

BETA LAPACHONA COMO POTENCIAL TERAPÊUTICO EM SEPSE EXPERIMENTAL MURINA

Dávila Valentina Silva Rodrigues¹; Ana Ligia de Brito Oliveira¹; Kely Campos Navegantes²; Alayde Braga de Oliveira³; Marta Chagas Monteiro⁴

¹Graduação, ²Mestrado, ^{3,4}Doutorado
^{1,2,4}Universidade Federal do Pará (UFPA),
³Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)
davidavrodrigues@gmail.com

Introdução: A sepse é caracterizada por um processo infeccioso, e em sua maioria é causada por bactérias, com acentuada resposta inflamatória e liberação de mediadores inflamatórios na corrente sanguínea podendo ser potencialmente fatal para o seu hospedeiro. A sepse constitui a segunda principal causa de morte em unidade de terapia intensiva (UTI) levando cerca de 18 milhões de pessoas a óbito por ano no mundo. Apesar de várias abordagens terapêuticas modernas, incluindo a intervenção cirúrgica e tratamento com antibióticos específicos faz-se necessário a busca de novas formas terapêuticas variadas e mais eficazes que possam auxiliar no seu tratamento. Muitos estudos relatam que o uso de compostos anti-inflamatórios com propriedades imunomoduladoras podem ajudar no tratamento da sepse. Assim, verifica-se que há uma grande necessidade de novas terapias menos tóxicas, como as que são provenientes de produtos naturais com propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas, na qual se destaca a β -lapachona. A β -lapachona, uma orto-naftoquinona que é obtida através de uma semi-síntese do lapachol, é uma substância de ocorrência natural isolada da planta ipê roxo (*Tabebuia avellanedae*), na qual o seu extrato é medicinalmente utilizado há séculos. Diversas atividades farmacológicas tem sido atribuídas a β -lapachona, como atividade antibacteriana, antifúngica, tripanossomicida, antitumoral e atividade anti-inflamatória atribuída em parte a imunomodulação^{1,2}. A β -lapachona é capaz de induzir a formação intracelular de espécies reativas de oxigênio, e tal característica é atribuída a sua ação e atividade antimicrobiana. A atividade anti-inflamatória do composto químico é de grande interesse para a indústria farmacêutica. **Objetivos:** O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da β -lapachona na sobrevivência, peso e carga bacteriana em modelo de sepse murina. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss machos com intervalo de peso de 20 a 30g, e estes foram pré-tratados pela via intraperitoneal com solução salina 0,9%, ceftriaxona (20mg/kg) e β -lapachona (50mg/kg) em 2 doses a cada 24h e foram submetidos a transfixação do coto-cecal (CLP) ou então apenas receberam o procedimento cirúrgico sem indução de CLP (Sham). Após 12 e 24 horas da cirurgia, os animais foram sacrificados tendo seus órgãos, sangue e o lavado peritoneal retirados. A quantificação da carga bacteriana dos camundongos foi feita através da avaliação das unidades formadoras de colônia (UFC) após o semeio por esgotamento das amostras em Ágar Mueller-Hinton. Com relação a taxa de sobrevivência, após a indução da CLP os animais foram observados por múltiplos de 8 dias a cada 12 horas sendo anotados os pesos e a data do óbito de todos os animais. Os dados foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) de uma via, com correção pelo teste de Tukey, os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (e.p.m.) e o $p < 0,05$. Todos os procedimentos experimentais realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA / UFPA - no 1912080716). **Resultados e Discussão:** Em nosso estudo, no grupo Sham (controle), nenhum animal foi a óbito nos 16 dias avaliados, enquanto que todos os animais com sepse (CLP) pré-tratados com salina ou tratados com ceftriaxona foram a óbito até 6 dias após a indução da CLP. Em relação ao tratamento dos animais do grupo CLP pré-tratados com

Ceftriaxona, 50% foram a óbito após o 6º dia de realização da sepse, entretanto todos os animais com CLP pré-tratados com a β -lapachona sobreviveram por pelo menos 16 dias após realização da CLP. Em relação a carga bacteriana, o grupo Sham não apresentou bactéria em nenhum dos órgãos avaliados, bem como no lavado peritoneal e no soro. Por outro lado, foi observado um aumento significativo na carga bacteriana no grupo CLP pré-tratado com salina tanto no lavado peritoneal quanto em sítios altamente estéreis, como os órgãos e o sangue, levando à conclusão que o procedimento da CLP promove isquemia na região do ceco assim como a translocação bacteriana, favorecendo uma infecção por múltiplas bactérias. No grupo CLP pré-tratado com ceftriaxona, foi observado bactérias no baço e no soro, enquanto que no grupo CLP pré-tratado com Beta-lapachona somente foi detectada carga bacteriana no fígado. O fígado representa a primeira linha de defesa contra as bactérias provenientes do intestino³. Nesse sentido, a depuração da circulação portal melhorada neste grupo pode ter levado a ausência de bactérias nos outros órgãos (pulmão e coração), no soro e no lavado peritoneal. Os dados da literatura, também, relatam que a atividade antibacteriana de naftoquinonas, como a Beta-lapachona, pode estar relacionada com a indução de estresse oxidativo. Com isso, a função das mitocôndrias e da parede celular bacteriana podem ser afetadas pela geração de radicais livres⁴. A respeito do peso corporal dos animais, o grupo Sham apresentou um aumento de aproximadamente 21,5% do peso corporal durante os 16 dias, por outro lado no grupo CLP + salina e no grupo CLP + ceftriaxona houve redução do peso corporal após a indução da sepse. Todavia, os animais pré-tratados com β -lapachona não apresentaram variação significativa no peso corporal. Sabe-se que durante a sepse ocorre uma diminuição do peso corporal devido a uma redução da ingestão de alimentos e de água. Alguns estudos anteriores relatam que um aumento da citocina pró-inflamatória IL-6 pode, também, levar a redução da ingestão de alimentos ocasionando uma perda de peso corporal⁵. Neste contexto, a β -lapachona pode agir reduzindo os níveis de citocinas pró-inflamatórias, que estão acentuadas em caso de sepse, a exemplo das TNF- α , IL-1 e IL-6. Com isso, o controle da bacteremia e disseminação para os órgãos (fígado, pulmão, baço e coração), soro e lavado peritoneal, assim como a estabilidade no peso corporal, refletiu no aumento da sobrevida dos animais com sepse pré-tratados com a Beta-lapachona. **Conclusão:** De acordo com o que foi analisado, conclui-se que o pré-tratamento com a Beta-lapachona reduziu significativamente a mortalidade em animais com sepse, o qual foi associado com a redução da carga bacteriana no soro, no lavado peritoneal e nos órgãos e, com estabilidade de peso corporal. Desta forma, os efeitos benéficos observados em modelos animais de sepse sugerem a possibilidade da β -lapachona ser usada como uma potencial modalidade terapêutica em casos de sepse.

Referências:

1. Guiraud P, Steiman R, Campos-Takaki GM, Murandi FS, Buochberg MS. Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and β -lapachone. *Planta medica*. 1994, n° 60, p. 373-374.
2. Lourenço AL, Abreu PA, Leal B, Silva-júnior EM, Pinto AV, Pinto MC, et al. Identification of nor- β -lapachone derivatives as potential antibacterial compounds against *Enterococcus faecalis* clinical strain. *Curr Microbiol*. 2011, n° 62, p. 684-693.
3. Son G, Kremer M, Hines IN. Contribution of gut bacteria to liver pathobiology. *Gastroenterol Res Pract*. Jul. 2010.

4. Pereira EM, Machado TB, Leal IC. Tabebuia avellanedae naphthoquinones: activity against methicillin resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and in vivo dermal irritability analysis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006, p. 22.
5. Granger JI, Ratti PL, Datta SC, Raymond RM, Opp MR. Sepsis-induced morbidity in mice: effects on body temperature, body weight, cage activity, social behavior and cytokines in brain. *Psychoneuroendocrinology.* 2013, n° 7, p.1047–1057.