

EFEITO DO TRATAMENTO COM γ – TERPINENO SOBRE A RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA NO TECIDO RENAL E PULMONAR, NO MODELO DE SEPSE EXPERIMENTAL

Nailara Ferreira do Nascimento (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Brenda Pelegrini, Vinicius da Costa Gobi, 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: Inflamação; Sepses; γ -Terpineno.

RESUMO

O monoterpeno γ -terpineno está presente em várias espécies de plantas farmacologicamente ativas e apresenta atividade antiinflamatória. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do γ -terpineno sobre a resposta inflamatória no modelo experimental de indução de sepse nos tecidos renal e pulmonar de camundongos. Analisamos amostras de animais divididos em grupos controle, sépticos e falso-operados, tratados com doses de 25, 50 e 75 mg/kg de γ -terpineno. Os tecidos foram processados e corados com Hematoxilina-Eosina (HE). As alterações evidenciadas foram a vacuolização citoplasmática no epitélio tubular do rim com discreta redução nos grupos tratados, sendo que na dose de 75mg de γ -terpineno observamos menor intensidade. No tecido pulmonar, as alterações mais comuns foram o colabamento das paredes alveolares, presença de membrana hialina, edema e congestão, com discreta redução nos grupos tratados nas doses de 25 e 75mg. Neste sentido, podemos concluir que o γ -terpineno tem ação reduzida nos processos inflamatórios de origem infecciosa porém, pode auxiliar na terapêutica de doenças inflamatórias.

INTRODUÇÃO

A sepse é uma síndrome complexa causada por uma resposta inflamatória sistêmica descontrolada que pode ser ocasionada por infecções bacterianas ou outros microrganismos e suas toxinas culminando na disfunção, falência do tecido e órgãos afetados, até a morte do indivíduo (Hotchkiss & Karl, 2003). O γ -terpineno é um monoterpeno presentes nos óleos essenciais de muitas plantas. Eles apresentam atividades farmacológicas importantes, como por ex. analgésica, antimicrobiana, antioxidante, na prevenção do estresse oxidativo e antiinflamatória (Passos *et al.*, 2015). Apesar de haver poucos dados na literatura sobre este

terpeno, há evidências da sua atividade antiinflamatória. Assim, vamos avaliar o efeito do γ -terpineno sobre a resposta inflamatória sistêmica no modelo de sepse experimental, por meio de análises histopatológicas dos tecidos pulmonar e renal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtivemos o composto γ -terpineno comercialmente da Sigma-Aldrich®. Foram utilizados camundongos machos da linhagem Balb/c, do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. O protocolo experimental foi aprovado pelo sob o CEUA nº 4628291021. O tratamento com γ -terpineno foi 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 rim e do pulmão, provenientes de 24 e 25 camundongos, respectivamente, foram processadas histologicamente e coradas com hematoxilina-eosina (HE). As alterações histopatológicas foram expressas de maneira semiquantitativa em 8 campos/corte/lâmina em intensidades de + (discreta) a ++++ (intensa), conforme a presença de alterações em 1 a 4 quadrantes 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 tabelas 01 e 02.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Degeneração hidrópica e infiltrados inflamatórios no epitélio tubular estavam presentes em 100% dos animais (Tabela 1). As lesões evidenciadas pelas colorações de HE eram caracterizadas pelo vacuolização citoplasmática no epitélio tubular (Fig.1B;C) com discreta redução nos grupos tratados, de forma progressiva, sendo que a dose de 75mg de γ -terpineno (TERP75) teve a menor intensidade. A degeneração hidrópica pode ser causada por diversos fatores, dentre eles o *stress* cirúrgico, que desencadeia um processo de dano celular (Kumar *et al.*, 2010). Por outro lado, observamos que na dose de 25mg de γ -terpineno (TERP25) a quantidade de infiltrados inflamatórios era menor em relação à maior dose (TERP75) e que a presença de túbulos hipertróficos (aumentados) e o dano tubular observado nos grupos sépticos, com e sem tratamento, caracterizado pelo achatamento das células tubulares com dilatação da luz tubular, não mostrou nenhuma diferença entre os grupos. As principais alterações observadas na análise histopatológica do tecido pulmonar, mais comuns foram o colapso das paredes alveolares, presença de membrana hialina, edema e congestão (Tabela 02/ Fig 2). O Dano Alveolar Difuso (DAD), caracterizado pela presença de congestão capilar, edema intra-alveolar e formação de membranas hialinas foi observado em nossos resultados, com discreta redução nos grupos tratados, sendo que nas doses de 25 e 75mg de γ -terpineno

(TERP25/75) houve a menor intensidade, exceto na formação de membranas hialinas, onde na dose de 50mg/kg não foi observado sua presença. Estudos mostraram que o γ -terpineno possui atividade antiinflamatória, como observado por Passos *et al.*, 2015, onde revelou que o γ -terpineno apresentou efeito inibitório na migração de células para o espaço broncoalveolar dos animais com LPA (lesão pulmonar aguda).

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

Grupo	Degeneração hidrópica	Túbulo Hipertrófico	Dano tubular	Infiltrado inflamatório
SHAM ¹	2,5	0,0	0,0	1,75
CLP ²	2,0	0,5	0,5	2,00
TERP25 ³	1,5	1,00	1,00	1,33
TERP50 ⁴	1,33	0,0	0,28	2,00
TERP75 ⁵	1,25	0,0	0,5	2,00

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.

Tabela 2. Alterações histopatológicas no pulmão de camundongos induzidos a sepse experimental e tratados com γ -terpineno.

Grupo	Septos colabados	Membrana Hialina	Edema	Congestão
SHAM ¹	1,5	0,0	0,75	0,5
CLP ²	1,5	1,1	1,1	1,1
TERP25 ³	1,15	1,00	0,75	0,33
TERP50 ⁴	1,83	0,0	1,00	0,75
TERP75 ⁵	1,00	0,5	0,75	0,25

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.

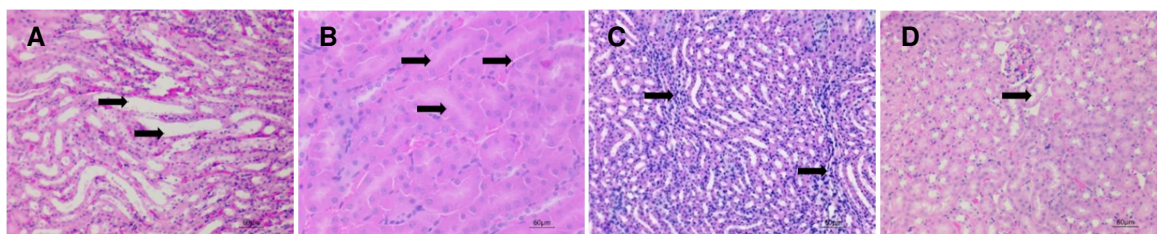


Figura 1. Alterações histopatológicas renais em camundongos com sepse experimental/ Coloração H&E. A: túbulos hipertróficos (seta); B: degeneração hidrópica (seta); C: Infiltrado inflamatório (seta); D: danos tubulares (seta) – Escala de 60 μ m.

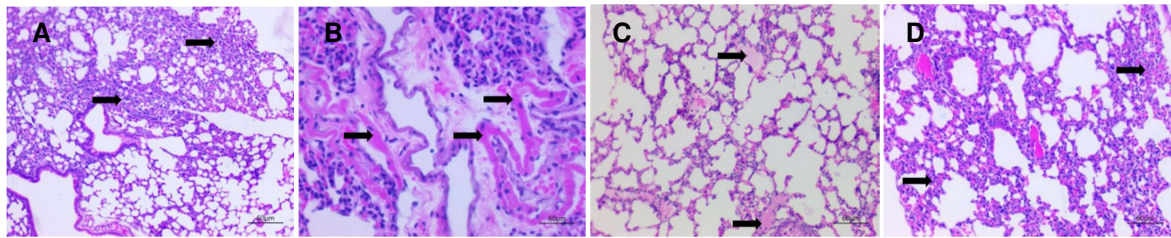


Figura 2. Alterações histopatológicas renais em camundongos com sepse experimental/ Coloração H&E. A: colapamento dos septos (seta); B: Membrana hialina (seta); C: Edema (seta); D: congestão (seta) – Escala de 60 µm.

CONCLUSÃO

O tratamento com γ -terpineno foi eficaz no controle causado pelo *stress* cirúrgico mas não reduziu a migração das células moduladoras da resposta inflamatória para o sítio alvo da inflamação nem teve eficácia no controle das respostas imunológicas locais e sistêmicas, que também podem ter contribuído para a formação dessas lesões renais e pulmonares.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à CAPES/CNPQ pelo apoio financeiro, à minha orientadora Tânia Cristina Alexandrino Becker e aos colegas Brenda Pelegrini e Vinicius da Costa Gobi pelo apoio durante a pesquisa.

REFERÊNCIAS

- HOTCHKISS, R.S.; KARL, I.E. **The pathophysiology and treatment of sepsis.** N Engl J Med, 348 (2): 138-50, 2003.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.; FAUSTO, N. **Robbins e Cotran – Patologia – Bases Patológicas das Doenças.** 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- 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.
- RAMALHO, T.R.; OLIVEIRA, M.T.; LIMA, A.L.; BEZERRA-SANTOS, C.R.; PIUVEZAM, M.R. Gamm.a- Terpinene Modulates Acute Inflammatory Response in Mice. **Planta Med**, 81 (14): 1248-54, 2015.