



AVALIA

ÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DO GAMA-TERPINENO NO MODELO DE ARTRITE INDUZIDA POR ZYMSAN

Rebeca Mello Pereira (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Guilherme Henrique Oliveira Silva, Camila Ferreira Amaral, Hellen Julia Talharo da Silva, Rebeca Libório dos Santos, Francielli Maria de Souza Silva Comar (Coorientadora), Jurandir Fernando Comar (Orientador), e-mail: jfcomar@uem.br

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

Área e subárea do CNPq/CAPES: Bioquímica/Metabolismo e Bioenergética.

Palavras-chave: Gama-terpineno; artrite; inflamação;

RESUMO

O gama-terpineno (GT) é um monoterpeno presente em óleos essenciais de plantas como a bergamota (*Citrus deliciosa Tenore*), destaca-se por possuir propriedades antinociceptivas, antioxidantes e anti-inflamatórias. O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade anti-inflamatória do GT no modelo de artrite induzida por zymosan. Especificamente, foram avaliadas as atividades do GT sobre a migração de leucócitos, edema articular e atividade da enzima mieloperoxidase (MPO). Os resultados obtidos demonstraram que o pré-tratamento, via oral, com GT nas doses 50, 75 e 100 mg/kg reduziu a migração de leucócitos totais. Em relação a análise das células diferenciais, foi observado que o número aumentado de leucócitos na cavidade articular dos animais desafiados com Zym está relacionado com a migração de células polimorfonucleares (PMN) para a cavidade articular, visto que, após o tratamento com GT, houve redução significativa no número de células PMN na cavidade articular dos animais. Resultados semelhantes foram encontrados na formação do edema articular e atividade da enzima MPO. Em suma, os resultados constatam o efeito anti-inflamatório do GT no presente modelo experimental, dada a atenuação de: recrutamento leucocitário, formação de edema articular e atividade da enzima MPO.

INTRODUÇÃO

A inflamação é uma resposta natural do organismo às lesões desencadeadas por agentes biológicos, químicos, físicos ou pelo próprio sistema imune e tem como objetivo restaurar a homeostase. Esse processo envolve a produção de mediadores inflamatórios, alterações na permeabilidade vascular e recrutamento de leucócitos, resultando nos cinco sinais clássicos da inflamação: calor, rubor, edema, dor e perda de função (Etienne et al., 2021; Freitas et al., 2019).

O modelo animal de artrite induzida por zymosan (AlZy) reproduz características da artrite reumatoide humana, como sinovite erosiva, ativação do sistema imunológico e sintomas semelhantes (Dos Anjos, 2018).

Os óleos essenciais e seus metabólitos secundários (terpenos) têm sido amplamente utilizados nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, visto que apresentam inúmeras propriedades, dentre elas atividade antioxidante, anti-

inflamatória, antiviral, antibacteriana, antidiabética e anticancerígena (Ramsey et al., 2020).

O gama-terpineno, um monoterpeno presente em óleos essenciais de plantas como a bergamota (*Citrus deliciosa Tenore*), destaca-se por possuir propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antinociceptivas (Freitas et al., 2015).

Em vista disso, o propósito deste projeto foi avaliar a ação anti-inflamatória do gama-terpineno no modelo de AlZy em camundongos, analisando seus efeitos sobre a migração de leucócitos, edema de joelho e atividade da enzima MPO.

MATERIAIS E MÉTODOS

Camundongos Balb-c, pesando entre 20-25g, foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12h, com água e comida à vontade, sob temperatura controlada de 22º C. Os animais foram tratados por via oral com GT (doses 25, 50, 75 e 100 mg/kg), em dose única. O grupo controle recebeu somente o veículo (Tween 80 – 2%). Uma hora depois do tratamento, os animais receberam uma injeção intra-articular (i.a) de 200 μ g de zymosan dissolvido em 10 μ L de salina estéril. O grupo controle foi submetido apenas à injeção de salina 0,9% (controle negativo). Após 6h, o edema da articulação foi analisado com o uso do paquímetro digital. Em seguida, os camundongos foram eutanasiados (overdose anestésica) e foram realizadas incisões cirúrgicas nas articulações do joelho para a coleta do fluido articular, o qual foi utilizado para a contagem total e diferencial de células e verificação da atividade da enzima MPO.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais que receberam somente a injeção i.a de Zym apresentaram um aumento significativo do número de leucócitos totais, quando comparados aos animais do grupo salina, evidenciando que o ensaio é viável. O pré-tratamento via oral com GT nas doses de 50, 75 e 100 mg/kg promoveu uma redução da migração de leucócitos totais e PMN quando comparado ao grupo Zym (Figura 1A). Resultado semelhante foi observado nos grupos tratados com Dexa (droga anti-inflamatória padrão).

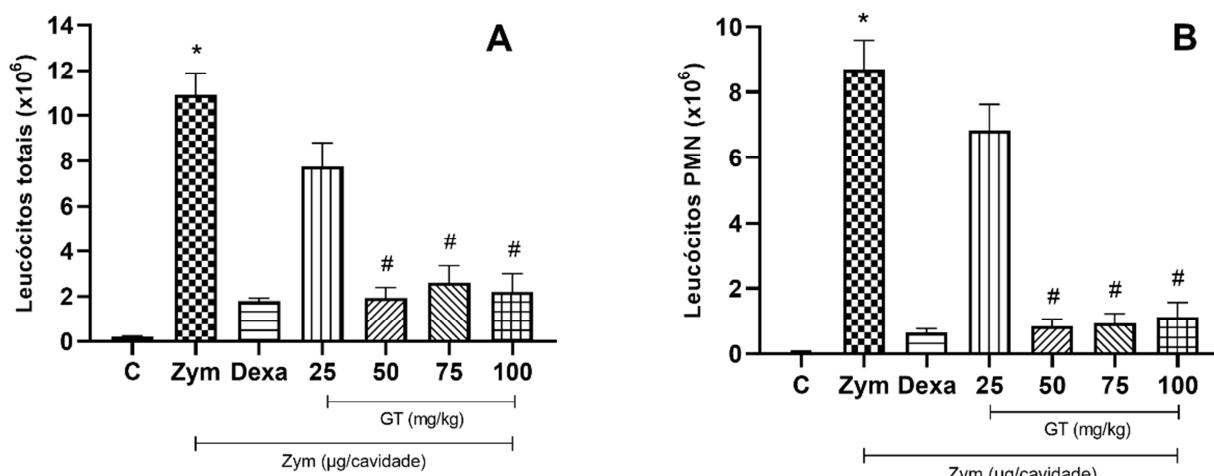


Figura 1 – Efeito do pré-tratamento com GT na migração de leucócitos totais e diferenciais para o espaço articular. (A) Número de células totais. (B) Número de células PMN (n=7). Os valores foram

expressos com média ± EPM. *P < 0,01 quando comparado ao grupo controle, #P < 0,01 comparado com grupo controle positivo (Zym).

No que diz respeito a análise de células diferenciais (Figura 1B), foi visto que o número aumentado de leucócitos na cavidade articular dos animais que receberam o Zym relaciona-se com a migração das células PMN para a cavidade articular. Como pode ser observado na Figura 2A, o pré-tratamento com GT nas doses de 50, 75 e 100mg/kg apresentou eficácia na redução do edema de joelho quando comparado aos animais que receberam injeção i.a. de Zym. Nos animais tratados com Dexa, observaram-se resultados semelhantes.

O recrutamento de leucócitos na articulação fêmurotibial também foi demonstrado por meio da atividade da enzima MPO (Figura 2B). Esta enzima é estocada nos grânulos citoplasmáticos de neutrófilos e sua atividade reflete a infiltração dessas células nos tecidos, sendo considerada um marcador indireto da infiltração leucocitária. O GT nas doses 50, 75 e 100 mg/kg reduziu significativamente (35,88%, 36,69% e 30,24%, respectivamente) a atividade da enzima quando comparado ao grupo Zym. Esses dados, somados aos resultados obtidos na contagem celular, sugerem que o efeito anti-inflamatório do GT está relacionado com a diminuição da migração de neutrófilos na cavidade articular.

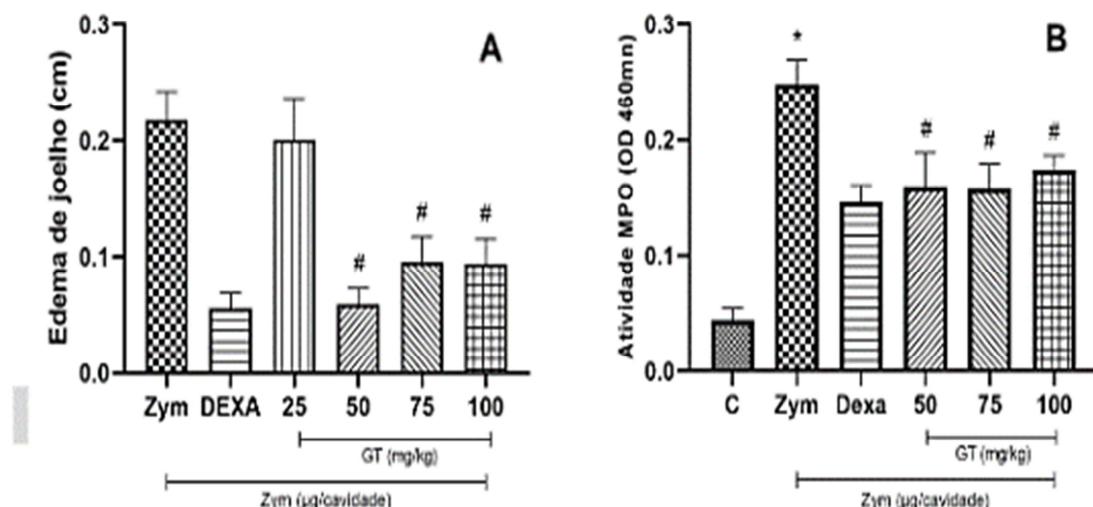


Figura 2 – (A) Efeito do pré-tratamento com GT edema de joelho **(B)** Efeito do pré-tratamento com GT na atividade da enzima MPO (n=7). Os valores foram expressos com média ± EPM. *P < 0.01 quando comparado ao grupo controle, #P < 0.01 comparado com grupo controle positivo (Zym).

CONCLUSÃO

Os resultados do trabalho indicaram que o gama-terpineno possui efeito anti-inflamatório na artrite induzida por zymosan, demonstrado pela redução da migração de leucócitos para a cavidade articular, do edema de joelho e da atividade da enzima MPO.



AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária pelo financiamento do projeto e ao Departamento de Farmacologia e Terapêutica (DFT), especialmente meu orientador, coorientadora, pós-graduandos, colegas e técnicos do laboratório da inflamação, pelo apoio essencial no desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

DOS ANJOS, Lúcia Mara Januário. Laser de baixa potência no tratamento da artrite induzida por zymosan. 2018. **Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2018.**

ETIENNE, R.; VIEGAS, F. P. D.; VIEGAS JR. Aspectos fisiopatológicos da inflamação e o planejamento de fármacos: uma visão geral atualizada. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 1, p. 167-191, jan/fev. 2021.

FREITAS, F. F. B. P. et al. Prospecção científica e tecnológica: monoterpeno gama terpineno e atividades farmacológicas. **Revista GEINTEC**, v. 5, n. 2, p. 2103-2112, 2015.

FREITAS, P. R et al. Abordagens terapêuticas nas doenças inflamatórias: uma revisão. **Revista Interfaces**, v. 7, n. 2, p. 318-324, 2019.

RAMSEY, J. T.; SHROSPHIRE, G. C.; NAGGY, T. R.; CHAMBERS, K. D. LI, Y.; KORACH, K. S. Essential Oils and Health. **Yale J. Biol. Med.** 93: 291-305, 2020.