

## EFEITO DO TRATAMENTO COM $\beta$ -MIRCENO SOBRE A SOBREVIDA DE CAMUNDONGOS EM MODELO EXPERIMENTAL DE SEPSE

Isadora Valério Martins da Silva (PIBIC/CNPq/UEM), Roberto Kenji Nakamura Cuman (Orientador), Francielli Maria Souza Silva-Comar (Co-orientadora). E-mail: ra124412@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,  
Maringá, PR.

### Farmácia/Análises toxicológicas.

**Palavras-chave:**  $\beta$ -mirceno; Taxa de sobrevivência; Sepse experimental.

### RESUMO

A sepse é uma das principais causas de mortalidade hospitalar, com um aumento significativo de casos no Brasil. Neste trabalho foi avaliada a atividade do monoterpeneo  $\beta$ -mirceno sobre a sepse experimental. Os camundongos foram tratados com  $\beta$ -mirceno e foi realizada a contagem de mortes no período de 7 dias. Foram utilizados camundongos da linhagem C57/BL6 com a sepse induzida por perfuração e ligação do ceco (CLP); e os animais foram tratados com diferentes doses de  $\beta$ -mirceno. Os resultados indicaram que o  $\beta$ -mirceno reduziu a mortalidade dos animais sépticos. Os grupos tratados com doses de 50, 100 e 200 mg/kg de  $\beta$ -mirceno mostraram menor mortalidade em comparação aos animais sépticos (CLP). Os dados preliminares sugerem que o  $\beta$ -mirceno apresenta uma atividade sobre a sepse experimental, aumentando a sobrevivência desses animais.

### INTRODUÇÃO

A sepse é uma das maiores causas de morte hospitalar. Onde, no Brasil, houve uma alta incidência de casos no decorrer dos últimos anos (Zampieri *et al.*, 2017), com esse aumento veio a necessidade de novos fármacos para o tratamento da sepse, visando o controle dos casos e o tratamento. O  $\beta$ -mirceno é um monoterpeneo que apresenta comprovada atividade antimicrobiana (Gonzaga *et al.*, 2003; Bonamin *et al.*, 2014), sendo, portanto, um composto potencial para ser avaliado no tratamento da sepse. Nesse trabalho foi avaliado o efeito do tratamento com o terpeno sobre a mortalidade de animais submetidos a sepse experimental.

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### *Animais*

Foram utilizados camundongos machos da linhagem C57/BL6, pesando entre 20-25g, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais foram mantidos sob condições de biotério, com água e alimento à vontade. A

pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética em experimentação animal (CEUA nº 4628291021).

### *Procedimento cirúrgico e indução da sepse*

O modelo experimental de sepse utilizado foi o de perfuração e ligação do ceco (CLP), conforme descrito por Rittirsch *et al.* (2008), com pequenas modificações. Os camundongos foram anestesiados, por via intramuscular, com solução de cetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). Após tricotomia e desinfecção da região abdominal foi realizada uma incisão longitudinal, de aproximadamente 1cm, expondo o ceco e a região ileocecal. Com isolamento da região proximal da válvula ileocecal e posterior perfuração no ceco com uma agulha de 0,8mm. O ceco, então, foi levemente pressionado, para que houvesse o extravasamento de uma quantidade pequena de material fecal. Após o procedimento, o intestino foi recolocado na cavidade e o peritônio e a pele suturados. Ao final, foram administrados 1 ml de salina, a 37°C, por via subcutânea, na região dorsal do animal, a fim de mantê-lo hidratado.

### *Tratamento dos animais*

Os animais foram tratados com  $\beta$ -mirceno nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (n=10 por grupo) uma hora antes do procedimento cirúrgico e diariamente durante sete dias. Os animais foram divididos em 5 (cinco) grupos experimentais: CLP (sépticos e não tratados), MYR 50, 100 e 200 mg/kg (animais sépticos e tratados com  $\beta$ -mirceno) e SHAM (animais falso-operados e não tratados).

### *Determinação da taxa de sobrevivida*

A taxa de sobrevivida dos animais foi determinada mediante o número de mortes a cada 24h. Os resultados foram expressos em porcentagem de sobrevivida em sete dias.

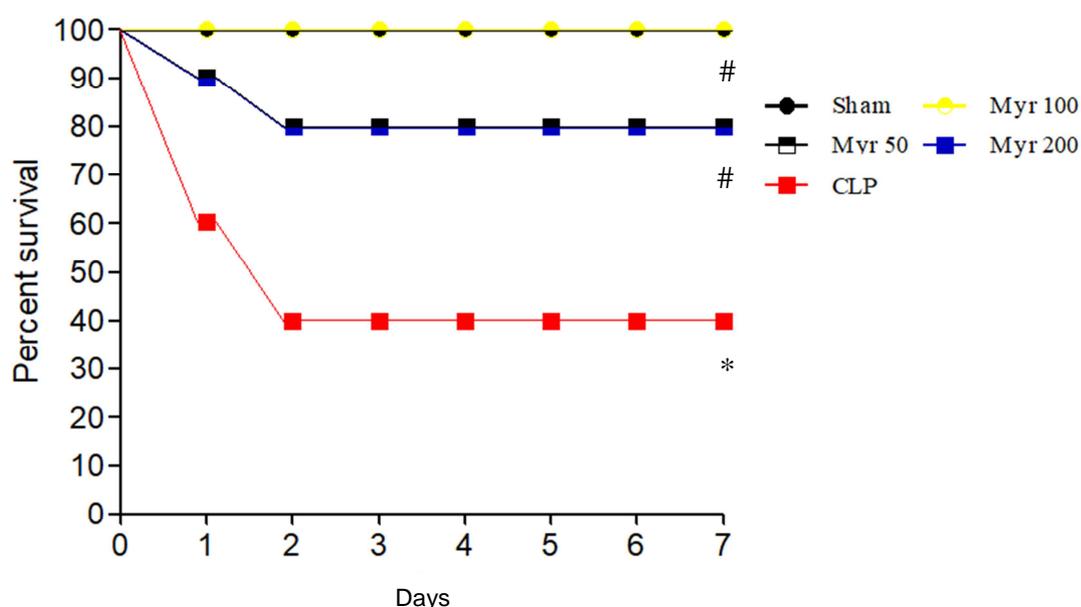
### *Análise estatística*

Os dados foram expressos como taxa de mortalidade, sendo analisados estatisticamente pela curva de Kaplan-Meier, utilizando o *software* GraphPad Prism<sup>®</sup>, na versão 8.0.2.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Nossos resultados estão apresentados na Figura 1. Não houve mortes nos grupos SHAM e MYR100 mg/kg no período de sete dias de observação. O tratamento dos animais nas doses de 50 e 200 mg/kg apresentaram 80% de sobrevivida quando comparados ao grupo séptico, que apresentou sobrevivida de 40%. Nos animais

sépticos não tratados (CLP) a taxa de mortalidade foi de 60%. O tratamento dos animais com  $\beta$ -mirceno 100 mg/kg foi efetivo em reduzir 100% da mortalidade, indicando um papel importante no controle da sepse experimental. Por outro lado, nas doses de 50 e 200 mg/kg houve redução da mortalidade dos animais.



**Figura 1:** Efeito do tratamento com  $\beta$ -mirceno sobre a taxa de sobrevivência, 7 dias após a indução da infecção sistêmica (CLP). Cada valor representa a média  $\pm$  E.P.M. 10 animais/grupo \* $p < 0,05$  comparado ao grupo de animais falso-operado (Sham), # $p < 0,05$  comparado ao grupo CLP tratados.

## CONCLUSÕES

Os resultados mostram que o tratamento com  $\beta$ -mirceno, aumenta a sobrevivência de animais sépticos, reduzindo a taxa de mortalidade. Novos estudos devem ser realizados para avaliar se há uma correlação entre a atividade antimicrobiana deste terpeno sobre a evolução da sepse.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao CNPq, pela concessão da bolsa, ao meu orientador, que esteve sempre presente, aos pós-graduandos, graduandos e técnicos do Laboratório de Inflamação, aos professores do DFT que sempre me auxiliaram e estiveram presentes.

## REFERÊNCIAS

BONAMIN, F.; MORAES, T.M.; DOS SANTOS, R.C.; KUSHIMA, H.; FARIA, F.M.; SILVA, M.A.; JUNIOR, I.V.; NOGUEIRA, L.; BAUAB, TM, SOUZA BRITO AR, DA ROCHA LR, HIRUMA-LIMA CA. The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: the role of  $\beta$ -myrcene in preventing peptic ulcer disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 212, n. 5, p. 11-19, 2014.

GONZAGA, W.A.; WEBER, A.D.; GIACOMELLI, S.R.; SIMIONATTO, E.; DALCOL, I.I.; DESSOY, E.C.; MOREL, A.F. Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium*. **Planta Medica**, v. 69, n. 8, p. 773-775, 2003.

RITTIRSCH, D. *et. al.* Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligations and puncture. **Nature Protocols**, v. 4, n.1, p. 31-36, 2008.

ZAMPIERI, F.G.; SOARES, M.; BORGES, L.P.; SALLUH, J.I.F.; RANZANI, O.T. The Epimed Monitor ICU Database®: a cloud-based national registry for adult intensive care unit patients in Brazil. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 29 n. 4, p. 418-426, 2017.