do experimento trinta minutos antes de receber a dose de pilocarpina, os animais do grupo GD foram tratados com uma dose de 5 mg/kg de diazepam via intraperitoneal (i.p). O diazepam é um medicamento do grupo dos benzodiazepínicos, utilizado em vários tratamentos de saúde incluindo a epilepsia, a dose de 5-10 mg/kg é utilizada para bloquear convulsões e evitar o mal *epilepticus* ou *status epilepticus* em ratos (LOSCHER; HONACK, 1994).

O grupo GMO recebeu por via orogástrica óleo mineral na quantidade de 5 mL/kg de peso corporal, esta dose foi utilizada em outros estudos clínicos também feitos em animais. A suplementação deu-se uma vez ao dia por trinta dias, esta substância foi escolhida por se tratar de um óleo (lubrificante) com características químicas praticamente inertes e com textura semelhante aos óleos vegetais, facilitando a comparação com entre os óleos, podendo refletir a importância de substâncias antioxidantes e ácidos graxos poli-insaturados presentes no óleo de gergelim (ZAPAROLI et al., 2015; FILHO et al., 2006).

Os animais dos grupos RSO e NSO foram suplementados via gavagem com óleo de gergelim torrado e natural respectivamente na dose de 5 mL/kg de peso corporal, a suplementação também foi feita uma vez ao dia durante trinta dias, sempre nos mesmos horários dos demais grupos, às 10 horas da manhã. As substâncias analisadas (óleo mineral, óleo de gergelim torrado e óleo de gergelim natural) foram obtidas comercialmente e

armazenadas de acordo com as recomendações do fabricante. A escolha do tempo de suplementação (trinta dias) deu-se por ser a média de tempo utilizado tradicionalmente pela comunidade científica para estudos pré-clínicos na área de nutrição (SALEEM; CHETTY; KAVIMANI, 2012). A escolha da dose 5 mL/kg nos grupos experimentais ocorreu por se tratar de uma dose segura que não causa prejuízos ao animal, a dose letal não é necessária calcular pois os óleos de gergelim se enquadram no grupo de alimentos (ADVANI; ANSARI; MENGHANI, 2011; AINSWORTH; FREDRICKSON; MORBECK, 2017).

Assim, para avaliação da fase aguda da epilepsia, os animais receberam gavagem com água destilada, óleo mineral, óleo de gergelim torrado ou natural a depender do grupo de estudo, por um período de 30 dias, a fim de avaliar se as substâncias experimentais apresentam ou não efeito de prevenção ou proteção em crises convulsivas após aplicação de pilocarpina via intraperitoneal (i.p.) na dose de 350 mg/kg.

Para identificar possíveis alterações em exames bioquímicos e histológicos no cérebro decorrentes da suplementação com as substâncias experimentais, foram utilizados oito animais por grupo de suplementação e após serem deixados em jejum de 12 horas, foram eutanasiados para serem coletados seus cérebros e amostras de material sanguíneo para realização de exames, tais como: glicose, colesterol total, triglicerídeos, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL). Durante todo o estudo experimental (Figura 3) os animais foram analisados também quanto ao peso e o consumo alimentar.

Figura 3 – Desenho do estudo experimental.



3.3 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

A pesquisa foi realizada na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus João Pessoa, sendo os animais provenientes do biotério Prof. Dr. Thomas George do Centro de Biotecnologia (CBIOTEC) da universidade. Ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), albinos, machos, adultos com aproximadamente 120 dias, peso corporal variando de 250 a 350 g, foram utilizados como animais de experimentação.

Como a Epilepsia apresenta-se da mesma forma em ambos os sexos, a escolha desse modelo biológico experimental deu-se principalmente por se tratar de animais de fácil criação e manutenção em laboratório, com alta taxa reprodutiva e com grande número de informações a respeito de sua biologia e desenvolvimento.

Os animais foram mantidos a temperatura de $22 \pm 3^\circ \text{C}$ com ciclos de 12 h claro/12 h escuro, sendo a fase clara de 06h00 às 18h00 e a fase escura das 18h00 às 06h00 horas, de acordo com os padrões recomendados para roedores (MERUSSE; LAPICHICK, 1996). Eles foram mantidos coletivamente em gaiolas plásticas micro-isoladoras de dimensão 49x34x16 (CxLxA, em cm) providas de cama de serragem selecionada, com garrafa acoplada a um bico de inox para água, e cocho para ração, cada gaiola acomodou no máximo 4 animais.

Todos os grupos de animais foram alimentados com água e ração *ad libitum*, sendo a ração padrão balanceada do tipo peletizada (Purinas Nutrimentos, Ltda., Brasil).

As gaiolas foram transferidas para o laboratório de psicofarmacologia do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IpeFarm), com pelo menos uma hora de antecedência à indução do *status epilepticus*, a fim de promover uma adaptação do animal ao ambiente e evitar possíveis alterações comportamentais, decorrentes do estresse causado pelo seu manuseio.

Os testes foram realizados no período vespertino. Antes e durante os experimentos, as bancadas foram higienizadas com uma solução de etanol a 70% para evitar possíveis influências nos resultados.

3.4 AVALIAÇÃO DO PESO E CONSUMO ALIMENTAR

O peso corporal dos animais foi avaliado a cada sete dias, sempre nos mesmos horários, utilizando-se balança eletrônica digital (bioprecisa, modelo BS3000A), capacidade de 3 kg e sensibilidade de 0,1 g, durante os trinta dias de experimento.

Com a mesma balança, foi analisado o consumo alimentar, medido semanalmente, subtraindo-se o peso da ração oferecida pelo peso das sobras.

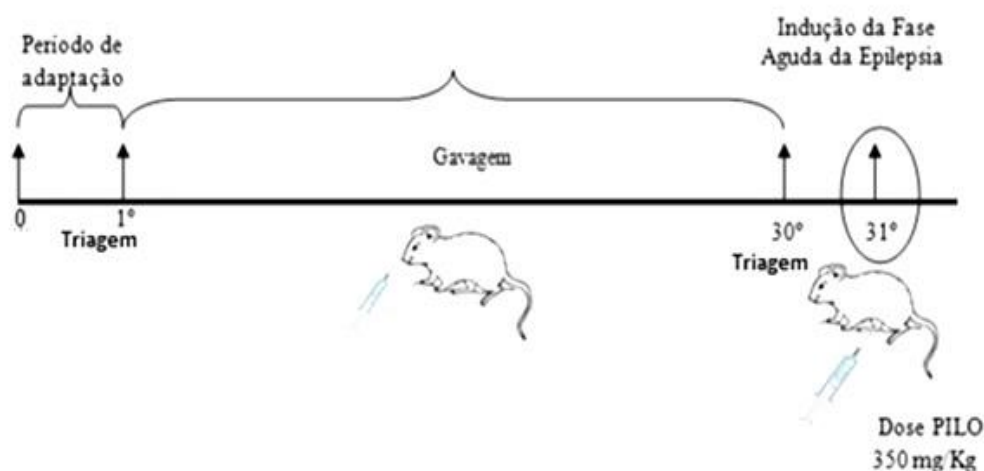
3.5 INDUÇÃO À FASE AGUDA DA EPILEPSIA

A indução do estado epileptogênico por meio da pilocarpina permite avaliar o *status epilepticus* em três fases, a fase aguda, fase silenciosa e a fase crônica. Esse estudo se limitou na avaliação apenas da fase aguda. Antes de induzir esta fase da epilepsia os animais receberam por meio de gavagem, água destilada, óleo mineral, óleo de gergelim torrado ou óleo de gergelim natural durante trinta dias, ambos na dose de 5 mL/kg de peso corporal por dia, os animais que compuseram o grupo GD receberam diazepam na dose de 5 mg/kg i.p. trinta minutos antes da injeção de pilocarpina (Figura 4). A avaliação do *status epilepticus* na fase aguda visa analisar se o óleo de gergelim seja ele torrado ou natural pode apresentar-se como um fator de prevenção ou proteção no surgimento de crises convulsivas, ou se é capaz de evitar ou diminuir possíveis danos histológicos no cérebro dos animais provocados pela pilocarpina.

A indução do *status epilepticus* (SE), foi realizada no 31º dia, fazendo-se necessário inicialmente que os animais fossem tratados com N-metil-scopolamina, 1 mg/kg s.c (solução de 1mg/mL). Passados 30 minutos foi administrado uma injeção de pilocarpina i.p. com 350 mg/kg, (solução de 350 mg/mL), em seguida o animal foi colocado em gaiola apropriada para observação do comportamento, onde foi contado como início do teste o momento da injeção de pilocarpina (t0) (MELLO; COVOLAN, 1996; GOFFIN et al., 2007).

Após a introdução de pilocarpina avaliou-se os seguintes parâmetros: ocorrência do SE e grau de intensidade das crises convulsivas. As alterações comportamentais e a intensidade das convulsões foram analisadas de acordo com a escala de Racine: escore 0: sem resposta; escore 1: hiperatividade, inquietação, espasmos das vibrissas; escore 2: movimentos da cabeça, espasmos clônicos e mioclônicos da cabeça; escore 3: clonus unilaterais ou bilaterais dos membros; escore 4: crise convulsiva clônica; escore 5: crises tônico-clônicas generalizadas; escore 6: morte do animal (Racine, 1972).

Figura 4. Desenho do estudo para indução da fase aguda da epilepsia.



Os animais receberam as substâncias por via orogástrica durante trinta dias, no 31º dia foram induzidos à Epilepsia através de uma única dose de Pilocarpina, em seguida foram eutanasiados e retirados os cérebros para exames histológicos.

3.6 EUTANÁSIA

Logo após os experimentos, os animais foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (75 mg/kg) por via intramuscular e cloridrato de xilazina (15 mg/kg) por via intraperitoneal, em dose suficiente para eliminar o reflexo corneal, em seguida os ratos foram eutanasiados por exanguinamento (AVMA, 2013; CONCEIÇÃO-SILVA; PRESCRAVE, 2008). O sangue foi coletado via veia cava na quantidade de 5 mL, após eutanásia, foram retirados os cérebros para análise de possíveis alterações histológicas no órgão. Todos os procedimentos desde o início do estudo até o momento de eutanásia foram realizados para evitar o sofrimento, reduzir o desconforto e dor dos animais.

3.7 EXAMES BIOQUÍMICOS

Os animais passaram um período de 12 horas em jejum e foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (75 mg/kg) por via intramuscular e cloridrato de xilazina

(15 mg/Kg) por via intraperitoneal. O sangue foi coletado (5mL) via veia cava, para dosagens de colesterol total, triglicerídios, LDL, HDL e VLDL. As amostras de sangue foram centrifugadas por 10 min para que fosse separado o soro, o qual foi armazenado a -80°C para análises.

3.8 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

No processamento histológico foram realizadas as seguintes etapas identificadas na Figura 5: (0) Eutanásia; (1) Coleta do tecido (ou órgão); (2) Fixação; (3) Clivagem; (4) Desidratação; (5) Diafanização; (6) Impregnação e inclusão; (7) Microtomia; (8) Pescaria; (9) Coloração; (10) Montagem da Lâmina (ROSS; PAWLINA, 2012).

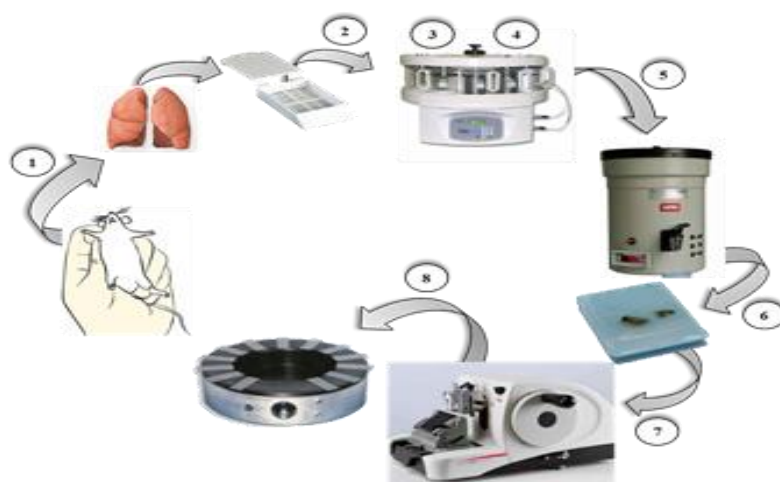


Figura 5. Etapas do processamento histológico (Pereira, 2013).

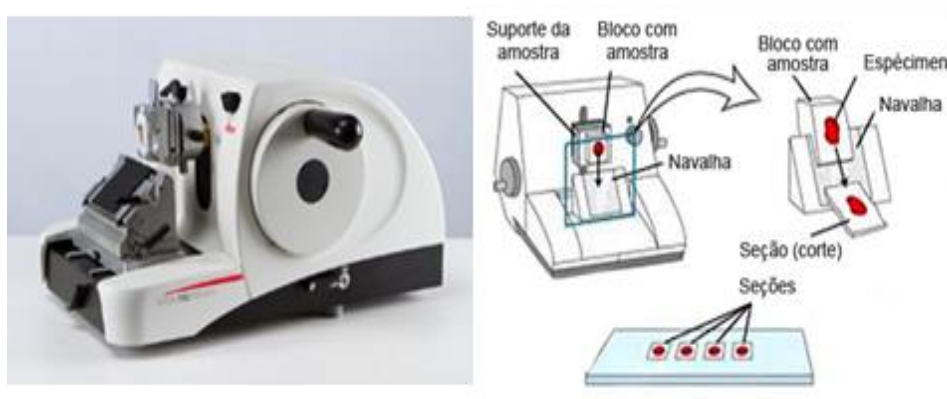
Após eutanásia dos animais, a coleta foi feita a partir do isolamento do cérebro dos ratos com auxílio de instrumentos cirúrgicos (pinça e tesoura). Após a coleta, o material foi registrado em um livro próprio de protocolo. Por meio desse registro, o material foi identificado com um número, que o acompanhou durante todos os procedimentos da técnica histológica. Após a coleta, o material foi então submetido ao processamento histológico para possibilitar sua secção em porções menores (SHERWIN et al., 2003).

Para fixação química do material, foi utilizada uma solução de formalina tamponada afim de estabilizar o material e impedir alteração tecidual. Os órgãos foram submetidos à etapa de fixação durante 24 horas, em seguida as amostras foram submetidas à lavagem em água corrente durante 24 horas, e seccionadas no sentido transversal para obtenção do hemisfério direito (YOU et al., 2011). Todo o material foi submetido ao processo de desidratação, com imersão das amostras em concentrações crescentes de álcool. O xilol foi utilizado para clarificação dos tecidos (ROSS; PAWLINA, 2012; MOLINARIO; GONÇALVES; AMENDOEIRA., 2010).

A impregnação consistiu em submeter os tecidos em dois banhos consecutivos com parafina pré aquecida, o tecido foi então incluso no centro do molde (bloco de plástico ou metal) contendo parafina aquecida no dispensador. Esperou-se sua completa solidificação para conclusão da etapa de inclusão.

Na microtomia ou confecção dos cortes histológicos com precisão e eficácia, os blocos de parafina contendo as amostras foram desgastados para retirar os excessos de parafina e facilitar o corte. Os cortes foram seccionados pela navalha do micrótomo (LEICA®) com 5 µm de espessura (Figura 6). Os cortes foram levados ao banho em água destilada para que houvesse uma leve distensão da fita de parafina; depois ao banho maria a uma temperatura em torno de 50° C para uma distensão completa.

Figura 6. Micrótomo utilizado na preparação de lâminas histológicas.



Fonte: Molinário; Gonçalves; Amendoeira (2010).

Com auxílio de uma lâmina, o corte foi pescado no banho maria, a fim de facilitar a aderência à lâmina, em seguida adicionou-se ao banho gelatina. Após a pescaria, as lâminas

foram colocadas nas cubas para serem levadas à estufa por 10 minutos para secagem do corte (MOLINÁRIO; GONÇALVES; AMENDOEIRA, 2010).

As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Floxina B, logo após coloração, secou-se o excesso de xilol no verso da lâmina e gotejou-se sobre a lamínula o bálsamo do Canadá (meio de selagem) e colocou-se a lâmina no centro da lamínula, de modo que todo o corte estivesse coberto e protegido pelo meio e pela lamínula. Após a selagem o material foi analisado no microscópio óptico (Motic BA 410). As fotografias digitais foram capturadas pela câmera Moticam 5.0 MP em definições específicas conforme a objetiva utilizada: 10x ou 40x. A análise histológica foi realizada por operador capacitado, o qual analisou qualitativamente parâmetros histológicos como: lesão tecidual, organização de camadas, preservação de neurônios e neuroglias no córtex cerebral, hipocampo e cerebelo.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos dados, foi utilizado o programa estatístico Graph Pad Prism versão 6.0. Os testes de hipótese foram definidos de acordo com a normalidade dos dados e a classificação das variáveis, sendo utilizados métodos paramétricos (ANOVA one way) e não paramétricos (Kruskal-Wallis). Os dados foram apresentados como média e erro padrão da média. Os resultados foram considerados significativos quando apresentaram um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

REFERÊNCIAS

ABD-ELGHAFOR, B. A. et al. Aspirin and (or) omega-3 polyunsaturated fatty acids protect against corticohippocampal neurodegeneration and downregulate lipoxin A4 production and formyl peptide receptor-like 1 expression in pentylenetetrazole-kindled rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, n. 999, p. 1-9, 2016.

AINSWORTH, A. J.; FREDRICKSON, J. R.; MORBECK, D. E. Improved detection of mineral oil toxicity using an extended mouse embryo assay. **Journal os Assisted Reproduction and Genetics**, v. 6, p. 1-7, 2017.

ADVANI, U.; ANSARI, A.; MENGHANI, E. Anticonvulsant potentials of Sesamun indicum and Allium sativum oil alone and in combination in animal models. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical sciences**, v. 3, p. 154-158, 2011.

AVMA – AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. AVMA Guidelines for the eutanásia of animals: 2013 edition. 2013. Disponível em: <https://www.avma.org/kb/policies/documents/euthanasia.pdf>

BANKS, W. A.; ERICKSON, M. A. The blood-brain barrier and imune function and dysfunction. **Neurobiology of disease**, v.37, p.26-32, 2010.

BERG, A. T. et al. Terminologia e conceitos revistos para organização de crises e epilepsias. **Relatório da Comissão da ILAE de Classificação e Terminologia**, v. 3, p. 2005-2009, 2010.

BOONNOY, P.; KARTTUNEN, M.; WONG-EKKABUT, J. Alpha-tocopherol inhibits pore formation in oxidized bilayers. **Physical Chemistry Chemical Physies**, v. 22, p. 5699-5704, 2017.

BHASKARAN, S. et al. Inhibition of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-negative mice by sesame oil. **Journal of medicinal food**, v. 9, p. 487-490, 2006.

CARVALHO, R. H. R.; GALVÃO, E. L.; BARROS, J. A. C. et al. Extraction, fatty acid profile and antioxidante activity of sesame extract (*Sesamum indicum L.*). **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.29, p.409-420, 2012.

CHALON, S. Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v. 75, p. 259-269, 2006.

CHENG, F.; JINN, T. R.; HOU, R. C. W. et al. Neuroprotective effects of sesamin and sesamol on gerbil brain in cerebral ischemia. **International journal of Biomedical science**, v.2, p.284-288, 2006.

COLLI, C.; SARDINHA, F.; FILISETTI, T. M. C. C.; Alimentos Funcionais. In: CUPPARI, L. **Guia de Nutrição**. n. 2°. Barueri: Manole, 2005. cap. 5, p. 71-87.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; PRESGRAVE, O. A. F. Fármacos usados em animais de laboratório anestésicos e analgésicos. In: NETO FARIA, F. C. C.; SANTOS, B. F. **Manual de utilização de animais/Fiocruz**. Rio de Janeiro: 2008. P. 20-27.

CORSO, M.P. **Estudo da extração de óleo de sementes de gergelim (Sesamum indicum L.) empregando os solventes dióxido de carbono supercrítico e n-propano pressurizado**. 2008. 93 f. Trabalho de conclusão de Mestrado (Pós Graduação em Engenharia Química)- Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2008.

COSTA, À. R. da.; CORRÊA, P. C. de.; PARTATA, A. K. Epilepsia e os fármacos mais utilizados no seu tratamento. **Revista Científica do ITPAC**, v.5, p. 1-6, 2012.

DEGIORGIO, C. M. et al. Fish oil (n-3 fatty acids) in drug resistente epilepsy: a randomised placebo – controlled crossover study. **Journal of Neurology Neurosurgery & Psychiatry**, v. 86, p. 65-70, 2015.

DEVINSKY, O.; CILIO, M. R.; CROSS, H. et al. Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. **Epilepsia**, v. 55, p. 791-802, 2014.

ELSHARBINY, M.E.; EMARA, M.; GODBOUT, R. Interaction of brain fatty acid-binding protein with the polyunsaturated fatty acid environment as a potential determinant of poor prognosis in malignant glioma. **Progress in Lipid research**, v. 52, p. 562-570, 2013.

EMBRAPA. Composição Química de Diferentes Genótipos de Gergelim. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, vol 80, p. 1-12, 2007.

FALIP, M.; CODINA, M. Epilepsia. Medicine- **Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v.10, p. 4991 – 9001, 2011.

FERNANDES, M. J. D. S. Epilepsia do lobo temporal: mecanismos e perspectivas. **Estudos Avançados**, v. 27, n. 77, p. 85-98, 2013.

FIGUEIREDO, A. S.; FILHO, M. J. Efeito do uso da farinha desengordurada do *Sesamum indicum* L nos níveis glicêmicos em diabéticas tipo 2. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 77-83, 2008.

FILHO, J. C. S. et al. Efeitos do esteroide anabólico nandrolona sobre o músculo sóleo de ratos submetidos a treinamento físico através de natação: estudo histológico, histoquímico e moformétrico. **Revista Brasileira de medicina do esporte**, v. 12, p. 243-247, 2006.

FORSYTH, S.; GAUTIER, S.; SALEM, N. The importance of dietary DHA and ARA in early life: a public health perspective. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 13, p. 1-6, 2017.

GALLAGHER, M. L. Ingestão: Os Nutrientes e seu Metabolismo. In: MAHAN, L.K., et al. **Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. n. 13°. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. cap. 3, p. 32-128.

GOFFIN, K. et al. Cyclicity of spontaneous recurrent seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy in rat. **Experimental Neurology**, v. 205, p. 501-505, 2007.

GOMES, T. K. C. et al. The role of the ketogenic diet on oxidative stress presente in experimental epilepsy. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v.17, p.54-64, 2011.

GONZÁLES-SARRÍAS, A. et al. Nutraceuticals for older people: Facts, fictions and gaps in knowledge. **Maturitas**, v. 75, p. 313-334, 2013.

GONZALEZ-REYES, L. E. et al. TRPV1 antagonist capsazepine supresses 4-AP-induced epileptiform activity in vitro and electographic seizures in vivo. **Experimental Neurology**, v. 32, p. 250- 321, 2013.

GUILHOTO, L. M. F. F. Revisão terminológica e conceitual para organização de crises e epilepsias: relato da comissão da ILAE de classificação e Terminologia, 2005-2009. Novos Paradigmas?. **Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology**, v. 17, p. 100-105, 2011.

GUIMARÃES, R.C.A.. et al. Sesame and flaxssed oil: nutritional quality and effects on serum lipids and glucose in rats. **Food Science Technol**, v.33, p.209-217, 2013.

GUPTA, C.; PRAKASH, D. Nutraceuticals for geriatrics. **Journal of traditional and complementary medicine**, v. 5, p. 5-14, 2015.

HASSANZADEH, P. ARBABI, E.; ROSTAMI, F. The ameliorative effects of sesamol against seizures, cognitive impairment and oxidative stress in the experimental model of epilepsy. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 17, p. 100-107, 2014.

HIROSE, G. An overview of epilepsy: its history, classification, pathophysiology and management. **Brain and nerve**, v.65, n.5, p. 509-20, 2013.

IBÁÑEZ. V.; AGUILAR-AMAT, M. J. Tratamiento de la epilepsia. **Medicine- Programa de formación médica continuado acreditado**, v. 10, n. 74, p. 5002-5016, 2011.

INOVE, T. Et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids suppress the inflammatory responses of lipopolysaccharide-stimulated mouse microglia by activating SIRT1 pathways. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1862, p. 552-560, 2017.

INSTITUTE OF MEDICINE. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients). **The National Academy Press**, p. 1357, 2005.

INUZUKA-NAKAHARADA, L. M. Dieta cetogênica e dieta de Atkins modificada no tratamento da epilepsia refratária em crianças e adultos:[revisão]. **Journal of epilepsy and clinical neurophysiology**, v. 14, n. 2, p. 65-69, 2008.

JOHN, J.; NAMPOOTHIRI, M.; KUMAR, N. et al. Sesamol, a lipid lowering agent, ameliorates aluminium chloride induced behavioral and biochemical alterations in rats. **Pharmacognosy Magazine**, v 11, p. 327-336, 2015.

KAMAL-ELDIN, A.; MOAZZAMI, A.; WASHI, S. Sesame Seed Lignans: Potent Physiological Modulators and Possible Ingredients in Functional Foods & Nutraceuticals, **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, v. 3, n. 1, p. 17-29, 2011.

KMIETOWICZ, Z. Fish oil may help to reduce seizure frequency in drug resistant epilepsy. **British Medical Journal**, v.349, p. 5515-5520, 2014.

KOBOW, K. et al. Finding a better drug for epilepsy: Anti epileptogenesis targets. **Epilepsia**, v 53, p. 1868-1876, 2012.

KOSSOFF, E. H.; ZUPEC-KANIA, B. A.; RHO, J. M. Ketogenic diets: an update for child neurologists. **Journal of child neurology**, v. 24, n. 8, p. 979-988, 2009.

KUMAR, P.; KALONIA, H.; KUMAR, A. Sesamol attenuate 3-nitropropionic acid-induced Huntington-like behavioral, biochemical, and cellular alterations in rats. **Journal of asian natural products research**, v.11, p.439-50, 2009.

LAGO, A. A. do; CAMARGO, O. B.; FILHO, A. S. et al. Maturação e produção de sementes de gergelim cultivar IAC-China. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.36, n.2, p.363-369, 2001.

LANDS, B. Consequences of essential fatty acids. **Nutrients**, v. 4, n. 9, p. 1338-1357, 2012.

LENZ, M. et al. Pilocarpine-Induced Status Epilepticus Is Associated with Changes in the Actin-Modulating Protein Synaptopodin and Alterations in Long-Term Potentiation in the Mouse Hippocampus. **Neural Plasticity**, v. 2017, p. 1-7, 2017.

LIU, C. T.; LIU, M. Y. Daily sesame oil supplementation attenuates local renin-angiotensin system via inhibiting MAPK activation and oxidative stress in cardiac hypertrophy. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 42, p. 108-116, 2016.

LÖSCHER, W.; HÖNACK, D. Effects of the non-NMDA antagonists NBQX and the 2, 3-benzodiazepine GYKI 52466 on different seizure types in mice: comparison with diazepam and interactions with flumazenil. **British journal of pharmacology**, v. 113, n. 4, p. 1349-1357, 1994.

LOGAN, A.C. Neurobehavioral aspects of omega-3 fatty acids: possible mechanisms and therapeutic value in major depression. **Alternative medicine review**. Rev. 8, 410-425, 2003.

LUNA, V.R. **Efeito anticonvulsivante e ansiolítico do lipídio do leite caprino enriquecido com ácido linoleico conjugado em camundongos swiss**. 2015. 90. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição)- Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2015.

LUTAS, A.; YELLEN, G. The ketogenic diet: metabolic influences on brain excitability and epilepsy. **Trends in neurosciences**, v. 36, p. 32-40, 2013.

MCNAMARA, R. K.; VANNESI, J.J.; VALENTINE, C. J. Role of perinatal long-chain omega-3 fatty acids in cortical circuit maturation: Mechanisms and implications for psychopathology. **World Journal of Psychiatry**, v. 22, p. 15-34, 2015.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J.L. **Krause Alimentos Nutrição e Dietoterapia**. n. 13°. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 1228 p. 4v.

MAHENDRA, K. C.; SINGH, S. A. Bioactive lignans from sesame (*Sesamum indicum L.*): evaluations of their antioxidantes and antibacterial effects for food applications. **Journal Food Science Technology**, v.52, p.2934-41, 2015.

MAJDALAWIEH, A. F.; RO, H. S. Sesamol and sesame (*Sesamum indicum L*) oil enhance macrophage cholesterol efflux via up-regulation of PPAR γ 1 and LXR α transcriptional activity in a MAPK-dependent manner. **European Journal of Nutrition**, v.54, p.691-700, 2015.

MARTIN, C. A. et al. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MARRONI, S.P.; PORTUGUES, M.W.; COSTA, J.C. **Qualidade de vida em pacientes com epilepsia refratária ao tratamento medicamentoso: Perspectiva imediata e remota do procedimento cirúrgico**. 2006. 181f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências da Saúde)- Curso de Pós Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Pontifícia, Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

MELLO, L.E.; COVOLAN, L. Spontaneous seizures preferentially injure interneurons in the pilocarpine model of chronic spontaneous seizures. **Epilepsy Research**, v. 26, p. 123-129, 1996.

MERUSSE, J.L.B.; LAPICHICK, V.B.V. Instalações e equipamentos. **Manual para técnicos em bioterismo**. 2. ed. São Paulo: Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, cap.3, p.15-25, 1996.

MOLINARO, E.M.; GONÇALVES, L.F.; AMENDOEIRA, M.R. Imunologia. **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. 2.ed. Rio de Janeiro: EPSJV, cap. 1, 2010.

MONTEIRO, E. M. H.; CHIBLI, L. A. et al. Antinociceptive and Anti-inflammatory activities of the Sesame Oil and Sesamin. **Nutrients**, v.6, p. 1931-1944, May. 2014.

MOREIRA, S. R. G. Epilepsia: concepção histórica, aspectos conceituais, diagnóstico e tratamento. **Mental**, v.2, p. 107-122, nov. 2004.

MOSHÉ, S. L. et al. Epilepsy: new advances. **The Lancet**, v.385, p. 884-898, 2015.

NAMIKI, M. Nutraceutical Functions of Sesame: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, n. 7, p. 651–673, 2007.

PEREIRA, R. F. Implantação de técnicas histológicas no laboratório de imunofarmacologia. **Encontro de iniciação científica (Enic)**. Universidade Federal da Paraíba, 2013.

PITCHAIAH, G.; AKULA, A.; CHANDI, V. Anticancer Potential of Nutraceutical Formulations in MNU-induced Mammary Cancer in Sprague Dawley Rats. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, p. 46-50, 2017.

POMPILLI, M. et al. Polyunsaturated fatty acids and suicide risk in mood disorders: A systematic review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 74, p. 43-56, 2017.

PUSCEDDU, M. M. et al. n-3 PUFAs have beneficial effects on anxiety and cognition in female rats: Effects of early life stress. **Psychoneuroendocrinology**, v 58, p. 79-90, 2015.

RACINE, RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. **Electoencephalography and Clinical Neurophysiology**, v. 32, p. 281-294, 1972.

RANG, H.P; DALE, M.M. Fármacos Antiepilépticos. **Farmacologia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2007. Cap 40, p. 575-587.

REMIG, V.M.; WEEDEN, A. Tratamento Clínico Nutricional para Distúrbios Neurológicos. In: MAHAN, L.K. et al. **Krause Alimentos Nutrição e Dietoterapia**. 13° ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. cap 41, p. 923-955.

ROBERT, O. Practical applications of fish oil (ω -3 fatty acids) in primary care. **The Journal of the American Board of Family Practice**, v. 18, p. 28-36, 2005.

ROGAWSKI, M. A.; RHO, J. M.; LÖSCHER, W. Mechanisms of action of antiseizure drugs and the ketogenic diet. **Cold Spring Harbor Perspective Medicine**, v. 10, p. 1-30, 2016.

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. Histologia – Texto e Atlas. **Em Correlação com Biologia Celular e Molecular**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan. p. 1-9, 2012.

RUSKIN, D.N. et al. Ketogenic diets and thermal pain: dissociation of hypoalgesia, elevated ketones, and lowered glucose in rats. **The journal of pain**, v. 14, p. 467-474, 2013.

SALEEM, T. S.; CHETTY, C. M.; KAVIMANI, S. Sesame oil enhances endogenous antioxidants in ischemic myocardium of rat. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, p. 669-675, 2012.

SCORZA, F. A. et al. The other side of the coin: Beneficiary effect of ômega-3 fatty acids in sudden unexpected death in epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 13, p. 279-83, 2008.

SHARMA, G. et al. Phytochemicals of nutraceutical importance: do they defend against diseases. **Phytochemicals of nutraceutical importance**. CAB International, Wallingford, p. 1-19, 2014.

SHARMA, S.; TRIPATHI, M. Ketogenic diet in epileptic encephalopathies. **Epilepsy research and treatment**, v. 2013, jan. 2013.

SHERWIN, J. et al. Analgesia during radial artery cannulation: comparison of the effects of lidocaine applied by local injection or iontophoresis. **Anaesthesia**, v. 58, p. 474-476, 2003.

SHORVON, S. D. Epidemiology, classification, natural history, and genetics of epilepsy. **The Lancet**, v. 336, p. 93-96, 1990.

SIERRA, S. et al. Administration of docosahexaenoic acid before birth and until aging decreases kainate-induced seizures in adult zebrafish. **Brain research bulletin**, v. 88, p. 467-70, 2012.

SILVA, D. R. B.; JÚNIOR, P. F. M.; ABREU S. E. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. **Significance**, v. 11, p. 03, 2008.

SMITH, J.; RHO, J. M.; TESKEY, G. Campbell. Ketogenic diet restores aberrant cortical motor maps and excitation-to-inhibition imbalance in the BTBR mouse model of autism spectrum disorder. **Behavioural brain research**, v. 304, p. 67-70, 2016.

STORONI, M.; PLANT, G. T. The therapeutic potential of the ketogenic diet in treating progressive multiple sclerosis. **Multiple sclerosis international**, v. 2015, 2015.

SZAFLARSKI, J. P.; BEBIN, M. E. Cannabis, cannabidiol and epilepsy- From receptors to clinical response. **Epilepsy & behavior**, v. 41, p. 277-282, 2014.

TAHA, A.Y.; BURNHAM, W. M.; AUVIN, S. Polyunsaturated fatty acids and epilepsy. **Epilepsia**, v.51, n.8, p.1348-1358, 2010.

TEJADA. S. et al. Omega-3 Fatt acids in the management of Epilepsy. **Current topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, p. 1897-905, 2016.

TRÉPANIER, M.O. et al. Intravenous infusion of docosahexaenoic acid increases serum concentrations in a dose-dependent manner and increases seizure latency in the maximal PTZ model. **Epilepsy & Behavior**, v. 50, p. 71-76, 2015.

VALENTINA, M. R.; ALLISHA, W.; **Tratamento Clínico Nutricional para Distúrbios Neurológicos**. In: Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. n. 13°. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 1228 p. 4v.

VARZAKAS, T.; ZAKYNTHINOS, G.; VERPOORT, F. Plant Food Residues as a Source of Nutraceuticals and Functional Foods. **Foods**, v. 10, p. 1-72, 2016.

WANG, J. et al. Curcumin protects neuronal cells against status epilepticus-induced hippocampal damage through induction of autophagy and inhibition of necroptosis. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.10, p. 11-54, 2016.

WHO. World Healthy Organization. WHO Programme on Reducing the epilepsy treatment Gap - October, 2012. Disponível em:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en/index.html>

YASSINE, H. N. et al. Association of Docosahexaenoic Acid Supplementation With Alzheimer Disease Stage in Apolipoprotein E ϵ 4 Carriers: A Review. **Jama Neurology**, v. 74, p. 339-347, 2017.

YEHUDA, S.; RABINOVITZ, S.; MOSTOFISKY, D.I. Essential fatty acids and the brain: from infancy to aging. **Neurobiology of aging**, v.26, p. 98-102, 2005.

YOON, J. R.; KIM, H. D. L.; KANG, H. C. Polyunsaturated fatty acid-enriched diet therapy for a child with epilepsy. **Brain and Development**, v. 36, n. 2, p. 163-166, 2014.

YOU, Y. et al. Myelin damage of hippocampus and cerebral cortex in rat pentylenetetrazol model. **BrainResearch**, v. 1381, p. 208–216, 2011.

YOU DIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 18, n. 4, p. 383-399, 2000.

ZAPAROLI, J. X. et al. Omega-3 levels and nicotine dependence: A cross-sectional study and clinical trial. **European Addiction Research**, v. 22, p. 153-162, 2015.

APÊNDICES

ARTIGO

Atividade anticonvulsivante do óleo de gergelim e seu efeito sobre o perfil lipídico, consumo alimentar e peso em Ratos Wistar

Revista: Neuroscience

ISSN: 0306-4522

Fator de Impacto: 3.23

Qualis: A1 para Área de Nutrição

Anticonvulsant activity of sesame seed oil and its effects on the lipid profile, food consumption, and weight in Wistar mice

Anna Paula Amaro Gervazio da Silva*,^a Liana Clébia de Moraes Pordeus,^a Renan Marinho Braga,^b Kardilândia Mendes de Oliveira,^c Raquel Fragoso Pereira,^d Priscilla Paulo Lins^e

^a *Programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição, Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde-Campus 1, 58059-900, João Pessoa, Paraíba, Brasil.*

^b *Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarm), Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde-Campus 1, 58059-900, João Pessoa, Paraíba, Brasil.*

^c *Laboratório de Toxicologia, Universidade Federal da Paraíba- Campus 1, 58059-900, João Pessoa, Paraíba, Brasil.*

^d *Laboratório de Imunofarmacologia, Departamento de Morfologia, Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde-Campus 1, 58059-900, João Pessoa, Paraíba, Brasil.*

^e *Laboratório de Nutrição Experimental-Lanex, Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde-Campus 1, 58059-900, João Pessoa, Paraíba, Brasil.*

Corresponding Author:

Anna Paula A. G. da Silva, email: annapaulagervazio@hotmail.com, Rua Mascarenhas de Moraes, 139, 58765-000, Piancó, Paraíba, Brasil.

ABSTRACT

The supplementation with polyunsaturated fatty acids on the diet is seen as a viable complementary strategy for a refractory epilepsy drug therapy. The study investigated the action of sesame seed oil in the *status epilepticus* and its effect in the food intake, weight gain, and lipid profile in Wistar mice. The animals were randomized and received 5 mL/kg daily doses of distilled water, mineral oil, or both natural and roasted sesame seed oils, through orogastric tube for thirty days. The *status epilepticus* was induced with intraperitoneal injection of pilocarpine (350mg/kg, i.p.). It was found that both roasted and natural sesame seed oils did not show any toxic effect on the central nervous system and both promoted satiety, reducing the food consumption without interfering in the final weight gain. The roasted sesame oil reduced the cholesterol levels and showed the protective effect only in an initial stage of the acute epileptic seizure. The natural sesame oil improved the lipid profile reducing the triglyceride and VLDL levels, while increasing the HDL cholesterol levels. Furthermore, it also presented as a substance with anticonvulsant and neuroprotective potential properties, delaying the onset of clonic and generalized convulsive seizures in the pilocarpine test, and could be used as a coadjutant in the pharmacologic treatment of Refractory Epilepsy.

Key words: Epilepsy, Polyunsaturated Fatty Acids, Sesame Oil, Anticonvulsant

Conflict of Interest: The authors declare there is no conflict of interest.

INTRODUCTION

Epilepsy is a chronic disorder characterized for recurrent and unprovoked seizures that happens due an abnormal electrical activity in the brain (kobow et al, 2012). Despite the recent achievements of neuroscience, many patients afflicted by epilepsy do not respond satisfactorily for the drug therapy presenting uncontrolled seizures events that is known as a Refractory Epilepsy (RE) (Sierra, 2012).

Thus, alternative strategies to the usual pharmacological approach have been taken into consideration in recent years and, among them, the use of polyunsaturated fatty acid (PUFAs) (Sierra et al, 2012). PUFAs are essential for the brain integrity and development and its deficiency is related to the occurrence of many neurological disorders (Pusceddu et al., 2015)

Among the vegetal oils rich in long chain polyunsaturated fatty acids, stands out the sesame oil that is extracted from the sesame seeds (*sesamun indicum Lim*) and has been widely used by the food and pharmaceutical industries because of its lipid composition, high protein content, and distinctive flavor. Sesame is taken as a nutraceutical or functional food for presenting effects on prevention and treatment of chronic diseases, and it may be marketed in two different oil forms: roasted sesame seed oil and natural sesame seed oil. (Liu and Liu, 2016; Carvalho et al., 2012)

Some studies show that sesame seed oils present anti-hypertensive, Immunoregulatory, anticarcinogenic, anti-inflammatory, antioxidant and neuroprotective activity (Florent et al., 2006; Namiki, 2007; Monteiro et al., 2014; John et al., 2015). In the light of that, this study investigates whether sesame seed oil supplementation presents anticonvulsant activity after induction of the acute stage of Epilepsy as well as its effects on food intake, body weight and lipid profile of Wistar mice.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Experimental oils and Medicines

Both the roasted and natural sesame seed oils are commercialized and produced By *Sésamo Real Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios LTDA*. On the Table 1, are the results provided by the producer with the nutritional content regarding to the sesame oil was used in this study.

Table 1- Nutritional content of the roasted and natural sesame seed oils by Sésamo Real- 2016

	AMOUNT PER PORTION*	
	Roasted sesame oil	Natural sesame oil
Calories (kcal)	107	120
Carbohydrate (g)	0	0
Protein (g)	0	0
Total Fat (g)	12	14
Saturated Fat (g)	1,7	2
Monosaturated Fat(g)	5	5
Polyunsaturated Fat (g)	6	6
Trans Fat (g)	0	0
Omega 3 (g)	0,05	0,05
Omega 6 (g)	6	6
Omega 9 (g)	5	5
Cholesterol (mg)	0	0
Dietary Fiber (mg)	0	0
Iron (mg)	0	0
Sodium (mg)	0	0
Vitamin E (mg)	1,5	1,5

*Portion of 13 mL, Source: Producer's data, on:

http://www.sesamoreal.com.br/site/wpcontent/tabelas/tabela_oleo_gerg_natural.pdf

The mineral oil was commercially purchased from the *Óleo Mineral 100% Puro* brand produced by *Tayuyna Laboratory Ltda* this one do not present any kind of nutrition element once it is a petroleum derivate without any kind of nutrients to be used or metabolized in the body (Ainsworth et al., 2017). The drugs Diazepam, Pilocarpine, N-Methylscopolamine, Ketamine e xylazine were bought at *Sigma* (St. Louis, MO, USA).

Animals

Male adult Wistar rats weighing 250–350 g were selected from Prof. Dr. Thomas George's vivarium at the Biotechnology Center of Federal University of Paraíba. The animals were kept collectively in plastic cages stuffed with selected sawdust bedding under a 12-h light/12-h dark cycle schedule. They had free access to water and feed *ad libitum*. The animals were randomized in 5 groups (=8), supplemented once a Day during 30 days with distilled water (GW), mineral oil (GMO), roasted sesame oil (RSO) or natural sesame oil (NSO), both daily dosed at 5 mL/kg. Thirty minutes before the experiment, diazepam 5 mg/kg i.p. was administered in one of the groups supplemented with distilled water (GD). The research were submitted and approved by the protocol number 002/2016 of the Ethics Committee on Animal Experiments (*Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba.*)

The acute stage induction (*Status Epilepticus*)

The induction of the acute stage *status epilepticus* (SE), took place on the 31st experiment day. Firstly, it was necessary that the animals to take a dose of N-metilscopolamina, 1 mg/kg s.c (1mg/mL solution). Then 30 minutes later was given an injection of pilocacarpine 350 mg/kg i.p. (350 mg/mL solution). After that the animal was placed in a suitable cage to be observed the behavior. It was considered as a beginning of the test the moment that the Pilocarpine (t0) injection has been given. In sequence, after the pilocarpine dose, was evaluated the parameters: SE occurrence, and intensity of the seizure. Both behavioral changes and intensity have been analyzed according to Racine's scale: score 0: no response; score 1:

hyperactivity, anxiety, and vibrissa twitching; score 2: head nodding, clonic and myoclonic head spasms; score 3: unilateral or bilateral forelimb clonus; score 4: clonic seizure; score 5: generalized tonic-clonic seizure; score 6: animal death (Racine, 1972).

Biochemical analysis

The animals went through 12 hours fasting period and then were anesthetized with a mixed of intramuscular ketamine chloride (75 mg/kg) and intraperitoneal xylazine chloride (15 mg/kg). The blood was collected from vena cava (5 mL) to check the total cholesterol, tryglyceride, low density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL), and very low density lipoprotein (VLDL). The blood samples were centrifuged for 10 min to separate the blood serum that had been stored at -80°C for biochemical analysis.

Histological analysis

After the euthanasia, the rats' brains were fixed in formaldehyde buffered solution (10%) for 24 hours at room temperature. The fixed tissues were embedded in paraffin, sagittal slices were made at 1mm intervals from close to the mammillary body. For the microscopic studies 5 µm parts were done and stained using Hematoxylin- Phloxine and then analyzed with the help of an optic microscope (Motic BA 410). The digital images were captured through 5.0MP camera fixed on the microscope. For the pictures were used the MOTIC PLUS program in specific definitions as the used lens:10x or 40x. The histological analysis were made qualitatively by a qualified Professional, who analyzed parameters such as: tissue injury, organization of cell layers, preservation of neurons and neuroglia in the brain cortex, hippocampus and cerebellum.

Statistical analysis

For that we used the statistic program GraphPad Prism 6.0. The hypothesis tests were defined checking data for normality and examine relationships between variables classification for that used parametric (one way ANOVA) and nonparametric test (Kruskal-Wallis). Data were presented as a mean average $\pm$ standard error (S.E.M.). Were considered significant results when they presented a significant of 5% ($p < 0,05$).

RESULTS

It was found an increase in the satiety of the animals that were supplemented with roasted and natural sesame oil, these presented lower ration consume during the thirty days of supplementation (RSO $148,2 \pm 5,2$ g, $p < 0,05$; NSO $137,6 \pm 5,9$ g, $p < 0,001$), comparing to other groups (GW $166,1 \pm 3,5$ g; GMO $171,1 \pm 6,1$ g). These results are on the Figure 1.

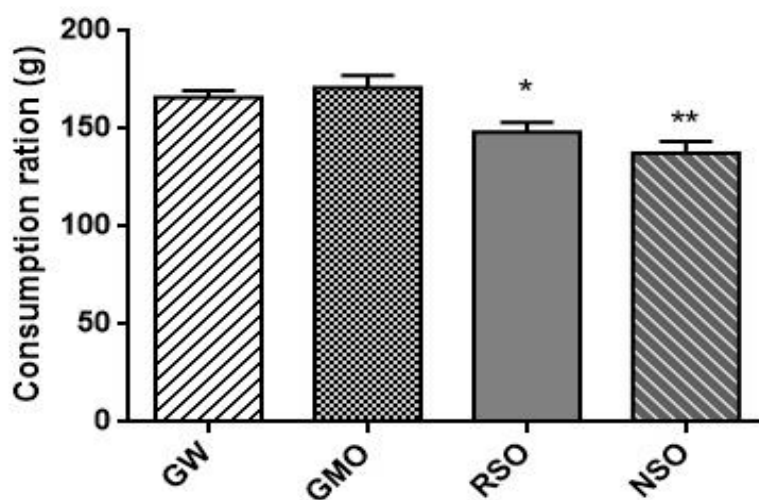


Fig. 1 Sesame oil supplementation effects on the ration consume in Wistar mice * $p < 0,05$ for roasted sesame oil vs. distilled water; ** $p < 0,001$ for natural sesame oil vs distilled water. For comparison between the groups was used one-way ANOVA and the data were expressed as mean $\pm$ S.E.M. The results represent the individual average of ration consume, weekly measured during 30

days of supplementation. GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil.

Observing the weight gain of the mice (fig.2), was noticed that there was not statistic difference between the experimental and the control group, both animals had similar weight gain during the supplementation day (GW $81,74 \pm 8,64$ g; GMO $66,24 \pm 9,29$ g; RSO $68,98 \pm 5,99$ g; NSO $84,30 \pm 6,98$ g)

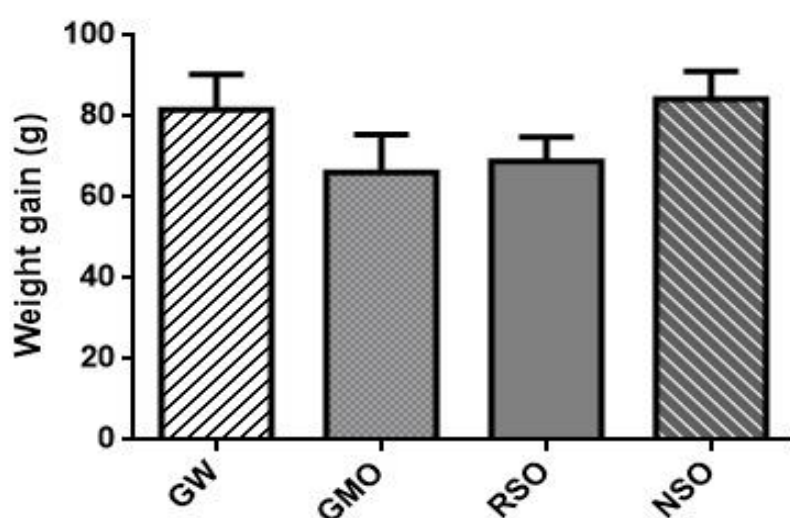


Fig. 2 Sesame oil supplementation effect on the weight gain in Wistar mice. For comparison between the groups was used one-way ANOVA and the data were expressed as an average $\pm$ s.e.m. GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil.

Related to the biochemical parameters (Table 2), there was not statistic difference between the groups in the glucose and LDL variables ($p > 0,05$). The rats treated with RSO presented lower levels of total cholesterol ($p < 0,05$) than compared to the control group. When analyzing the Triglycerides and VLDL variables, is possible to verify that the NSO group reduced the serum levels ($p < 0,05$) and raised the HDL levels if compared as the found on the GW group ($p < 0,05$).

Table 2. Sesame oil supplementation effect on the biochemical parameters in Wistar rats

Variable	GW	GMO	RSO	NSO
Glucose	173 ± 18,08	148 ± 12,57	193,3 ± 5,45	135,5 ± 19,01
Cholesterol	73 ± 5,91	71,25 ± 2,53	58 ± 2,89 ^a	77,25 ± 2,35
Triglycerides	77,75 ± 5,16	65,25 ± 7,27	67 ± 6,85	59 ± 6,78 ^a
HDL	36,75 ± 2,76	41,75 ± 2,64	32 ± 1,79	45 ± 0,96 ^a
LDL	17,20 ± 4,89	16,45 ± 1,33	12,60 ± 2,42	20,45 ± 2,67
VLDL	15,55 ± 1,03	13,05 ± 1,45	13,40 ± 1,37	11,80 ± 1,35 ^a

(a) $p < 0,05$ roasted or natural sesame oil vs. distilled water. For comparison between the groups was used one-way ANOVA to parametric data and Kruskal-Wallis for nonparametric data. The results were expressed as mean ± s.e.m. Each group consisted of 8 animals ($n = 8$). GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil.

When analyzed the anticonvulsive activity accordingly to the limbic seizures used in this study, the *status epilepticus* was induced after administered pilocarpine (350 mg/kg, i.p.). Was not possible to recognize precisely the score 0 and 1 of racine's scale, since most of the animals started demonstrating score 2 characteristics and so on. Furthermore, there was not expressed any score 6 result since there was not any animal death during the 60 minutes experiment.

The racine's scale score 2 checks the period that the animal takes to presenting heads nodding with clonic and myoclonic spasms and was found that there was not statistic difference between the experimental groups and control group (GW) ($p > 0,05$). The group that received GD treatment before the pilocarpine administration had increased the latency timing ($p < 0,001$) for the first symptoms (GW 188 ± 27,3 s; GMO 155,1 ± 68,4 s; RSO 216,8 ± 107,1 s; NSO 180,3 ± 60,38 s; GD 503,0 ± 73,23 s). These results are on the Fig 3.

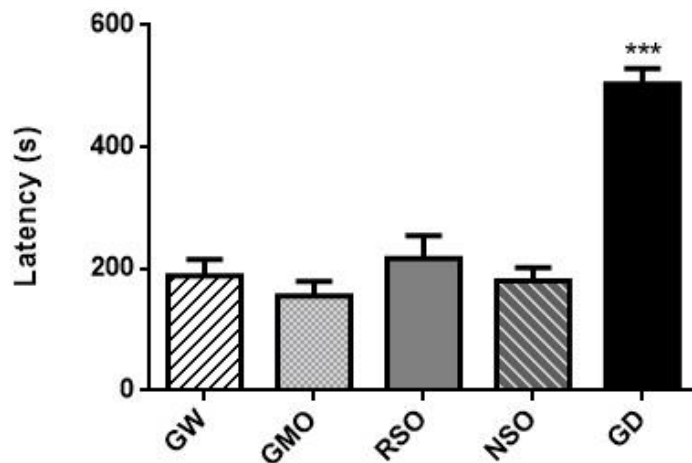


Fig.3. Sesame oil supplementation effect in Racine Scale level 2. *** $p < 0,001$ Diazepam vs. Distilled Water. For the comparison between groups was used one way ANOVA and data was expressed as average $\pm$ s.e.m (n=8 animals by group). GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, GD: diazepam.

On Racine's Scale level 3 (Fig.4), which analyze the occurrence of unilateral and bilateral forelimb clonus, was found that the experimental group administered with RSO did exhibit increased latency ($533,5 \pm 63,21$ s, $p < 0,01$) for the occurrence of the first symptoms usually shown at this stage, as well as the GD group ($600,3 \pm 61,84$ s, $p < 0,001$), the other groups did not present anticonvulsant activity at this stage (GW $316,9 \pm 37,50$ s; GMO $331,6 \pm 73,83$ s; NSO $330,5 \pm 61,19$ s).

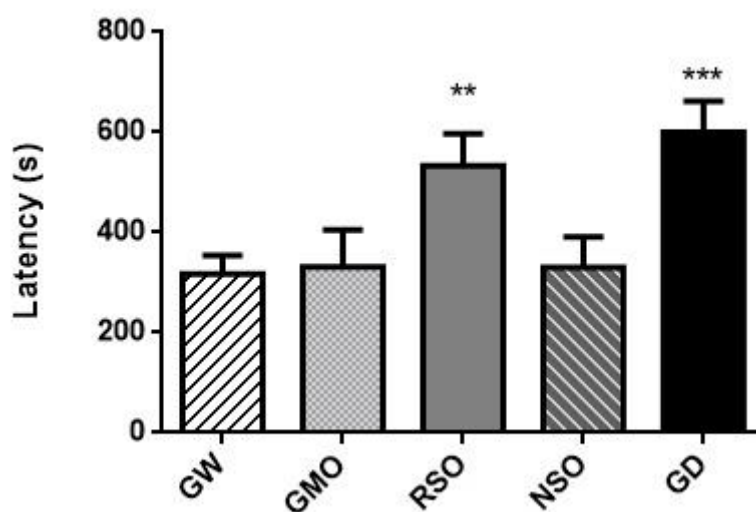


Fig 4. Sesame oil supplementation effect in Racine Scale level 3. ** $p < 0,01$ roasted sesame seed oil vs. distilled water *** $p < 0,001$ diazepam vs. distilled water. For the comparison between groups was used one way ANOVA for parametric data and Kruskal-Wallis for non-parametric; the

results were expressed as average $\pm$ s.e.m (n=8 animals by group). GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, GD: diazepam.

On Racine's Scale level 4 (Fig. 5) it is possible to observe the first induced clonic convulsive crisis. In this step, animals administered with NSO exhibit significant delay in the occurrence of seizures, characterizing protective effect ($p < 0,01$) – a result also found in the diazepam treated group (NSO $2841 \pm 266,7$ s, $p < 0,01$; GD $3488 \pm 74,25$ s, $p < 0,001$). The other groups did not exhibit anticonvulsant activity (GW $1209 \pm 365,6$ s; GMO $2263 \pm 514,8$ s; RSO $2416 \pm 478,1$ s).

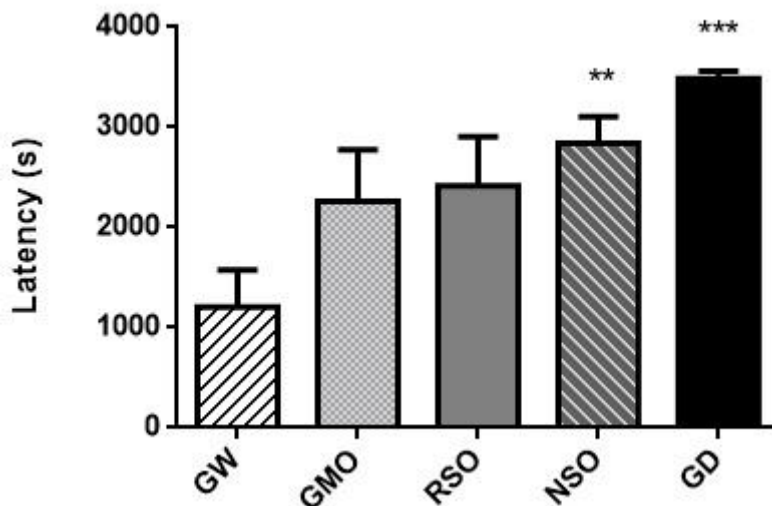


Fig 5. Sesame oil supplementation effects in Racine Scale level 4. ** $p < 0,01$ for natural sesame seed oil vs. distilled water. *** $p < 0,001$ for diazepam vs. distilled water. For the comparison between groups was used one way ANOVA and data was expressed as average $\pm$ s.e.m (n=8 animal by group). GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, GD: diazepam.

Level 5 on Racine's Scale analyzes the time for the onset of the first animal generalized seizure. At this level, anticonvulsant effects could be observed in the group treated with NSO due the delay in the occurrence of the convulsive crisis $p < 0,01$ (NSO $3178 \pm 251,4$ s, $p < 0,01$). Animals treated with GD did not exhibit seizures during the maximum observation time, defined as 60 minutes (GD $3600 \pm 0,0$ s, $p < 0,001$). The other groups did not exhibit any delay or prevention effect

influencing the onset of the generalized seizure (GW $2070 \pm 273,3$ s; GMO $2635 \pm 353,3$ s; RSO $2633 \pm 355,5$ s).

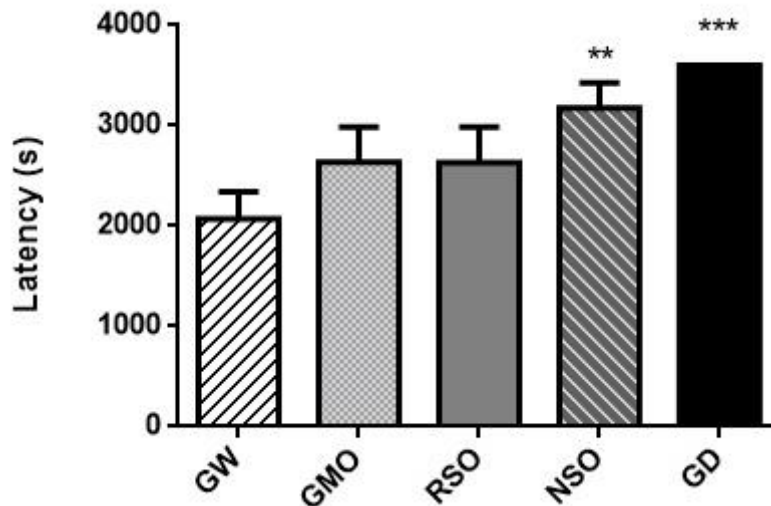


Fig 6. Sesame oil supplementation effects in Racine Scale level 5. **p < 0,01 for natural sesame seed oil vs. distilled water, *** p < 0,001 for diazepam vs. distilled water. For the comparison between groups was used one way ANOVA and data was expressed as average $\pm$ s.e.m (n=8 animals per group). GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, GD: diazepam.

Histological analysis of the slides containing the brain cortex of animals that were supplemented during thirty days, but were not induced to the epilepsy (Fig 7), presented compatible morphology in the cortical layers, exhibiting pyramidal cells – also known as pyramidal neurons or glia cells (neuroglia). On the microscope examination, the GMO group did show a decrease in neuron numbers, cellular layer disarray and tissue destruction (arrow) in the external granular layer, in the external pyramidal layer and in the internal granular layer. Images from GW, RSO and NSO groups did exhibit the preservation of cortical layer, showing that sesame seed oil does not present toxicity at the brain cortex level.

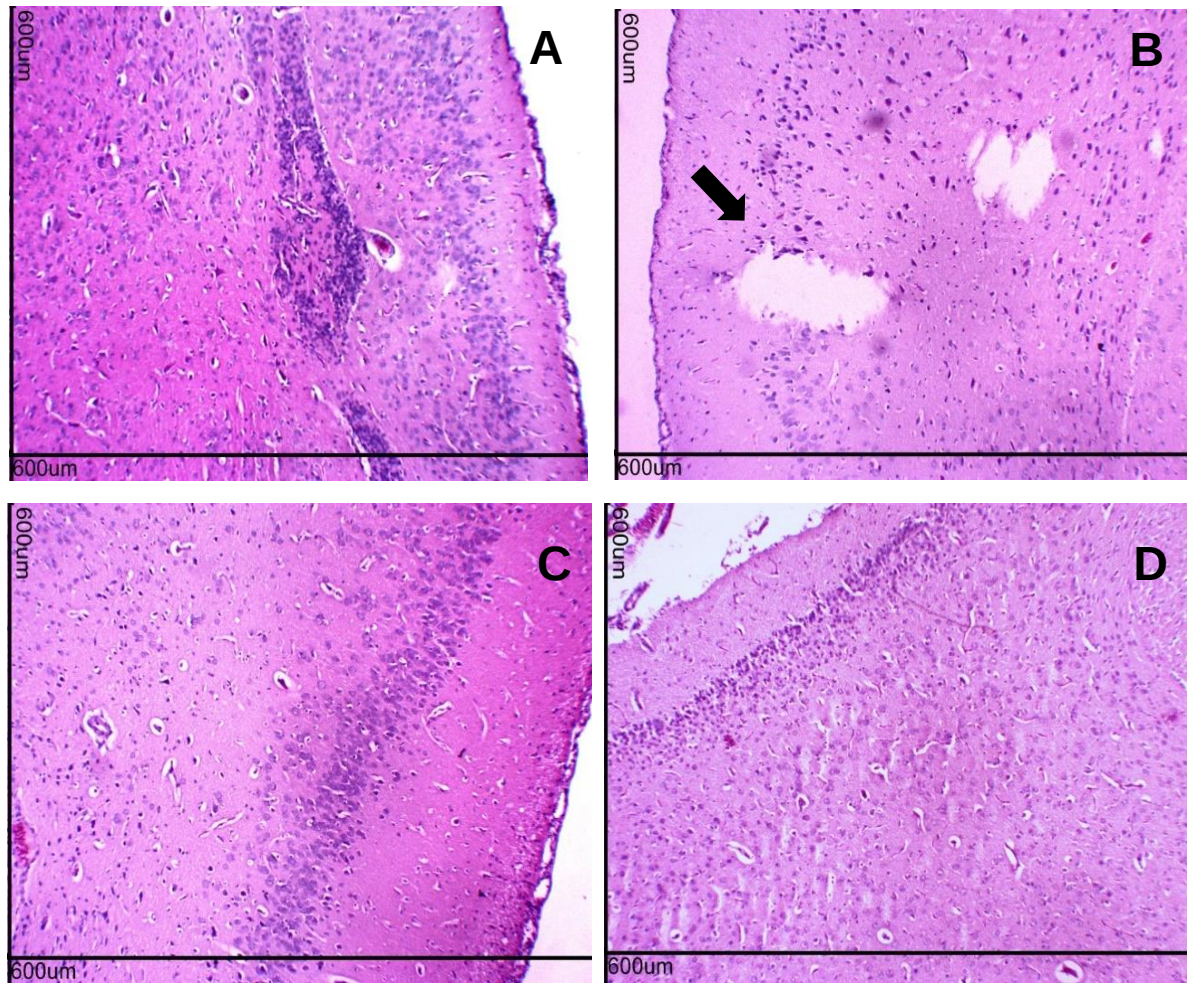


Fig 7. Photomicrographs of the animals brain cortex after supplementation: **A)** GW: well preserved pyramidal neurons and glial cells, **B)** GMO: destruction of tissue with neuronal loss (arrow), **C)** RSO: preservation of neurons and glia cells, similar to GW group, **D)** NSO: Neuronal organization with preservation of the cortical layer, similar to the GW and RSO groups. Hematoxylin- Phloxine, A.T. x100. GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, n= 5.

The images depicting the hippocampus area (Fig 8) of the supplemented animals that were not induced to the *status epilepticus* allows to identify, by comparison with the GW group, that the GMO group exhibit tissue destruction in the external pyramidal cell layer (arrow). However, groups RSO and NSO exhibit preservation of neurons, neuroglia and hippocampal layers.

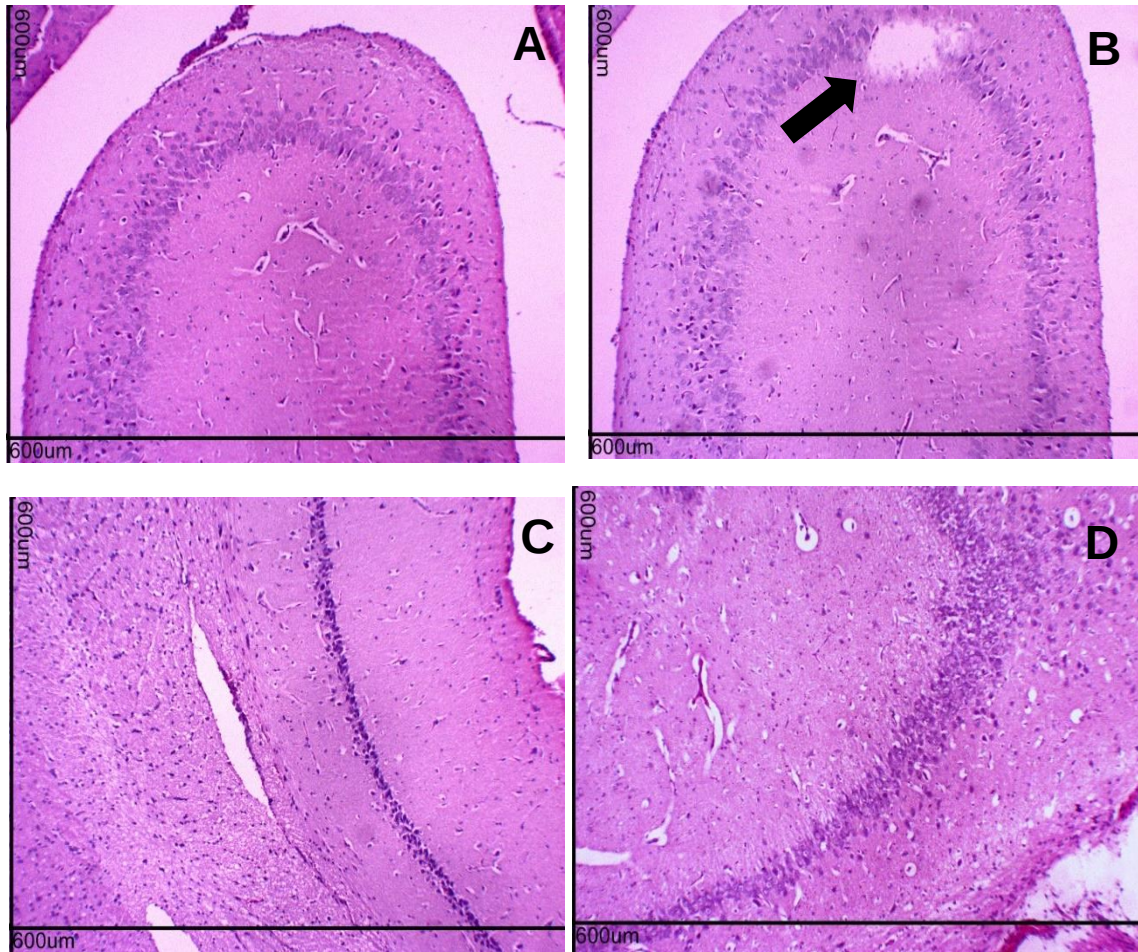


Fig 8. Photomicrographs showing the hippocampus of the animals after supplementation: **A)** GW: organization between hippocampal layers with preservation of neuronal cells, **B)** GMO: destruction of tissue with neuronal loss (arrow) involving external granular layer, external pyramidal cell layer and internal granular layer, **C)** RSO: preservation of neurons and glial cells, similar to the group treated with GW, **D)** NSO: neuronal organization with preservation of the hippocampal layer, similar to the groups GW and RSO. Hematoxylin- Phloxine, A.T. x100. GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, n=5.

The microscopic examination (fig. 9) shows that the animals induced to the acute phase of epilepsy did exhibit preservation of pyramidal neurons and neuroglia cells. The pilocarpine did not destroy brain tissue, but did promote cellular alteration. The GMO group did exhibit a decrease in the number of neurons (arrow) and disarray in the cellular layers. Meanwhile the GD group promoted the preservation of pyramidal neurons, observed due the thickness of the layer where their cell bodies predominate (arrow) – a result also seen in the GW, RSO and NOS.

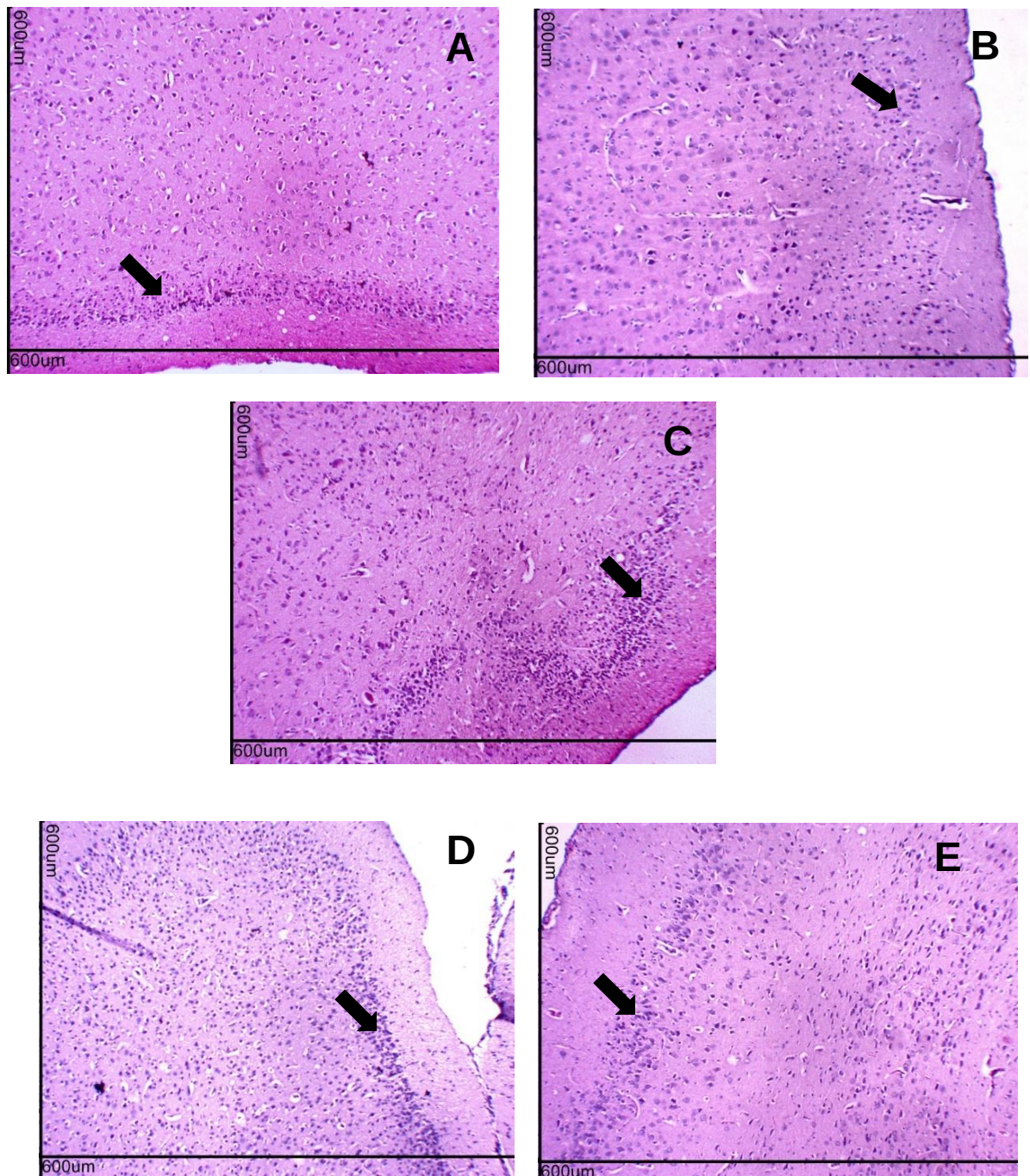


Fig 9. Brain cortex photomicrographs of animals induced to the acute phase of the epilepsy: **A)** GW: preserved neuronal cells and layers of the brain cortex, **B)** GMO: neuronal cells decrease in the brain cortex region (arrow), **C)** GD: preservation of neurons, observed by the layer thickness of external pyramidal cells, where their cells bodies predominate (arrow), **D)** RSO: Preservation of neuronal cells and layers of the brain cortex, similar to the GD group, **E)** NSO: findings similar to the GD and RSO groups. Hematoxylin- Phloxine, A.T. x100. GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, GD: diazepam, n= 5.

Through the observation of the hippocampus area (Fig 10), it is possible to see a reduction in the numbers of cells in the group GMO, by the narrowing of the

layer that contains the neuron's cell body (arrow). Also, it is possible to observe tissue separation and neural death, in the external granular layer, in the external pyramidal layer and in the internal granular layer. Nonetheless, the groups treated with GW, GD, RSO and NSO did exhibit preservation of the pyramidal neurons, neuroglia cells and the layers of hippocampal nerve tissue.

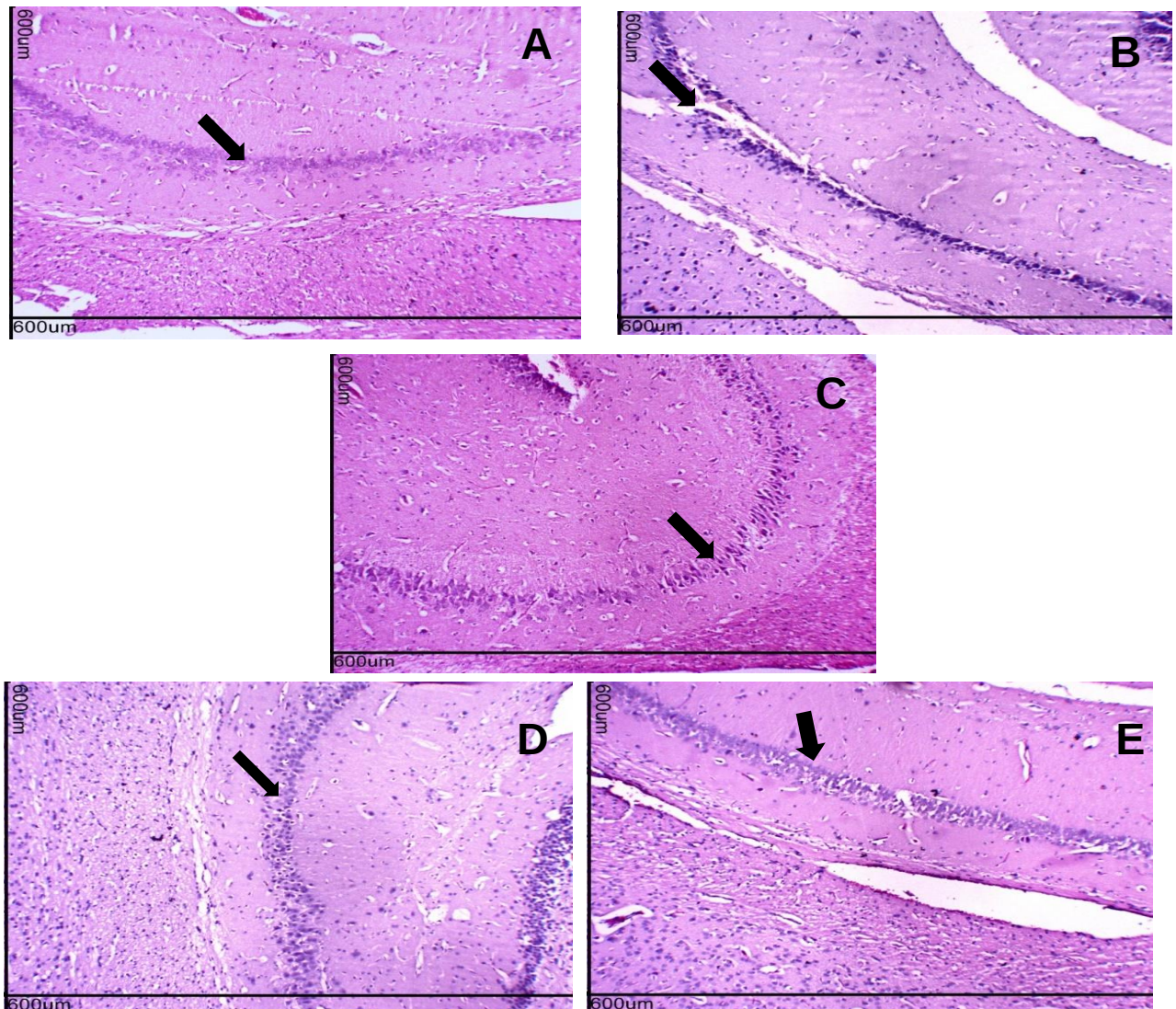


Fig 10 Photomicrographs showing the hippocampus of animals induced to the acute phase of epilepsy: **A)** GW: preservation of neurons (arrow) and organization between layers of hippocampal cells, **B)** GMO: decrease of neuronal cells and destruction of tissue with death of neurons in the layer of external pyramidal cells (arrow), **C)** GD: organization between the layers of hippocampal cells with preservation of neurons, **D)** RSO: findings similar to the GD group, **E)** NSO: findings similar to the GD and RSO groups. Hematoxylin- Phloxine, A.T. x100. GW: distilled water, GMO: mineral oil, RSO: roasted sesame oil, NSO: natural sesame oil, GD: diazepam, n= 5.

DISCUSSION

This study found that mice administered with both roasted and natural sesame seed oil exhibited lower food consumption when compared to other mice in the control group. The presence of fat and fatty acids in the oil can delay the gastric emptying, extending the transit time of the food in the gastrointestinal tract and thus, influencing in the satiety process (Heer, 2012). Moreover, lipids have many compositions and metabolic pathways, affecting appetite differently – the quality of the fat ingested is more important than the total fat intake when it comes to food intake control process (Flint et al., 2003; Ley et al., 2014).

The sesame seed oil rich in PUFAs exhibit effects upon mice's appetite, furthering the satiety in the animals – other studies already demonstrated that diets rich in PUFAs have similar impacts on satiety and are promising tools to the control of food intake (Lawton et al., 2000; Bruckley e Howe, 2009; Cintra et al., 2012; Ley et al., 2014). The polyunsaturated fatty acids in the sesame seed oil can also promote the increase of plasmatic levels of leptin – a protein secreted by adipose cells that acts upon the central nervous system, furthering the reduction of food intake (Hynes et al., 2003; Sankar et al., 2006).

The animals consumed different calories, but this difference did not influence the final weight gain. The groups of mice supplied with lipid did not exhibit any weight gain, above the control group. According to Duloo et al. (1995), the composition of the fatty acids, its chain length and saturation affect differently the fat accumulation, the body fat distribution, the thermogenesis and the oxidation rates. Some studies show that, although fat in general offer the same quantity of energy (9 Kcal/g), the ratio between PUFAs and saturated fatty acids in the diet must favor the former in order to balance the weight gain, because PUFAs increase the energy use and the basal metabolic rate (BMR), promoting increases in postprandial thermogenesis and lowering the adiposity accumulation through the increase of the lipid oxidation rate and, thus, contributing to the control of the body weight (Lawton, 2000; Jiang and Qi, 2009; Auguste et al., 2016).

The supplementation with natural sesame seed oil presented significant impact over the lipid profile, increasing HDL and lowering plasmatic levels of Triglycerides and VLDL. Many studies done in animals and human beings

demonstrated the beneficial effects of sesame seed oil over cardiovascular diseases and hypercholesterolemia (Bhaskaran et al., 2006; Sankar et al., 2006; Guimarães et al., 2013). The study done by Saleem et al. (2012), shows that the administration of 10mL/kg of sesame seed oil improved the lipid profile, lowering cholesterol, triglycerides, LDL, VLDL and increasing HDL. The treatment also lowered the mean arterial pressure, exhibiting protective effects similar to captopril compositum in myocardial injury patients.

The thirty days lipid supplementation using roasted sesame seed oil exhibit a significant decrease in plasmatic cholesterol levels. According to Namiki (2007), the lignans present in roast sesame seed oils combined with tocopherol provoke the decrease of serum cholesterol due the inhibition of its absorption by the intestines and suppression of its synthesis by the liver. The roasted sesame seed oil did not influence Triglycerides, HDL and VLDL levels. This difference between natural and roasted sesame seed oils could be credited to the bigger concentration of natural antioxidants in the former – like sesamin and sesamolin –, and bigger concentrations of sesamol – a powerful regulator of plasmatic cholesterol levels – in the latter (Embrapa, 2008; John et al., 2015).

The study done by Zhang et al. (2016), found that sesamin plays an important role in regulating the lipid metabolism, increasing HDL and lowering serum concentrations of triglycerides, LDL and VLDL in experiments involving hypercholesterolemic mice. However, the study says that the mechanism by which the sesamin works is still controversial.

Ketogenic diet also is well-known for its positive results in the treatment of refractory epilepsy, but it also provokes lipid alterations that lead to cholesterol and triglycerides increase (Ellenbroek et al., 2014; Coppola et al., 2014). Thus, it would be beneficial if more studies analyzed the role of sesame seed oil in the ketogenic diet in order to evaluate its effects upon the lipid profile.

In the last decades, we saw a significant improvement regarding the understanding of the inner workings of epilepsy in humans, due studies using experimental models of epilepsy. In this study, we found that the natural sesame seed oil anticonvulsant properties managed to protect animals against the more acute phases of Pilocarpine induced epilepsy – the tonic-clonic, or generalized, seizures. This result coincides with the findings of Kumar et al. (2011), where a sesame extract protected the animals during the generalized seizures induced

through the electroconvulsive test. In the studies done by Advani et al. (2011), and Hassanzadeh et al. (2014), sesame oil played a significant role in controlling the seizures provoked by the Pilocarpine test and pentylenetetrazol (PTZ). Natural sesame seed oil seems to promote the enhancement of the GABA neurotransmitter, inhibiting neural excitability and either preventing acute seizure crisis or partially inhibiting the voltage-gated ionic channel due its anti-oxidant properties (Advani, 2011).

Roasted sesame seed oil did not exhibit the same benefits regarding the anticonvulsant activity found in the natural sesame seed oil. One possible explanation for that is that the levels of lignans, like sesamin and sesamol – which are responsible by the anticonvulsant properties of the oil –, are significantly reduced in the roasted sesame seed oil. Both sesamin and sesamol protect neurons and lower the severity of the seizures by promoting the decrease of nitric oxide and cytokines like the interleukin-6, and also the tumor necrosis factor (Hou et al., 2003; Kamal-Edin et al., 2011).

Microscope analysis found that the supplementation through both sesame seed oil did not provoke neither tissue nor cellular alterations and had hasn't any toxic effect upon the central nervous system (when administered in 5 ml/kg). The opposite was observed in the group administered mineral oil – in this group there were neuronal loss and tissue destruction in the brain cortex and hippocampus. These results are similar to others, where the sesame oil seems a safe substance at 10 ml/kg doses (Advani et al., 2011).

The pilocarpine induced epilepsy model has been extensively studied regarding histologic alterations. In this study, we analyzed the following central nervous system areas: brain cortex, hippocampus, white matter and grey matter. No lesions originated from pilocarpine were observed in the aforementioned areas, but we did identify changes in the organization of the layers of nerve tissue in the brain cortex and hippocampus, probably caused during the mineral oil supplementation – these alterations were also found in the animals that were not induced in the *status epilepticus*. This result is similar to other ones that, using this same pilocarpine model, affirm that the epileptogenic changes of brain tissue, like the mossy fiber sprouting, happen secondarily to the epileptic seizures and manifest itself in its silent phase, existing a clear articulation between these neurological changes and the *status epilepticus* acute phase duration (Mello e Covolan, 1996; Ye, 2013).

The brain cortex and hippocampus of animals supplemented with mineral oil and induced in the *status epilepticus* exhibited alterations during the histological analysis, showing neuronal losses, brain cortex layers disarray and tissue separation between the external granular and the external pyramidal cell layers. The neuronal loss due mineral oil could make the organism more vulnerable to seizures, given that in the temporal lobe epilepsy the most afflicted structure is the hippocampus – which can exhibit from selective neuronal losses to hippocampal sclerosis or mossy fiber sprouting. Such neuronal damage in the limbic system including the hippocampus can lead to memory loss and neurological dysfunctions (Hassanzadeh et al., 2014).

There are no studies related to the effects of mineral oil in rat's brains, but works using fishes show swimming difficulties, lethargy and disorientation after the administration of mineral oil in water (Kochhann, 2010). Thus, is advisable to promote more studies analyzing and evaluating the effects of mineral oil consumption upon the central nervous system.

The sesame seed oil exhibited protective effects in the same cortical and hippocampal areas, preserving the existing organization of layers and neural cells. According to Mori et al. (2004), antioxidants decrease the reactive oxygen species, promoting higher neuron protection and stimulating neurogenesis, lowering the severity of potential epileptic seizures. Sesame seed oil presents in its composition substances with antioxidant properties that are able to inhibit the exacerbation of the oxidative stress involved in pilocarpine induced seizures (Hsieh et al., 2011).

The aforementioned studies did not discriminate which kind of oil was used while evaluating the sesame seed oil anticonvulsant activity – natural or roasted. This could be a positive contribution made by this present study, due the different results found here between the effects of the two oils over and during the pilocarpine induced epilepsy.

CONCLUSION

Natural and roasted sesame seed oil did not present any toxic effect in the brain, improved the lipid profile and increased satiety without interfering in the animals final weight gain. Roasted sesame seed oil exhibit protective properties only during the initial phase of the acute epileptic seizure. The natural sesame seed oil

presented anticonvulsant and neuroprotective potential and could be used as a complementary substance in the pharmacological treatment of Refractory Epilepsy.

Acknowledgement

Thanks to the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) due its financial support during the research.

Authors Contributions

Anna Paula A. G. da Silva contributed with planning and execution of the study in the laboratory, data collection during the experiment, analysis of statistic data and also elaborated the manuscript. Liana C. M. Pordeus designed the study, oversaw the work at the laboratory, contributed to the statistical analysis and did the critical reading of the manuscript. Renan B. Marinho contributed to data collection during the experiment and statistical analysis. Kardilândia M. de Oliveira contributed with laboratory work for biochemical data analysis. Rachel F. Pereira contributed with laboratory work, data collection during the experiment and preparation of histopathological slides. Priscilla P. Lins contributed with the oral gavage supplementation of the animals, laboratory work and data collection during the experiment. All authors read and approved both the final manuscript and its submission.

REFERÊNCIAS

Ainsworth AJ, Fredrickson JR, Morbeck DE (2017) Improved detection of mineral oil toxicity using an extended mouse embryo assay. *J Assist Reprod Genet* 6: 1-7, 2017.

Advani U, Anwar A, Menghani EKTA (2011) anticonvulsant potentials of *Sesamum indicum* and *Allium sativum* oil alone and in combination in animal models. *Int J Pharm Pharmaceut Sci* 3: 154-158.

Auguste S, Fiset A, Fernandes MF, Hryhorczuk C, Poitout V, Alquier T, Fulton S (2016) central agonism of GPR120 acutely inhibits food intake and food reward and chronically suppresses anxiety-like behaviour in mice. *Int J Neuropsychopharmacol* 19: 1- 10.

Bhaskaran S, Santanam N, Penumetcha M, Parthasarathy S (2006) inhibition of atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-negative mice by sesame oil. *J Med Food* 9: 487-490.

Buckley JD, Howe PRC (2009) anti-obesity effects of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Obes rev* 10: 648-659.

Carvalho, RHR, Galvão EL, Barros JAC, Conceição MM, Sousa EMBD (2012) extraction, fatty acid profile and antioxidant activity of sesame extract (*Sesamum Indicum* L.). *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 29: 409-420.

Cintra DE, Ropelle ER, Moraes JC, Pauli JR, Morari JSCT, Velloso LA (2012) unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. *PLoS One* 7: 305-71.

Coppola G, Natale F, Torino A, Capasso R, D'Aniello A, Pironti E, Verrotti, A (2014) the impact of the ketogenic diet on arterial morphology and endothelial function in children and young adults with epilepsy: A case–control study. *Seizure* 23: 260-265.

Dulloo AG, Mensi N, Seydoux J, Girardier L (1995) differential effects of high-fat diets varying in fatty acid composition on the efficiency of lean and fat tissue deposition during weight recovery after low food intake. *Metabolism* 44: 273-279.

Ellenbroek JH., Van Dijck L, Töns HA, Rabelink TJ, Carlotti F, Ballieux BE, Koning EJ (2014) long-term ketogenic diet causes glucose intolerance and reduced β - and α -cell mass but no weight loss in mice. *Am J of Physiol Endocrinol Metab* 306: 552-558.

Embrapa (2008) chemical composition of different sesame genotypes. *Research and Development Bulletin- Ministry of Agriculture Livestock and Food Supply* 81: 1-13.

Flint A, Helt B, Raben A, Toubro S, Astrup A (2003) effects of different dietary fat types on postprandial appetite and energy expenditure. *Obes Res* 11: 1449-1455.

Florent S, Malaplate-Armand C, Youssef I, Kriem B, Koziel V, Escanyé M C, Pillot T (2006) docosahexaenoic acid prevents neuronal apoptosis induced by soluble amyloid- β oligomers. *J Neurochem* 96: 385-395.

Guimarães RDCA, Macedo MLR, Munhoz CL, Filiu W, Viana LH, Nozaki VT, Hiane, P.A (2013) sesame and flaxseed oil: nutritional quality and effects on serum lipids and glucose in rats. *Food Sci Technol* 33: 209-217.

Hassanzadeh P, Arbabi E, Rostami F (2014) the ameliorative effects of sesamol against seizures, cognitive impairment and oxidative stress in the experimental model of epilepsy. *Iran J Basic Med Sci* 17: 100-107.

Heer M (2012) an analysis of the “Effect of Olibra: A 12-Week Randomized Control Trial and a Review of Earlier Studies”. *J Diabetes Sci technol* 6: 709-711.

Hou RCW, Chen HL, Tzen JT, Jeng, KCG (2003) effect of sesame antioxidants on LPS-induced NO production by BV2 microglial cells. *Neuroreport* 14: 1815-1819.

Hsieh PF, Hou CW, Yao PW, Wu SP, Peng YF, Shen ML, Jeng KC (2011) sesamin ameliorates oxidative stress and mortality in kainic acid-induced status epilepticus by inhibition of MAPK and COX-2 activation. *J Neuroinflammation* 8: 57-60.

Hynes GR, Heshka J, Chadee K, Jones PJ (2003). Effects of dietary fat type and energy restriction on adipose tissue fatty acid composition and leptin production in rats. *J lipid Res* 44: 893-901.

Jiang J, Qi KM (2009) polyunsaturated Fatty Acids and Obesity. *J Applied Clinical Pediatrics* 19: 29-31.

John J, Nampoothiri M, Kumar N, Mudgal J, Nampurath GK, Chamallamudi MR (2015) sesamol, a lipid lowering agent, ameliorates aluminium chloride induced behavioral and biochemical alterations in rats. *Pharmacogn mag* 11: 327-330.

Kamal-Eldin A, Moazzami A, Washi S (2011) sesame seed lignans: potent physiological modulators and possible ingredients in functional foods & nutraceuticals. *Recent Pat food Nutri* 3: 17-29.

Kobow K, Auvin S, Jensen F, Löscher W, Mody I, Potschka H, Prince D, Sierra A, Simonato M, Pitkanen A, Nehlig A, Rho J (2012) finding a better drug for epilepsy: antiepileptogenesis targets. *Epilepsia* 53: 1868-1876.

Kochhann D (2010) Exposure of tambaqui to petroleum: physiological, biochemical and behavioral markers. *National Institute of Research of the Amazon - INPA*.

Kumar P, Yadav V, Chaurasia V, Rao VC (2011) pharmacological Investigation of Anticonvulsant Activity of *Sesamum indicum* Linn. 50% Ethanol Leaves Extract. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 4: 1822-1824.

Lawton CL, Delargy HJ, Brockman J, Smith FC, Blundell JE (2000) the degree of saturation of fatty acids influences post-ingestive satiety. *Br J Nutr* 83: 473-482.

Ley SH, Hamdy O, Mohan V, Hu FB (2014) prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. *The Lancet* 383: 1999-2007.

Liu CT, Liu MY (2016) daily sesame oil supplementation attenuates local renin-angiotensin system via inhibiting MAPK activation and oxidative stress in cardiac hypertrophy. *J Nutr Biochem* 42: 108-116, 2016.

Mello LE, Covolan L (1996) spontaneous seizures preferentially injure interneurons in the pilocarpine model of chronic spontaneous seizures. *Epilepsy Res*, 26: 123-129.

Monteiro ÉMH, Chibli LA, Yamamoto CH, Pereira MCS, Vilela FMP, Rodarte MP (2014) antinociceptive and anti-inflammatory activities of the sesame oil and sesamin. *Nutrients* 6: 1931-1944.

Mori A, Yokoi I, Noda Y, Willmore LJ (2004) natural antioxidants may prevent posttraumatic epilepsy: a proposal based on experimental animal studies. *Acta Med Okayama* 58: 111-118.

Namiki, M (2007) nutraceutical Functions of Sesame: A Review. *Cri Rev Food Sci Nutr* 47: 651–673.

Pusceddu MM, Kelly P, Ariffin N, Cryan JF, Clarke G, Dinan TG (2015) n-3 PUFAs have beneficial effects on anxiety and cognition in female rats: Effects of early life stress. *Psychoneuroendocrinology* 58: 79-90.

Racine RJ (1972) modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin neurophysiol* 32: 281-294.

Saleem TS, Chetty CM, Kavimani S (2012) sesame oil enhances endogenous antioxidants in ischemic myocardium of rat. *Rev Bras Pharmacogno* 22: 669-675.

Sankar D, Rao MR, Sambandam G, Pugalendi KV (2006) effect of sesame oil on diuretics or β -blockers in the modulation of blood pressure, anthropometry, lipid profile, and redox status. *Yale J Biol Med* 79: 19-26.

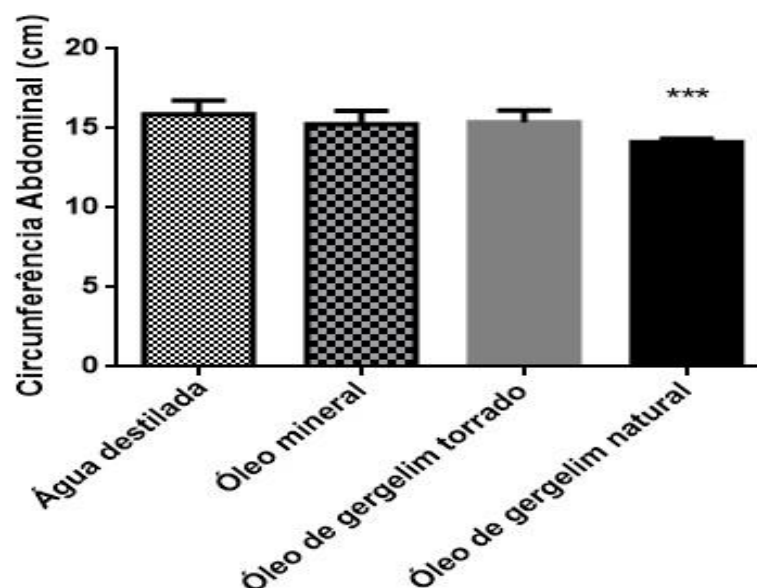
Ye Y, Xiong J, Hu J, Kong M, Cheng L, Chen H, Li T, Jiang L (2013) Altered hippocampal myelinated fiber integrity in a lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy: a histopathological and stereological investigation. *Brain Res* 1522: 76:87.

Sierra S, Alfaro, JM, Sánchez S, Burgos JS (2012) administration of docosahexaenoic acid before birth and until aging decreases kainate-induced seizures in adult zebrafish. *Brain Res Bull* 88: 467-470.

Zhang R, Yu Y, Deng J, Zhang C, Zhang J, Cheng Y, Yang H (2016) sesamin Ameliorates High-Fat Diet–Induced Dyslipidemia and Kidney Injury by Reducing Oxidative Stress. *Nutrients* 8: 276- 280.

RESULTADOS NÃO PUBLICADOS

Figura 1. Circunferência abdominal dos animais após suplementação



*** $p < 0,001$ para óleo de gergelim natural versus água destilada. Para comparação entre os grupos utilizou-se teste t não pareado para dados paramétricos e Mann Whitney para dados não paramétricos, os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão, sendo $n = 8$ animais por grupo.

Figura 2. Circunferência torácica dos animais após suplementação

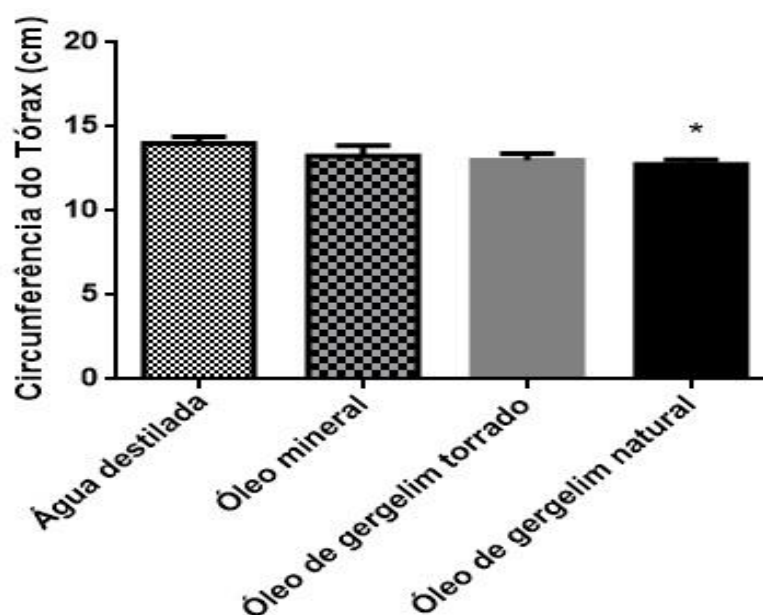


Fig. 2 * $p < 0,05$ para óleo de gergelim natural versus água destilada. Para comparação entre os grupos utilizou-se Mann Whitney, os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão, sendo $n = 8$ animais por grupo.

Figura 3. Avaliação do comprimento dos animais após suplementação.

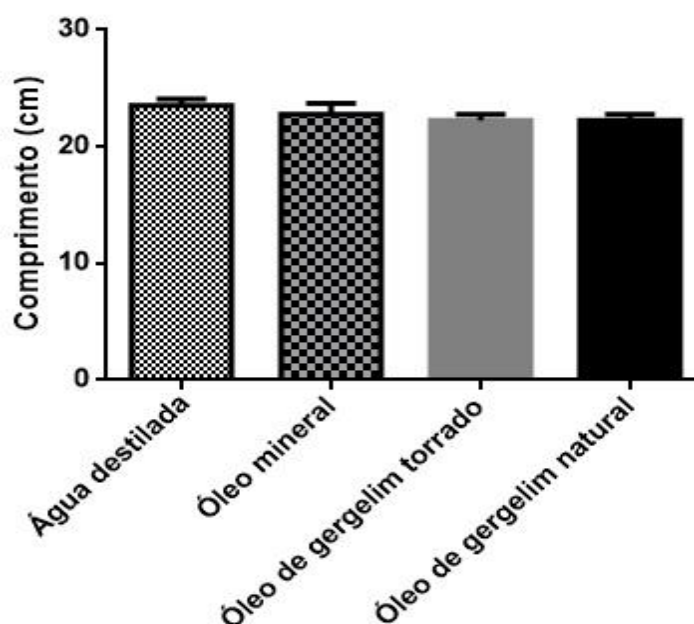


Fig 3. Para comparação entre os grupos utilizou-se Mann Whitney, os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão, sendo $n = 8$ animais por grupo.

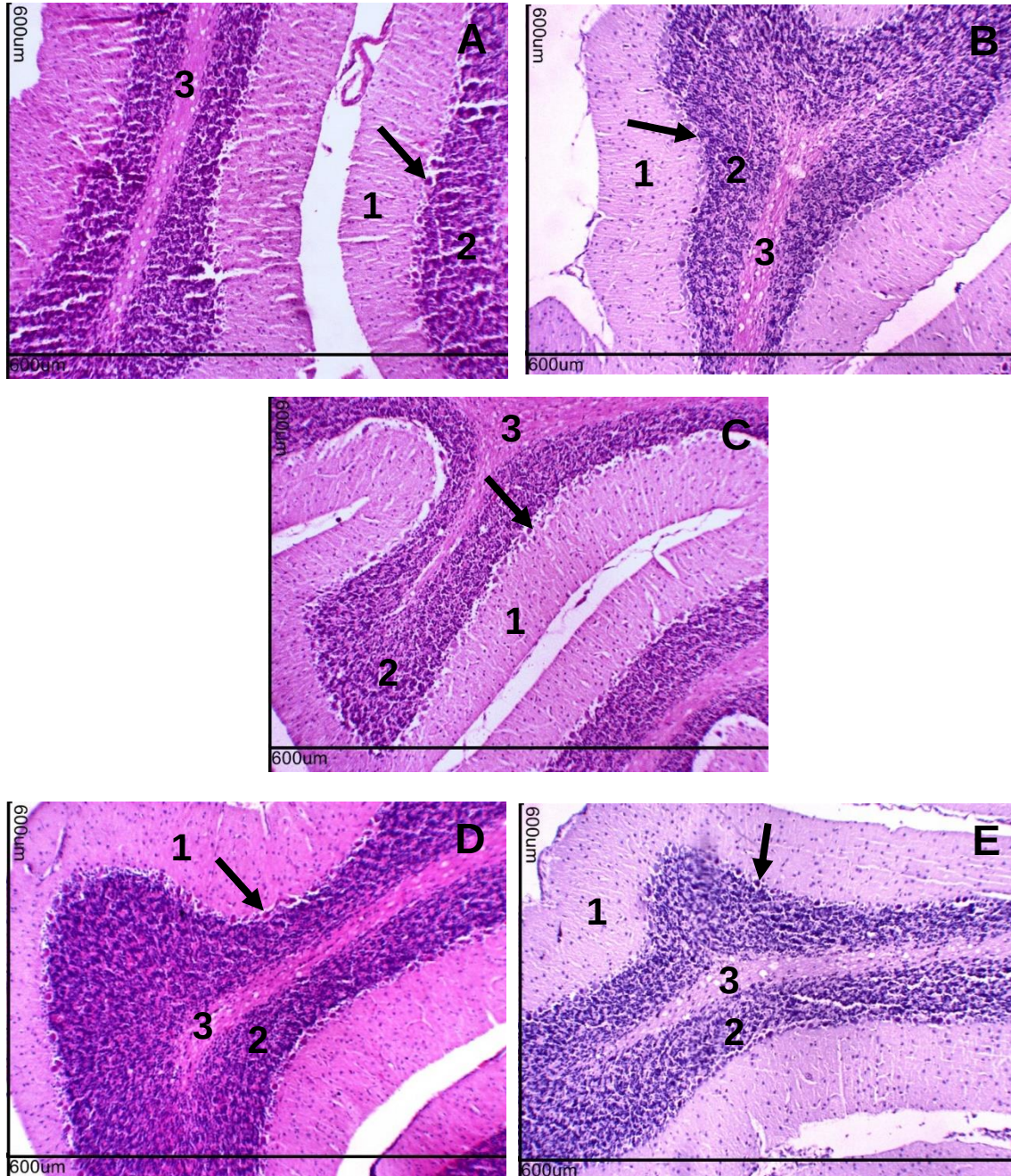
Tabela 1. Efeito da suplementação sobre os parâmetros bioquímicos em animais com *Status Epilepticus*.

Variável	Água Destilada	Óleo Mineral	Óleo de Gergelim Torrado	Óleo de Gergelim Natural
Glicose	300,3 $\pm$ 112,7	345,8 $\pm$ 118,4	310,3 $\pm$ 84,96	355,3 $\pm$ 104,5
Colesterol	38,25 $\pm$ 5,4	39 $\pm$ 8,1	31,75 $\pm$ 5,5	62,75 $\pm$ 13,3
Triglicerídeos	85,25 $\pm$ 18,96	56,5 $\pm$ 21,55	71,50 $\pm$ 20,90	69 $\pm$ 12,31

HDL	16,4 ± 1,5	15,40 ± 3,1	14,75 ± 1,95	39,75 ± 8,46
LDL	5,9 ± 4,9	12,48 ± 3,2	4,6 ± 4,9	9,2 ± 4,8
VLDL	17,05 ± 3,8	11,30 ± 4,3	14,30 ± 4,2	13,8 ± 2,5

Para comparação dos grupos experimentais com o grupo controle utilizou-se teste t não pareado para dados paramétricos e Mann Whitney para dados não paramétricos, os resultados foram expressos como média ± desvio padrão, sendo n= 8 animais por grupo.

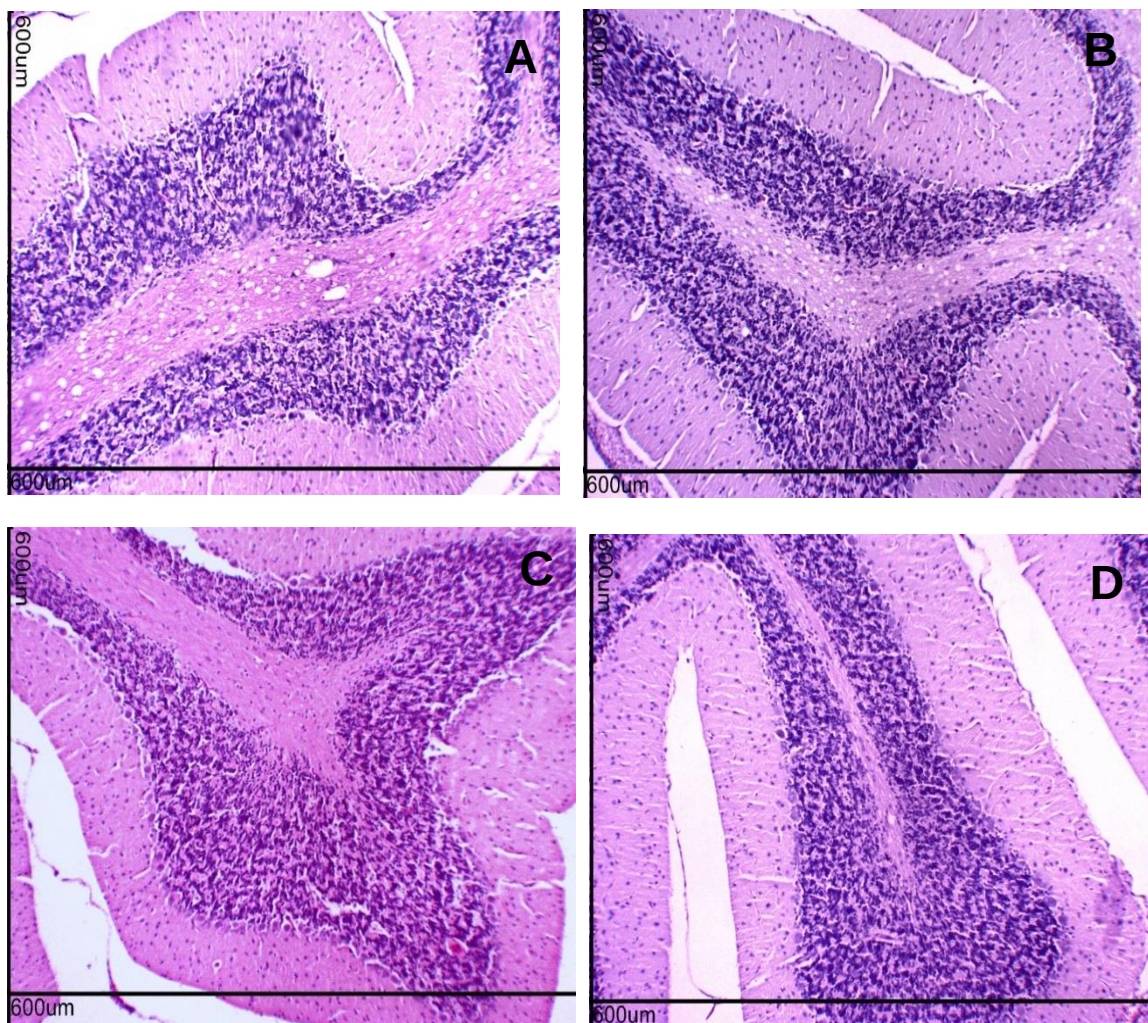
FIGURA 4. ANÁLISES HISTOLÓGICAS DO CEREBELO DOS ANIMAIS INDUZIDOS À EPILEPSIA.



Fotomicrografias do cerebelo dos animais dos grupos experimentais: **A)** água destilada, **B)** Óleo mineral, **C)** Diazepam, **D)** Óleo de Gergelim Natural, **E)** Óleo de Gergelim Torrado. **Substância cinzenta:** 1. Camada molecular, 2. Camada granulosa, seta – camada de células de Purkinje, 3. **Substância branca.** Hematoxilina- Floxina B, A.T. x100.

O cerebelo não apresentou alteração histológica ao se comparar os grupos experimentais tratados com água destilada, óleo mineral, diazepam, óleo de gergelim natural e torrado. A região cortical cerebelar permaneceu com suas características nas camadas molecular, granular e de células de Purkinje, bem como a substância branca.

FIGURA 5. ANÁLISES HISTOLÓGICAS DO CEREBELO DOS ANIMAIS APÓS SUPLEMENTAÇÃO.



Fotomicrografias do cerebelo dos animais dos grupos experimentais: **A)** água destilada, **B)** Óleo mineral, **C)** Óleo de Gergelim Natural, **D)** Óleo de Gergelim Torrado. Hematoxilina-Floxina B, A.T. x100.

O cerebelo não apresentou alteração histológica ao se comparar os grupos experimentais tratados com água destilada, óleo mineral, óleo de gergelim natural e torrado preservando sua características morfológicas nas camadas da substância cinzenta e na substância branca.

ANEXO



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Efeito da suplementação com óleo de gergelim (*Sesamum indicum* Linn) sobre epileptogênese induzida por pilocarpina em ratos Wistar", protocolo nº 002/2016 sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. Liana Clébia de Moraes Pordeus – que envolve a produção, manutenção e/ou a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

Vigência do Projeto	2015 a 2017
Espécie/linhagem	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Número de animais	66 animais
Idade/peso	120 dias/ 250-350g
Sexo	Machos
Origem	Biotério Professor Thomas George - UFPB

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
 CEUA-UFPB