

A SALIVA DO AEDES AEGYPTI ELEVOU A SOBREVIDA DE ANIMAIS COM SEPSE

Dávila Valentina Silva Rodrigues¹; Rafaelli de Souza Gomes¹; Kely Campos Navegantes²; Valter Vinícius Silva Monteiro¹; Marta Chagas Monteiro³

¹Graduação, ²Mestrado, ³Doutorado
Universidade Federal do Pará (UFPA)
davidavrodrigues@gmail.com

Introdução: A sepse, nos últimos anos, constitui a segunda principal causa de morte em unidade de terapia intensiva (UTI) sendo caracterizada como uma disfunção de órgãos potencialmente fatal causada por uma resposta desregulada e exagerada do hospedeiro perante uma infecção¹. Assim, durante a sepse ocorre a produção excessiva de mediadores e recrutamento celular, os quais resultam em um desequilíbrio metabólico onde o organismo não consegue estabelecer a homeostase². Desta forma, faz-se necessário a busca de novas formas terapêuticas variadas que possam auxiliar no seu tratamento. Dentro deste contexto, encontramos nos artrópodes hematófagos excelentes candidatos por conta da sua enorme biodiversidade no planeta. Estes insetos encontram como barreira para o sucesso do repasto sanguíneo a hemostasia que é um sistema redundante e complexo. Com isso, os insetos hematófagos desenvolveram um mecanismo de reverter essa complexidade por meio de componentes salivares os quais apresentam diferentes efeitos farmacológicos como vasodilatação e anti - agregação plaquetária. Dentre os grupos de artrópodes hematófagos, os mosquitos recebem atenção especial por serem os vetores de diversas doenças emergentes e reemergentes³. De todas as famílias de mosquitos conhecidas, a família Culicidae é a mais importante em termos de saúde pública por conter mosquitos dos gêneros Aedes, Culex e Anopheles. Nesse sentido, o Aedes aegypti, em áreas de clima tropical, é conhecido por ser vetor primário de doenças, como a Febre Amarela, Febre Chikungunya, Dengue e Zika. A saliva do Ae. aegypti apresenta características imunomoduladoras e anti hemostáticas as quais podem contribuir para um melhor prognóstico da sepse. **Objetivos:** Avaliar o efeito da saliva do mosquito Aedes aegypti na sobrevida, peso e carga bacteriana em modelo de sepse murina. **Métodos:** Camundongos Swiss machos pesando de 20 a 30g, foram pré-tratados pela via intraperitoneal com solução salina a 0,9%, Ceftriaxona (20mg/kg) e glândula salivar do Aedes aegypti (3,5ug/mL) em 2 doses a cada 24h e foram submetidos a transfixação do coto-cecal (CLP). O grupo Sham não recebeu tratamento, passando apenas pelo procedimento cirúrgico sem indução de CLP. Após 12 e 24 horas da cirurgia, os animais foram sacrificados tendo seus órgãos, sangue e lavado peritoneal retirados para a quantificação da carga bacteriana. A avaliação da mesma foi realizada através da avaliação das unidades formadoras de colônia (UFC) após semeio por esgotamento das amostras em duas diferentes diluições (1:10 e 1:100) em meio Ágar Mueller-Hinton. Com relação a taxa de sobrevida, após a indução da CLP os animais foram observados por múltiplos de 8 dias a cada 12 horas sendo anotados os pesos e data do óbito dos mesmos. Foi utilizado o programa Graphpad Prism sendo os dados estatísticos avaliados pela Análise de Variância de uma via (ANOVA), com correção pelo teste de Tukey. Os dados foram expressos como a média ± erro padrão da média (e.p.m.) e o $p < 0,05$. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA - no 5919210516). **Resultados e Discussão:** Os animais com sepse pré-tratados com salina ou com ceftriaxona morreram em até 7 dias após a indução da sepse. Por outro lado, todos os animais do grupo sham e do grupo com sepse pré-tratados com a saliva do Ae. aegypti sobreviveram pelos 16 dias (taxa de 100% de sobrevida). Foi avaliado, também, o peso corporal como indicativo de

saúde dos animais. O grupo sham teve um aumento de aproximadamente 21,5% do peso corporal durante os 16 dias, enquanto os animais submetidos a CLP e pré-tratados tiveram redução de peso a partir de 24 horas após o procedimento. Por outro lado, os animais CLP pré-tratados com a saliva do *Ae. Aegypti* obtiveram a menor perda de peso corpóreo, recuperando após 6 dias da indução da sepse o seu peso inicial (T0). Com relação a carga bacteriana, nos animais sham não foi detectado a presença de bactérias, enquanto que os animais com sepse pré-tratados com salina apresentaram elevada carga bacteriana em todos os tecidos coletados, sangue e lavado peritoneal em ambos os tempos (12 e 24 horas) mostrando que o procedimento da CLP promove isquemia na região do ceco assim como a translocação bacteriana favorecendo uma infecção polimicrobiana. De maneira geral, os animais com sepse que receberam tratamento com ceftriaxona ou com a saliva do *Ae. aegypti* tiveram redução significativa na carga bacteriana em todos os tecidos coletados. O grupo tratado com ceftriaxona, por sua vez, no tempo de 12 e 24 horas apresentou bactérias no baço e soro, enquanto que o grupo tratado com a saliva do *Ae. aegypti* apresentou bactérias em todas as amostras de 12 horas. No entanto, estas cargas bacterianas estavam reduzidas quando comparada com o grupo CLP pré-tratado com salina. Após 24 horas, houve permanência de carga bacteriana somente no lavado peritoneal no grupo pré tratado com a saliva do *Ae. aegypti*. Estudos que utilizem a saliva do mosquito como potencial terapêutico de doenças são escassos, não havendo testes que avaliassem a sobrevida de animais tratados com a mesma. Todavia, um estudo que avaliou o efeito da saliva em modelo de colite animal demonstrou uma significativa melhora nos scores clínicos da doença resultando na redução da severidade da mesma⁴. Neste sentido, o aumento na sobrevida dos animais pré-tratados com a saliva do *Ae. aegypti* seguido pela menor perda de peso corporal implica em um melhor prognóstico da sepse murina. Com relação a carga bacteriana, nenhum estudo descreveu sobre uma ação direta da saliva em micro-organismos *in vitro*. Todavia, sabe-se que a mesma possui excelente atividade imunomoduladora relacionadas com citocinas como TNF- α , IFN- γ , IL-1 β e IL-5 *in vivo*⁴, bem como na modulação do perfil de resposta imunológica podendo atuar sobre a carga bacteriana de maneira indireta. Assim, mais estudos precisam ser realizados para elucidar o mecanismo pelo qual a saliva atua na melhora do prognóstico da sepse murina. **Conclusão:** A saliva do mosquito *Aedes aegypti* foi capaz de aumentar a sobrevida de animais com CLP reduzindo a carga bacteriana em órgãos podendo modular a resposta imune ocasionando uma ação antimicrobiana indireta. Tal atividade pode ser potencialmente usada para doenças inflamatórias, como é o caso da sepse.

Referências:

1. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock. *JAMA*, 2016, p. 315.
2. Pereira JGA, Marson F, Abeid M, Ostini, FM, Souza SH, Basile-filho A. Fisiopatologia da sepse e suas implicações terapêuticas. *Medicina Rib. Preto*. 1998, v.31, p. 349-362.
3. World Health Organization. Organização Mundial da Saúde. 2014. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>
4. Sales CH, De Souza PR, Basso PJ, Ramos AD, Nardini V, Chica JE, et al. *Aedes aegypti* salivary gland extract ameliorates experimental inflammatory bowel disease. *International Immunopharmacology*. May 2015, v. 26, p. 13-22.