

Efeito do óleo de andiroba na sobrevida de camundongos submetidos à sepse abdominal*

Effect of andiroba oil on survival of mice subjected to abdominal sepsis

Renan Kleber Costa Teixeira¹, Abdallah de Paula Houat¹, Felipe Lobato da Silva Costa¹, João Carlos de Pina Saraiva Filho¹, Edson YuzurYasojima², Marcus Vinicius Henriques Brito³

*Recebido do Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará (LCE/UEPA). Belém, PA.

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: A sepse é a principal causa de morte em unidades de terapia intensiva. Por esse motivo, é fundamental a procura de novos tratamentos para melhorar o manuseio dessa síndrome. O objetivo deste estudo foi verificar se o óleo de andiroba poderia ter um efeito benéfico na sepse abdominal, devido ao seu conhecido poder anti-inflamatório e antimicrobiano.

MÉTODO: Foram utilizados 40 camundongos divididos em três grupos. Realizou-se sepse abdominal por meio da técnica de ligadura e perfuração cecal. O óleo de andiroba foi ministrado na dose de 0,5 mL diretamente na cavidade peritoneal.

RESULTADOS: Houve diferença estatística significativa entre os grupos, sendo que o grupo tratado com óleo de andiroba apresentou menor sobrevida que os demais grupos.

CONCLUSÃO: O tratamento com óleo de andiroba por via intraperitoneal diminuiu a sobrevida de camundongos submetidos à sepse.

Descritores: Plantas medicinais, Ratos, Sepse.

SUMMARY

BACKGROUND AND OBJECTIVES: Sepsis is the leading cause of death in intensive care units. Because of that, the search for new treatments to improve the management of this syndrome is crucial. The objective of this study is to check if andiroba oil could have a beneficial effect on abdominal sepsis, due to its known anti-inflammatory and antimicrobial properties.

METHOD: A total of 40 mice divided into three groups was used. Abdominal sepsis was induced using the technique of cecal

ligation and puncture. Andiroba oil was administered at a dose of 0.5 mL in the peritoneal cavity.

RESULTS: There was a statistical difference between groups, with the group treated with andiroba oil showing lower survival than other groups.

CONCLUSION: The intraperitoneal treatment with andiroba oil decreased the survival of mice subjected to sepsis.

Keywords: Medicinal plants, Rats, Sepsis.

INTRODUÇÃO

A sepse é a principal causa de óbito em unidades de terapia intensiva (UTI). No mundo, 18 milhões de novos casos de sepse grave são diagnosticados anualmente, com mortalidade variando entre 30% e 80%¹. No Brasil, a sepse e o choque séptico são responsáveis, respectivamente, por 24,3% e 52,2% dos óbitos em UTI².

No mundo, a incidência de sepse aumentou 91,3% nos últimos 10 anos. Hoje, em cada 1000 pessoas, 1 a 3 são acometidas por sepse - com perspectiva de crescimento de 1% a cada ano. Isso se deve, entre outros fatores, ao envelhecimento populacional associado à doenças vasculares e cerebrais³. Além de representar um grave problema de saúde pública, a sepse é também um problema financeiro, visto que para seu tratamento é necessária longa estadia em UTI, somando-se ao uso de antibióticos de alto custo⁴.

A escolha destes antibióticos e de outras medidas terapêuticas na sepse representa um desafio para a medicina, uma vez que a sepse ainda permanece uma entidade de difícil manuseio clínico, devido às alterações hemodinâmicas e hidroeletrólíticas decorrentes deste estado. Nesse sentido, intervenções que busquem a redução da morbimortalidade e melhorem o prognóstico do paciente com sepse têm sido extensamente investigadas⁵.

A utilização de plantas medicinais é uma prática antiga que tem sido estudada com significativo sucesso pela ciência biomédica⁶. A Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou no início da década de 1990 que de 65% a 80% da população dos países em desenvolvimento dependiam quase que exclusivamente das plantas medicinais como forma de tratamento para diversas doenças⁷.

Os extratos de plantas são misturas complexas que contêm diversos grupos funcionais diferentes. Por isso elas podem apresentar tanto caráter terapêutico, quanto caráter tóxico dependendo da dose e do modo de utilização⁸. Diversos estudos têm sido realizados com objetivo de avaliar o efeito de plantas medicinais como agentes antimicrobianos, motivados pela resistência apresentada por diversas bactérias aos antibióticos atualmente utilizados⁹.

1. Discente de Medicina da Universidade do Estado do Pará (UEPA). Belém, PA, Brasil
2. Professor Doutorando da Universidade do Estado do Pará (UEPA). Belém, PA, Brasil
3. Professor Doutor da Universidade do Estado do Pará (UEPA). Belém, PA, Brasil

Apresentado em 23 de março de 2012
Aceito para publicação em 23 de julho de 2012
Conflito de interesses: Nenhum

Endereço para correspondência:
Renan Kleber Costa Teixeira
Rua dos Mundurucus, 2256/1401
66035-360 Belém, PA.
Fone: (31) 8145-1108
E-mail: renankleberc@hotmail.com

Dentre os estudos realizados, evidencia-se o trabalho de Santos e col.¹⁰ que estudou diversos óleos de copaíba (*Copaifera sp.*), de espécies diferentes, provenientes de várias regiões do país e observou que, dependendo da região coletada e da espécie utilizada, o óleo apresentava diferentes efeitos contra as bactérias testadas. Outro estudo, utilizando o jambolão (*Syzygium jambolanum*), mostrou que este apresentou efeitos protetores na sepse letal induzida em camundongos por meio da resposta imune ao agente microbiano¹¹.

Uma planta medicinal de destaque na Amazônia é a andiroba, que comprovadamente apresenta ação anti-inflamatória e antimicrobiana, podendo atuar, assim, tanto na inibição do agente invasor, quanto modulando a sua resposta inflamatória^{12,13}. Estudo com este óleo demonstrou seu efeito na proteção contra isquemia e reperfusão renal em ratos¹⁴.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do óleo de andiroba (*Carapas guianensis*) na sobrevivência de ratos submetidos à sepse abdominal por ligadura e punção cecal (LPC).

MÉTODOS

Os animais da pesquisa foram cuidados segundo a legislação nacional em vigor para a criação e uso de animais de laboratório (Lei federal nº 11.794, de 2008), respeitando os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados 40 camundongos (*Mus musculus*) machos, adultos, pesando entre 35 e 40 g, provenientes do Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará (LCE/UEPA). Estes foram acomodados em gaiolas contendo 5 animais cada, com oferta de comida e água *ad libitum*, em ambiente onde a temperatura e a umidade foram controladas e com ciclos luz/sombra de 12h.

Estes animais foram aleatoriamente distribuídos nos seguintes grupos:

- Grupo Sham (GS): com 10 animais submetidos a todos os procedimentos cirúrgicos, com exceção da LPC;
- Grupo Controle (GC): com 15 animais submetidos à LPC, e que não receberam nenhum tratamento;
- Grupo Andiroba (GA): com 15 animais submetidos à LPC, e tratados com óleo de andiroba.

O óleo de andiroba foi extraído e disponibilizado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). A análise físico-química e espectrofotométrica do mesmo foi realizada pelo Laboratório de Química da Universidade Federal do Pará (UFPA).

Todos os animais foram pesados para determinar a quantidade de anestésicos necessários para a pesquisa. Utilizou-se cetamina (100 mg/kg) e xilazina (25 mg/kg) administrados por via intraperitoneal. Após a confirmação da anestesia, foi realizada a epilação abdominal do animal.

Sob condições assépticas, foi realizada laparotomia mediana xifopúbica de 1,5 cm para exposição do ceco e áreas adjacentes. O ceco foi submetido a ligadura com fio de algodão 4-0 em sua base, logo abaixo da válvula ileo-cecal, em seguida foram realizadas seis punções nessa região com o auxílio de uma agulha 21G¹³. Posteriormente, executou-se a sutura do plano muscular por meio de ponto chuleio simples com fio de náilon 3-0 e da pele por meio de pontos simples com fio de náilon 6-0. Todos os animais receberam solução salina isotônica (50 mL/kg) por via subcutânea, imediatamente após o procedimento.

No grupo GS foram realizados todos os procedimentos já descritos, exceto a LPC, e no grupo GA logo após o procedimento de LPC foi injetado 0,5 mL de óleo de andiroba na região intraperitoneal. Foi observado o tempo de sobrevivência dos animais por 48h, sendo anotados os horários de óbito dos animais no protocolo de pesquisa. Realizou-se necropsia de 5 animais do GC e 5 do GA. Após este período foi realizada a eutanásia nos animais sobreviventes. As curvas de sobrevivência dos diferentes grupos de tratamento foram comparadas pelo teste *Log-Rank*. Os valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o *software* BioEstat5.0. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Estado do Pará, protocolo nº 08/2012.

RESULTADOS

A sobrevivência dos animais foi avaliada por meio da verificação do tempo decorrido entre a indução da sepse e a hora exata do óbito do animal. Transcorrido o período de 48h, 100% do GS, 53,33% do GC e 0% do GA permaneceram vivos, sendo esta diferença estatisticamente significante (Gráfico 1).

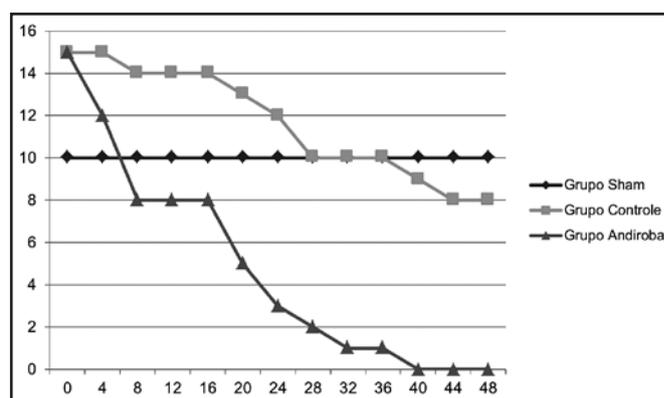


Gráfico 1 – Sobrevivência dos animais em relação ao tempo decorrido após o procedimento operatório de cada grupo.

$p < 0,0001$ (Teste de Long-Rank – GC versus GA).

A necropsia dos animais do GC evidenciou abundante líquido turvo na cavidade abdominal e presença de aderências peritoneais. No GA, foram visualizadas áreas de ulceração e hemorragias, além de pequena quantidade de líquido turvo na cavidade abdominal e uma quantidade inferior de aderências peritoneais quando comparadas ao GC.

DISCUSSÃO

A mortalidade dos pacientes com sepse continua em níveis elevados, apesar dos recentes avanços na antibioticoterapia e nas medidas de suporte, e das pesquisas realizadas nesta área¹⁵. Entre outros fatores, o prognóstico desfavorável é causado por diagnóstico tardio e pela presença de doenças de base como a diabetes e os estados de imunossupressão. Assim, pesquisas que buscam alternativas para o manejo da sepse são necessárias. Destacam-se neste grupo, estudos que atribuem certo efeito antimicrobiano para a sinvastatina¹⁶.

Diversas pesquisas relatam o potencial antimicrobiano e anti-inflamatório do óleo de andiroba, podendo este atuar como um fator adjuvante no tratamento da sepse^{11,12,14}. O modelo de LPC foi escolhido por ser o que melhor simula a fisiopatologia da sepse humana. Leal, Fontelles e Rodrigues Neto¹³ e Yun, Lee e Lee¹⁷ demonstraram os efeitos de outras duas plantas medicinais presentes na Amazônia, o óleo de copaíba e o extrato de Aloe vera, respectivamente, em camundongos submetidos à sepse por LPC, em ambas as pesquisas se obteve melhor taxa de sobrevida no grupo em que foi utilizada a planta em relação ao controle, entretanto estes utilizaram vias de aplicação distintas deste estudo.

Objetivou-se no presente estudo uma ação direta do óleo de andiroba no foco infeccioso, visando com isso impedir a formação da sepse. Para isso, o óleo foi aplicado diretamente na cavidade abdominal de camundongos. Todavia, este apresentou efeito negativo na sobrevida dos animais, mostrando provavelmente que o óleo de andiroba na concentração utilizada atuou induzindo a morte dos camundongos estudados.

Botelho e col.¹⁸ ao estudarem os efeitos do óleo de copaíba em altas doses em ratos, perceberam que estes morriam com uma dose de 6 mL de óleo por quilo de animal, devido a ulcerações no estomago e no intestino. O mecanismo de morte do óleo de andiroba nos camundongos pode ter ocorrido de maneira análoga à este mecanismo do óleo de copaíba. Em estudo¹³ com metodologia semelhante de indução da sepse, a quantidade de animais vivos foi semelhante ao encontrado no presente estudo, o que favorece a ideia de que o mecanismo de morte tenha ocorrido por diversos motivos além da sepse.

Souza Junior e col.¹⁹ demonstraram que o óleo de andiroba não apresenta morbimortalidade quando aplicado na cavidade abdominal de ratos, num período de até sete dias. Contudo na presente pesquisa foi utilizada uma dose superior ao estudo citado, o que pode ter levado o óleo a causar efeito corrosivo. Um dos mecanismos desta corrosão pode ser atribuído ao pH da andiroba que conforme pesquisado possui valor próximo de 4,4²⁰, podendo este meio ácido ter provocado o efeito negativo do óleo de andiroba na sepse.

CONCLUSÃO

O tratamento utilizando óleo de andiroba por via intraperitoneal diminuiu a sobrevida de camundongos submetidos à LPC, possivelmente devido ao efeito corrosivo apresentado na dose utilizada.

REFERÊNCIAS

- Friedman G, Silva E, Vincent JL. Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med*. 1998;26(12):2078-86.
- Silva E, Pedro M, Sogayar AC, et al. Brazilian Sepsis Epidemiological Study. (BASES study). *Crit Care*. 2004;8(4):251-60.
- Silva E. Sepse, um problema do tamanho do Brasil. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2006;18(1):5-6.
- Koenig A, Picon PD, Feijo J, et al. Estimativa do impacto econômico da implantação de um protocolo hospitalar para detecção e tratamento precoce de sepse grave em hospitais públicos e privados do sul do Brasil. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2010;22(3):213-9.
- Siqueira-Batista R, Gomes AP, Calixto-Lima L, et al. Sepse: atualidades e perspectivas. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2011;23(2):207-16.
- Flogio MA, Queiroga CL, Souza IMO, et al. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. *Multiciência*. 2006;17(1):1-8
- Veiga Junior VF, Pinto AC. Plantas medicinais: cura segura? *Quim Nova*. 2002;25(2): 519-28.
- Costa VP, Mayworm MAS. Plantas medicinais utilizadas pela comunidade do bairro dos Tenentes - município de Extrema, MG, Brasil. *Rev Bras Plantas Med*. 2011;(13(3): 282-92.
- Shu YZ. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. *J Nat Prod*. 1998;61(8):1053-71.
- Santos AO, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, et al. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the Copaifera genus. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103(3):277-81
- Maciel MC, Farias JC, Maluf MJ, et al. *Syzygium jambolanum* treatment improves survival in lethal sepsis induced in mice. *BMC Complement Altern Med*. 2008;5:57-63.
- Mendonça AP, Ferraz IDK. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica*. 2007;37(3):353-64.
- Leal RA, Fontelles MJP, Rodrigues Neto TS. Copaiba oil effects on survival rate after cecal ligation and puncture in mice. *Rev Para Med*. 2009;23(1):33-7.
- Rodrigues BD, Fonseca AXC, Brito MVH, et al. Avaliação macroscópica de feridas cutâneas abertas, em ratos, tratadas com óleo de andiroba. *Rev Para Med*. 2001;15(2):17-22.
- Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med*. 2006;34(4):344-53.
- Stoeckle M, Kaech C, Trampuz A, et al. The role of diabetes mellitus in patients with bloodstream infections. *Swiss Med Wkly*. 2008;138(35-36):512-9.
- Yun N, Lee CH, Lee SM. Protective effect of Aloe vera on polymicrobial sepsis in mice. *Food Chem Toxicol*. 2009;47(6):1341-8.
- Botelho NM, Carvalho RKV, Matos LTMB, et al. Efeito subagudo de altas doses do óleo de copaíba nos níveis de enzimas hepáticas em soro de ratos. *Rev Para Med*. 2010;24(3/4):51-6.
- Souza Junior OG, Cal RVR, Amoury Junior RRC, et al. Efeito do óleo de andiroba em cavidade peritoneal de ratos. *Rev Para Med*. 1999;13(2):47-50.
- Neves OSC, Benedito DS, Machado RV, et al. Crescimento, produção de matéria seca e acúmulo de n, p, k,ca, mg e s na parte aérea de mudas de andiroba (*carapa guianensis* aubl.) cultivadas em solo de várzea, em função de diferentes doses de fósforo. *Rev Árvore*. 2044;28(3):343-9.