



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA – REDE BIONORTE

**BIOATIVIDADE DA PUNICALAGINA (*Punica granatum*) EM MODELO
DE SEPSE INDUZIDA EM CAMUNDONGO**

LILIANE DOS SANTOS RODRIGUES

São Luís – MA

2023

LILIANE DOS SANTOS RODRIGUES

**BIOATIVIDADE DA PUNICALAGINA (*Punica granatum*) EM MODELO
DE SEPSE INDUZIDA EM CAMUNDONGO**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Valério Monteiro Neto.

Coorientadora: Profa. Dra. Márcia Cristina Gonçalves Maciel.

São Luís – MA

Outubro/2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

dos Santos Rodrigues, LILIANE.

BIOATIVIDADE DA PUNICALAGINA *Punica granatum* EM MODELO
DE SEPSE INDUZIDA EM CAMUNDONGO / LILIANE dos Santos
Rodrigues. - 2023.

110 f.

Coorientador(a) 1: Márcia Cristina Gonçalves Maciel.

Orientador(a): Valério Monteiro Neto.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Rede -
Rede de Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia
Legal/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,
2023.

1. Infecção. 2. *Punica granatum* L. 3. Puncialagina.
4. Sepsis. I. Gonçalves Maciel, Márcia Cristina. II.
Monteiro Neto, Valério. III. Título.

LILIANE DOS SANTOS RODRIGUES

BIOATIVIDADE DA PUNICALAGINA (*Punica granatum*) EM MODELO DE SEPSE INDUZIDA EM CAMUNDONGO

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em 09/11/2023

Banca examinadora

Prof. Dr. Valério Monteiro Neto (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Profa. Dra. Márcia Cristina Gonçalves Maciel (Coorientadora)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Luís Cláudio Nascimento da Silva
Universidade do CEUMA – UniCEUMA

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Profa. Dra. Andréa de Souza Monteiro
Universidade do CEUMA – UniCEUMA

Profa. Dra. Ana Lúcia Fernandes Pereira
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Sepsis.....	16
2.2 <i>Punica granatum</i>	19
2.3 Punicalagina	21
3. CAPÍTULOS.....	23
3.1 Capítulo 1 (artigo publicado).....	23
3.2 Capítulo 2 (artigo publicado).....	40
3.3 Capítulo 3 (artigo em andamento)	61
4. CONCLUSÕES	82
ANEXOS	91
Anexo A: Publicação do primeiro artigo científico.....	92
Anexo B: Publicação do segundo artigo científico	100

RODRIGUES, Liliane dos Santos. **Bioatividade da punicalagina (*Punica granatum*) em modelo de sepse induzida em camundongo**. 2023. 110 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2023.

RESUMO

A sepse consiste em uma disfunção orgânica oriunda de uma infecção que provoca uma reposta inflamatória em todo o organismo. É considerada um grave problema de saúde e uma das 10 maiores responsáveis pelo número de mortes em nível mundial. Formas alternativas para o tratamento de doenças vêm sendo estudadas como o fitoterápico, que consiste na utilização de medicamentos vindos de vegetais ou plantas medicinais. *Punica granatum* L., popularmente conhecida como Romã, é utilizada como vermífugo, anti-helmíntico, antialérgico e no tratamento de infecções do trato urinário, sífilis, úlceras, diarreia, dentre outras manifestações clínicas. Dentre os seus compostos fenólicos, a punicalagina é uma grande responsável por estes efeitos. **Objetivos:** investigar a taxa de mortalidade infantil por sepse no Brasil e a bioatividade da *Punica granatum* e da punicalagina sobre modelos de sepse *in vivo*. **Métodos:** Capítulo I – foi realizado um estudo ecológico de séries temporais e analisou-se a tendência da mortalidade infantil por sepse através da Classificação Internacional de Doenças (CID10) segundo o local de residência (Norte, Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste); Capítulo II – foi induzida sepse letal polimicrobiana em camundongos por meio de ligadura e punção cecal (CLP), os animais foram divididos em três grupos (Sham – falso-operado, CLP-controle – PBS e CLP-HCEPg – dose única, 5 mg/kg, administração subcutânea), o tratamento foi iniciado imediatamente após a indução da sepse e a sobrevida foi avaliada a cada 12 horas durante cinco dias, foram analisados os níveis séricos de citocinas, o número de unidades formadoras de colônias (UFC), bem como o número de células nos órgãos linfóides e seus marcadores de ativação; Capítulo III – foi realizada uma investigação da punicalagina no modelo de infecção por sepse e foram avaliados os parâmetros hematológicos, histopatológico, unidades formadoras de colônias (CFU), celularidade no sangue, órgãos linfóides, cavidade peritoneal e lavado broncoalveolar (BAL), produção de IL-2, IL-4, IL-6, IFN- γ , TNF- α , IL-17 e IL-10, óxido nítrico e as diferenças estatísticas de todas as análises foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. **Resultados:** Capítulo I – a maioria das regiões apresentou tendência decrescente nas taxas de mortalidade por sepse em todos os componentes etários, apesar das diferenças regionais; Capítulo II – *P. granatum* melhorou a expectativa de vida de camundongos sépticos, possivelmente devido aos seus efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios e imunomoduladores, regulando assim a carga bacteriana e a translocação, bem como controlando a inflamação sistêmica induzida pela sepse; Capítulo III – a punicalagina associada a um antibiótico exerceu efeito antimicrobiano e imunomodulador sobre camundongos com sepse. **Conclusões:** as taxas de mortalidade por sepse estão em sua maioria em estado decrescente no Brasil, a *P. granatum* e a punicalagina associada a antibiótico são alternativas interessantes para o tratamento de indivíduos sépticos.

Palavras-chave: Infecção; *Punica granatum* L.; Punicalagina; Sepse.

RODRIGUES, Liliane dos Santos. **Bioactivity of punicalagin (*Punica granatum*) in a sepsis model induced in mice.** 2023. 110 f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology) – Federal University of Maranhão, São Luís, MA-Brazil, 2023.

ABSTRACT

Sepsis consists of an organic dysfunction arising from an infection that causes an inflammatory response throughout the body. It is considered a serious health problem and one of the 10 most responsible for the number of deaths worldwide. Alternative ways to treat diseases have been studied, such as herbal medicine, which consists of the use of medicines from vegetables or medicinal plants. *Punica granatum* L., popularly known as Pomegranate, is used as a vermifuge, anthelmintic, antiallergic and in the treatment of urinary tract infections, syphilis, ulcers, diarrhea, among other clinical manifestations. Among its phenolic compounds, punicalagin is largely responsible for these effects. Objectives: to investigate the infant mortality rate due to sepsis in Brazil and the bioactivity of *Punica granatum* and punicalagin on in vivo sepsis models. Methods: Chapter I – an ecological time series study was carried out and the trend in infant mortality due to sepsis was analyzed using the International Classification of Diseases (ICD10) according to place of residence (North, Northeast, Southeast, South and Central-West); Chapter II – lethal polymicrobial sepsis was induced in mice using cecal ligation and puncture (CLP), the animals were divided into three groups (Sham – sham-operated, CLP-control – PBS and CLP-HCEPg – single dose, 5 mg /kg, subcutaneous administration), treatment was started immediately after sepsis induction and survival was assessed every 12 hours for five days. Serum levels of cytokines, the number of colony forming units (CFU), as well as such as the number of cells in lymphoid organs and their activation markers; Chapter III - an investigation of punicalagin was carried out in the sepsis infection model and the hematological, histopathological parameters, colony forming units (CFU), cellularity in the blood, lymphoid organs, peritoneal cavity and bronchoalveolar lavage (BAL), production of IL-2, IL-4, IL-6, IFN- γ , TNF- α , IL-17 and IL-10, nitric oxide and statistical differences from all analyzes were considered significant when $p < 0.05$. Results: Chapter I – most regions showed a decreasing trend in sepsis mortality rates across all age groups, despite regional differences; Chapter II – *P. granatum* improved the life expectancy of septic mice, possibly due to its antimicrobial, anti-inflammatory and immunomodulatory effects, thus regulating bacterial load and translocation, as well as controlling sepsis-induced systemic inflammation; Chapter III – punicalagin associated with an antibiotic exerted an antimicrobial and immunomodulatory effect on mice with sepsis. Conclusions: mortality rates from sepsis are mostly decreasing in Brazil, *P. granatum* and punicalagin associated with antibiotics are interesting alternatives for the treatment of septic individuals.

Key-words: Infection; *Punica granatum* L.; Punicalagin; Sepsis.