

EFEITOS DO γ – TERPINENO SOBRE A RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA EM MODELO DE SEPSE EXPERIMENTAL

Vinicius da Costa Gobi (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Brenda Barroso Pelegrini, Nailara Ferreira do Nascimento, Priscilla de Laet Sant'ana, Alice Maria de Souza Kaneshima, Tânia Cristina Alexandrino Becker (Orientador).
E-mail:tcabecker@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde / Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Saúde Coletiva / Medicina Preventiva.

Palavras-chave: γ -terpineo; Histopatologia; Sepses.

RESUMO

O estudo de plantas medicinais avançou significativamente e, o monoterpeno γ -terpineno, está presente em várias espécies de plantas farmacologicamente ativas. Ele possui estrutura semelhante a outros compostos com atividade antiinflamatória, sugerindo potencial efeito farmacológico e aplicabilidade na terapêutica. O Objetivo desse estudo foi avaliar as alterações histopatológicas no tecido hepático e intestinal de camundongos submetidos a sepsis e tratados via oral com γ -terpineno nas doses de 25, 50 e 75 mg/kg. Analisamos amostras de 26 animais divididos em grupos controle (CONT), sépticos (CLP) e falso-operados (SHAM) que receberam apenas o veículo. As alterações encontradas no intestino foi apenas hiperplasia da placa de peyer, onde a mucosa estava íntegra, não apresentando alterações da forma avançada da sepsis. No fígado observamos alterações como: degeneração hidrópica, dilatação sinusoidal, necrose e infiltrado inflamatório, sendo que, a dose de 50 mg/kg mostrou melhor efeito antiinflamatório visto que houve uma redução na taxa de infiltrados inflamatórios observados e menor número de hepatócitos balonizados. Por outro lado, a dose de 75 mg/kg acreditamos ter certa toxicidade pois mostrou um aumento na degeneração e dilatação sinusoidal. Neste sentido, podemos concluir que o γ -terpineno tem ação nos processos inflamatórios de origem infecciosa e poderá auxiliar na terapêutica de doenças inflamatórias.

INTRODUÇÃO

A sepsis é uma síndrome complexa, caracterizada por uma resposta inflamatória sistêmica descontrolada, que pode resultar em infecção generalizada, falência de órgãos e morte. Diversos microrganismos ou suas toxinas podem desencadear esse quadro (Ramalho *et al.*, 2015). Nos últimos anos, o estudo de plantas medicinais avançou significativamente, e o monoterpeno γ -terpineno, é estruturalmente semelhante a compostos com propriedades analgésicas, antimicrobianas e antiinflamatórias (Passos *et al.*, 2015). A eficácia do γ -terpineno sobre a resposta inflamatória aguda ainda é pouco estudado (Ramalho *et al.*, 2015).

Neste sentido, nosso estudo teve por objetivo avaliar as alterações histopatológicas no tecido hepático e intestinal de camundongos submetidos ao modelo experimental de sepse para verificar a possível ação antiinflamatória do γ -terpineno.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados materiais biológicos obtidos de um modelo experimental de sepse (ligação e perfuração do ceco - CLP), aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá, sob o protocolo CEUA nº 4628291021. Os animais receberam tratamento com γ -terpineno nas doses de 25 mg/kg (TERP25), 50 mg/kg (TERP50) e 75 mg/kg (TERP75), uma hora antes do procedimento cirúrgico, por gavagem (Ramalho *et al.*, 2015). Grupos sépticos controle (CONT) sem tratamento, com tratamento (CLP), e não sépticos/falso-operados (SHAM) foram estabelecidos. Amostras de fígado e do intestino grosso foram processadas histologicamente, cortadas (4 μ m) e coradas com hematoxilina-eosina (HE). A análise das alterações histopatológicas foi realizada e expressa de maneira semiquantitativa por cruzes: analisamos 8 campos/corte/lâmina em intensidades de + (discreta) a ++++ (intensa), conforme a presença de alterações em 1 a 4 quadrantes observados em microscópio de luz (aumento de 400x) e fotografados com sistema de documentação de imagem (*software*) OPTHD – Opticam. Posteriormente realizamos a somatória do número de cruzes e sua média em relação ao número de animais do grupo, conforme mostramos na Tabela 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises histológicas realizadas por meio da coloração de HE estão demonstradas na Figura e Tabela 1. Destacamos que no intestino foi observado apenas hiperplasia da placa de Peyer (Fig. 1A), onde o tecido linfóide estava hiperreativo nos animais dos grupos CLP, TERP25, TERP50 e TERP75. Esses resultados também foram observados por Ferreira e colaboradores (2008) no intestino de camundongos infectados pelo *Vaccina vírus*, demonstrando ser uma alteração relacionada a resposta inflamatória. Nas análises do tecido hepático encontramos degeneração hidrópica (Fig.1C/Tabela 1), em todos os grupos com discreta redução no grupo tratado com 50mg de γ -terpineno (TERP50). Essa é uma alteração causada por diversos fatores, dentre eles o *stress* cirúrgico, observada no processo de dano celular (Kumar *et al.*, 2010). Neste sentido, esse achado nos leva a concluir que a dose de 50mg do composto γ -terpineno foi eficaz no controle da degeneração causada pelo *stress* cirúrgico e que, provavelmente, a dose de 75 mg/kg, possivelmente atingiu níveis tóxicos. Outra alteração observada foi a presença de infiltrado inflamatório apenas nos grupos SHAM e CLP (não tratados com γ -terpineno) indicando uma possível ação antiinflamatória do γ -terpineno. Ramalho e colaboradores (2015), mostrou a ação do γ -terpineno na inflamação aguda em camundongos, descrevendo a eficácia desse composto na redução da migração das células moduladoras da resposta inflamatória para o sítio alvo da inflamação. A dilatação sinusoidal é frequentemente associada a padrões de lesão hepática

induzida por drogas ou toxinas. Em nosso estudo observamos uma intensidade discreta próximo a veio centro-lobular, como é possível observar na Fig.1B, no grupo séptico (CLP). Os demais parâmetros analisados foram observados com intensidade discreta em todos os grupos sugerindo que o período experimental estava provavelmente no início de um processo inflamatório, não atingindo estágios avançados da sepse que culminam na morte celular e necrose.

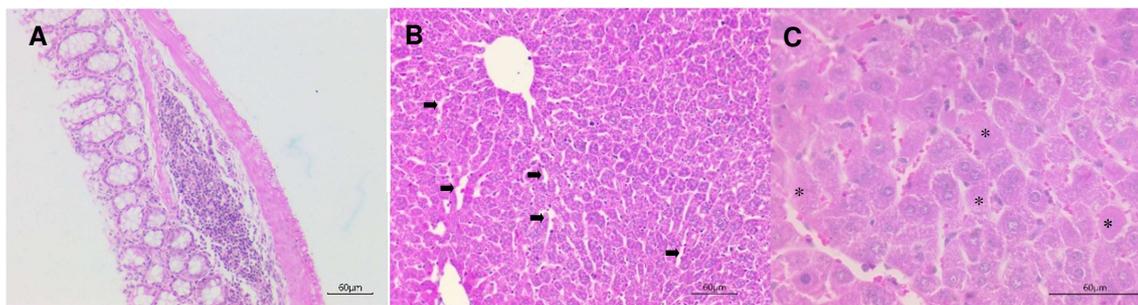


Figura 1. Alterações histopatológicas hepáticas e intestinais em camundongos da linhagem Balb/c que foram induzidos a sepse/Coloração H&E. Intestino: A) Hiperplasia da placa de peyer (aumento 40x); Fígado: B) Dilatação dos sinusóides hepáticos (setas) (aumento 40x); C) Degeneração hidrópica (*) (aumento 400x) – Escala 60µm.

Tabela 1. Alterações histopatológicas no fígado de camundongos induzidos a sepse experimental e tratados com γ -terpineno.

Grupo	Degeneração hidrópica	Dilatação sinusoidal	Necrose	Infiltrado inflamatório
SHAM ¹	2,25	0,25	0,0	0,5
CLP ²	2,5	1,25	0,5	0,75
TERP25 ³	2,28	0,85	0,0	0,0
TERP50 ⁴	1,0	0,28	0,0	0,0
TERP75 ⁵	3,0	0,5	0,0	0,0

¹ - Grupo de animais falso-operados, não sépticos; ² - Grupo de animais sépticos, utilizados como controle; ³ - Grupo de animais sépticos tratados com γ -terpineno na dose de 25 mg/kg; ⁴ - Grupo de animais sépticos tratados com γ -terpineno na dose de 50 mg/kg; ⁵ - Grupo de animais sépticos tratados com γ -terpineno na dose de 75 mg/kg.

CONCLUSÃO

Nossos resultados mostraram que a dose de 50 mg/kg de γ -terpineno apresentou melhor resposta sobre o processo inflamatório, baseado na análise dos parâmetros de degeneração hidrópica e infiltrados inflamatórios observados e que, a dose de 75 mg/kg, quando combinado ao *stress* cirúrgico possivelmente foi muito agressiva, sobrecarregando o metabolismo hepático. No entanto, pesquisas adicionais são necessárias para avaliar o efeito do γ -terpineno frente a sepse, visando um entendimento mais claro do efeito antiinflamatório desse composto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Maringá pelo apoio financeiro; à minha orientadora Tânia Cristina Alexandrino Becker; à minha co-orientadora Priscilla de Laet Sant'ana e aos colegas Brenda Barroso Pelegrini e Nailara Ferreira do Nascimento, pelo apoio durante a pesquisa.

REFERÊNCIAS

KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. **Robbins e Cotran – Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

FERREIRA, J.M.S. et al. *Vírus Vaccinia*: eliminação e transmissão horizontal em um modelo murino. **Journal of General Virology**, v. 89, n. 12, p. 2986–2991, 1 dez. 2008. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/jgv.0.001650#tab2>. Acesso em: 24 de ago.2024.

PASSOS, F.F.; LOPES, E.M.; DE ARAÚJO, J.M.; DE SOUSA, D.P.; VERAS, L.M.; LEITE, J.R.; ALMEIDA, F.R. Involvement of Cholinergic and Opioid System in γ -Terpinene-Mediated Antinociception. **Evid Based Complement Alternat Med**, 2015: 829414, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2015/829414>. Acesso em: 24 de ago.2024.

RAMALHO, T.R; OLIVEIRA, M.T.; LIMA, A.L.; BEZERRA-SANTOS, C.R.; PIUVEZAM, M.R. Gamma- Terpinene Modulates Acute Inflammatory Response in Mice. **Planta Med**, 81 (14): 1248-54, 2015. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0035-1546169#>. Acesso em: 24 de ago.2024.