



## AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM $\gamma$ -TERPINENO SOBRE A TAXA DE MORTALIDADE EM UM MODELO DE SEPSE ANIMAL

Brenda Barroso Pelegrini<sup>1</sup>, Nailara Ferreira do Nascimento<sup>1</sup>, Vinicius da Costa Gobi<sup>1</sup>, Tânia Cristina Alexandrino Becker<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá, PR, Brasil.

\*tcabecker@uem.br

**Área Temática:** Saúde Humana

### Resumo

O composto  $\gamma$ -terpineno tem semelhança estrutural com outros monoterpenos que apresentam efeito analgésico, antimicrobiano e anti-inflamatório, sugerindo um importante potencial farmacológico com aplicabilidade terapêutica. As taxas de mortalidade na sepse em modelos experimentais variam de acordo com as diferentes linhagens de camundongos, devido à variação genética que pode influenciar a resposta imune. O objetivo do estudo foi investigar o efeito das propriedades presentes no  $\gamma$ -terpineno na taxa de mortalidade em animais submetidos à sepse experimental e tratados com as doses de 25 mg/kg e 50 mg/kg desse composto. Sendo assim, camundongos machos da linhagem Balb/c foram submetidos ao modelo de sepse experimental pelo período de sete dias, e foram separados em quatro grupos experimentais. Grupo 1: animais falso operados (SHAM), grupo 2: animais induzidos pela técnica de ligadura e punção cecal (CLP), e grupo 3 e 4: camundongos induzidos por CLP e tratados, simultaneamente, com a dose de 25 ou 50 mg/kg de  $\gamma$ -terpineno, respectivamente, via gavagem. Os animais foram observados e os óbitos foram registrados a cada 12 horas, expressos pela porcentagem de mortalidade ao final do tempo experimental. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA nº4628291021). Nossos resultados mostraram que não foram registrados óbitos no grupo SHAM durante o período analisado, e a taxa de mortalidade dos grupos CLP e  $\gamma$ -terpineno 25 mg/kg foi de 66,6% enquanto a do grupo  $\gamma$ -terpineno 50 mg/kg foi de 50%. Desse modo, conclui-se que a dose de 50 mg/kg foi capaz de reduzir a taxa de mortalidade em relação aos demais grupos experimentais induzidos com a doença.

**Palavras-chave:** gama-terpineno; ligadura e punção cecal (CLP); mortalidade.

### Introdução

A sepse é causada por uma resposta inflamatória sistêmica descontrolada, ocasionada por uma infecção generalizada, podendo culminar na disfunção, falência de órgãos e morte (HOTCHKISS & KARL, 2003; ARAÚJO *et al.*, 2012). As taxas de mortalidade na sepse em modelos experimentais variam de acordo com as diferentes linhagens de camundongos devido a variação genética, que influencia na resposta imune. Ou seja, diferenças nos processos inflamatórios iniciados em resposta a infecção afetam os resultados da sepse (STEWART *et al.*, 2002). Sabendo disso, estudos indicam que camundongos com determinados alelos podem desenvolver uma melhor resposta inflamatória e aumentar o tempo para mortalidade (WANG *et al.*, 2009). Os terpenos constituem um grupo importante de metabólitos secundários produzidos pelas plantas. Dentre eles, os monoterpenos são os



principais componentes de muitas plantas e são considerados o grupo de botânicos de maior sucesso (ABDELGALEIL SAM *et al.*, 2021). Eles são conhecidos por apresentarem diversas propriedades como anticâncer, anti-inflamatório, antidiabético, antioxidante e anti-hipertensivo (MOREIRA RC *et al.*, 2022).  $\gamma$ -terpineno (1-Isopropil-4-metil-1,4-ciclohexadieno) é um monoterpene encontrado em várias espécies de plantas farmacologicamente ativas, como *Protium icariba* (DC.) Marchand, *Citrus deliciosa* Tenore, *Origanum onites* L. (PASSOS FF *et al.*, 2015), e é conhecido por sua atividade antibacteriana, antifúngica (ZOCHEHDH, A *et al.*, 2022), antinociceptiva (PASSOS FF *et al.*, 2015), antioxidante (GUO Y *et al.*, 2021), anticâncer (ZOCHEHDH A *et al.*, 2022), sugerindo potencial efeito farmacológico e aplicabilidade na terapêutica. Sendo assim, o objetivo do nosso trabalho foi investigar a ação das possíveis propriedades presentes no  $\gamma$ -terpineno, por meio da análise da taxa de mortalidade de camundongos da linhagem Balb/c submetidos ao modelo experimental de sepse pelo período de sete dias, tratados com as doses de 25 e 50 mg/kg.

### **Materiais e métodos**

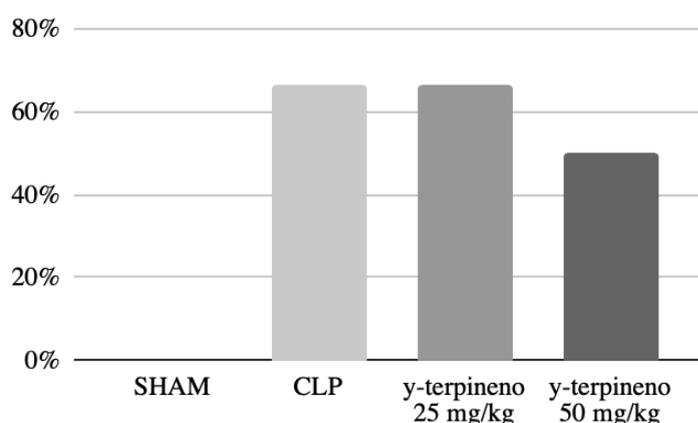
O  $\gamma$ -terpineno foi obtido comercialmente da Sigma-Aldrich®. Os materiais utilizados para o desenvolvimento desta pesquisa foram fornecidos pelo Departamento de Farmacologia e Terapêutica (LIFIN) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) em parceria com o Laboratório de Patologia Geral (LPG), do Departamento de Ciências Básicas da Saúde (DBS) da mesma instituição (UEM). Camundongos machos da linhagem Balb/c com peso corporal entre 20-25g, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, foram utilizados. Os animais foram mantidos sob temperatura controlada a 25°C e ciclo claro/escuro de 12 horas, com água e ração à vontade. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA nº4628291021). O modelo de sepse experimental utilizado foi o da ligação e perfuração do ceco (CLP), descrito por Rittirsch e colaboradores (2008). Neste estudo, os animais foram tratados com  $\gamma$ -terpineno nas doses de 25 e 50 mg/kg, que foram determinadas seguindo outros estudos já realizados *in vivo* (RAMALHO *et al.*, 2015), e esse processo foi realizado uma hora antes do procedimento cirúrgico. Para isso, os animais foram divididos em quatro grupos: Grupo 1/SHAM (animais falso-operados, não sépticos; recebem apenas veículo da diluição, por gavagem), Grupo 2/CLP (animais sépticos, utilizados como controle; recebem apenas veículo da diluição, por gavagem), Grupos 3/ $\gamma$ -terpineno 25 mg/kg (animais sépticos tratados com  $\gamma$ -terpineno na dose de 25 mg/kg, por gavagem) e Grupos 4/ $\gamma$ -terpineno 50 mg/kg (animais sépticos tratados com  $\gamma$ -terpineno na dose de 50 mg/kg, por gavagem). Os animais foram observados e os óbitos foram registrados a cada 12 horas. Os resultados foram expressos em porcentagem de sobrevivência por um período de sete dias.

### **Resultados e discussão**

Todos os animais do grupo SHAM (falso operados/controle negativo) sobreviveram ao último dia de experimento e foram sacrificados no momento da eutanásia, evidenciando que o procedimento cirúrgico de laparotomia abdominal não apresentou riscos em relação à mortalidade para os animais analisados neste experimento. Dessa forma, nossos resultados sugerem que a mortalidade foi motivada pela indução experimental da sepse, pois tanto os animais do grupo CLP quanto os animais do grupo induzido e tratado apresentaram mortalidade. As



maiores taxas de mortalidade (66,6%) foram observadas nos grupos CLP e  $\gamma$ -terpineno 25 mg/kg. Em relação ao grupo submetido à CLP simultaneamente ao tratamento com a dose de 50 mg/kg do monoterpeneo  $\gamma$ -terpineno, a taxa de mortalidade foi de 50%, evidenciando que o composto testado foi capaz de conter a mortalidade de animais submetidos à sepse experimental, pois reduziu a porcentagem de animais que foram a óbito no período analisado. A inflamação exagerada na infecção pela sepse é a resposta inicial do hospedeiro e esse fator pode resultar na lesão tecidual, que normalmente evolui para disfunção de um ou múltiplos órgãos, resultando em morte (HOTCHKISS RS *et al.*, 2013). Sabendo disso, o  $\gamma$ -terpineno demonstrou em estudos anteriores diversas propriedades benéficas em sua composição, dentre elas, a capacidade de reduzir parâmetros inflamatórios (RAMALHO *et al.*, 2015), o que explica a sobrevida em animais que receberam a dose de 50 mg/kg neste estudo, pois é sugestivo que o composto, na dose adequada, atue na disfunção dos tecidos, restabelecendo-os após o processo de inflamação.



**Figura 1** – Taxa de mortalidade dos animais dos grupos SHAM, CLP,  $\gamma$ -terpineno 25 e 50 mg/kg submetidos a um delineamento experimental de sete dias.

### Conclusões

O tratamento com  $\gamma$ -terpineno na dose de 50 mg/kg foi capaz de conter a taxa de mortalidade comparado aos demais grupos de indução da sepse. Este foi um estudo inicial para rastreamento de um possível efeito terapêutico do  $\gamma$ -terpineno após indução de sepse, que demonstrou eficácia dependente da dose em relação ao aumento da sobrevida dos animais. Estudos complementares serão necessários para um melhor entendimento da influência da dosagem deste composto na taxa de mortalidade relacionada à sepse.

### Agradecimentos

Este estudo foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – Código de Financiamento 001.

### Referências

ARAÚJO, C.V.; ESTADO, V.; TIBIRIÇÁ, E.; *et al.* PPAR gamma activation protects the brain against microvascular dysfunction in sepsis. **Microvasc Res**, 84 (2): 218-21, 2012.



GUO Y, BASCHIERI A, AMORATI R, *et al.* Atividade antioxidante sinérgica do  $\gamma$ -terpineno com fenóis e polifenóis possibilitada por radicais hidroperóxil. **Alimentos Chem.** 2021; 345:128468. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128468.

ZOCHEDH, A., PRIYA, M., SHUNMUGANARAYANAN, A., *et al.* (2022). Investigation on structural, spectroscopic, DFT, biological activity and molecular docking simulation of essential oil Gamma-Terpinene. **Journal of Molecular Structure**, 1268, 133651.

HOTCHKISS R.S., MONNERET G, PAYEN D: Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. **Lancet Infect Dis** 2013;13:260-268. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70001-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70001-X).

RAMALHO, T.R; OLIVEIRA, M.T.; LIMA, A.L.; *et al.* Gamma-Terpinene Modulates Acute Inflammatory Response in Mice. **Planta Med** 81 (14): 1248-54, 2015.

HOTCHKISS, R.S.; KARL, I.E. The pathophysiology and treatment of sepsis. **N Engl J Med**, 348 (2): 138-50, 2003.

STEWART D., FULTON W.B., WILSON C., *et al.* Genetic. Contribution to the Septic Response in A Mouse Model. **Shock** 2002, 18:342-7.

WANG H., LASKOWITZ D.T., SULLIVAN P.M., *et al.* APOE genotype affects outcome in a murine model of sepsis: implications for a new treatment strategy. **Anaesthesia and Intensive Care** 2009, 37:38-45.

PASSOS, F.F.; LOPES, E.M.; DE ARAÚJO, J.M.; *et al.* Involvement of Cholinergic and Opioid System in  $\gamma$ -Terpinene-Mediated Antinociception. **Evid Based Complement Alternat Med**, 2015: 829414, 2015.

RITTIRSCH, D.; FLIERL, M. A.; WARD, P. A. Mecanismos moleculares prejudiciais na sepse. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 10, pág. 776-787, 2008.

ABDELGALEIL S.A.M., GAD H.A., RAMADÃ G.R., *et al.* Monoterpenos: química, atividade inseticida contra insetos de produtos armazenados e modos de ação: Uma revisão. **Int. J. Peste Manag.** 2021; 18:1–23.

MOREIRA R.C., VESPERMANN K.A., MOLINA G., *et al.* In: Gupta VK, *et al.*, editores. **Biomoléculas de Fontes Naturais: Avanços e Aplicações**. Wiley; 2022. pp. 362-389.