



PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE MODELO EXPERIMENTAL DE SEPSE EM CAMUNDONGOS¹

Samara Cristine Knebel², Maicon Machado Sulzbacher³, Lucas Machado Sulzbacher⁴,
Thiago Gomes Heck⁵ Matias Nunes Frizzo⁶

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPEF) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI).

² Acadêmica do curso de Biomedicina - UNIJUI, Bolsista PIBITI/CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia/GPeF. Email: samara.knebel@sou.unijui.edu.br

³ Doutorando em Farmacologia pela Universidade Federal de Santa Maria. Integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF).

⁴ Mestrando do Programa de Pós- Graduação de Atenção Integral à Saúde (PPGAIS), UNIJUI/UNICRUZ, integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF).

⁵ Professor Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS/UNICRUZ/UNIJUI) e Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional (PPGMMC).

⁶ Professor Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS/UNICRUZ/UNIJUI). E-mail: matias.frizzo@unijui.edu.br

Introdução: Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a sepse acomete cerca de 49 milhões de pessoas anualmente, com uma mortalidade de 11 milhões destas, sendo as infecções de origem abdominal um dos principais focos infecciosos. Na fisiopatologia desta síndrome infecciosa um dos principais alvos de mediação de agravos é o estresse oxidativo gerado. O processo infeccioso e o estado de estresse oxidativo desencadeado pela resposta imune podem provocar respostas celulares ao estresse em diferentes células e órgãos. Neste sentido, as proteínas de choque térmico (HSPs), principalmente da família HSP70, em especial os níveis de HSP70 extracelular estão associados com a ativação da resposta inflamatória na sepse. Além da resposta celular ao estresse, destacam-se também os parâmetros hematológicos os quais são de elevada sensibilidade e especificidade para o rastreamento, monitoramento e prognóstico na sepse. **Objetivos:** Avaliar o tratamento com eHSP72 e a modulação dos parâmetros leucocitários, em camundongos no modelo experimental de sepse. **Metodologia:** Neste estudo foram utilizados 19 animais, sendo divididos em quatro grupos, caracterizados como Grupo Controle (n=5), receberam injeção de solução fisiológica 0,9%, Grupo Sepse (n=6), receberam injeção intraperitoneal de solução fecal 20% (1mg/g) para indução da sepse, Grupo Sepse tratado com eHSP72 (n=5), receberam intervenção com eHSP72 endovenosa e o Grupo Sepse tratado com anticorpo para HSP70 (n=3), caracterizados como camundongos da linhagem C57BL/6 com cerca de 90 dias, provenientes do Biotério da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), sendo o presente estudo aprovado pela CEUA-UNIJUI protocolo 008/2021. A administração de eHSP72 (HSPA1A) foi administrada por via endovenosa (veia caudal) 12 horas após a indução da doença, na dose de 1,33 ng/g, nos animais SEP+eHSP72, enquanto os animais do grupo SEP+anti-HSP72 receberam a intervenção com a administração de anticorpo anti-HSP70 (H5147) na dose de 1,33 ng/g por via endovenosa (veia caudal) no mesmo período. Após 24 horas da indução da sepse, os animais foram eutanasiados com



posterior coleta de sangue e tecidos. O sangue do tronco dos animais foi coletado e acondicionado em tubo com anticoagulante (EDTA) e para a determinação automatizada foi utilizado o analisador hematológico Micros 60 (Horiba), no qual obtivemos a contagem total de leucócitos, contagem relativa e absoluta de leucócitos (neutrófilos, linfócitos e monócitos), além da contagem de plaqueta. Na sequência foram realizadas distensões hematológicas em lâmina, corados com coloração Giemsa May Grunwaldt (Newprov). Para a determinação de relações hematológicas referentes a Relação Plaqueta Linfócito - RPL, a partir da divisão da contagem de plaquetas pela contagem absoluta de linfócitos, expressos em mm^3 ; a Relação Neutrófilo Linfócito - RNL, a partir da divisão da contagem absoluta de neutrófilos pela contagem absoluta de linfócitos, expressos em mm^3 e a Relação Monócito Linfócito - RML, a partir da divisão da contagem absoluta de monócitos pela contagem absoluta de linfócitos, expressos em mm^3 . Posteriormente foi realizado o teste de ANOVA de duas vias seguido de teste de Bonferroni para a análise da dos parâmetros hematológicos, sendo considerado nível de significância de 5%. **Resultados:** Demonstramos que no tempo de 24 horas a contagem total de neutrófilos foi maior, ($p= 0,0435$) no grupo sepse em comparação ao grupo SEP+anti-HSP72. Também destacamos, que a RNL foi maior, $p<0,05$, sendo $p= 0,0002$, no grupo SEP+eHSP72 em comparação ao grupo SEP+anti-HSP72. Já a relação monócito linfócito (RML) e relação plaqueta linfócito (RPL) foram maiores ($P<0,05$) após 24 horas da indução da sepse SEP+eHSP72 em comparação ao grupo SEP+anti-HSP72. **Conclusões:** Demonstramos que a HSP70 tem um importante papel imunomodulador na sepse, sendo que o bloqueio da HSP72, através do anticorpo anti-HSP72, promoveu redução nas contagens de neutrófilos circulantes, na RNL, RML e RPL comparado aos animais que receberam HSP72 em nosso experimento de sepse. **Palavras-chave:** Septicemia, Proteínas de Choque Térmico 70, Camundongo. **Agradecimentos:** Agradeço ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica, especialmente ao PIBITI/CNPQ pela concessão de bolsas, incentivando a pesquisa. Para mais, agradeço a todos do Grupo de Pesquisa em Fisiologia por todos os ensinamentos, em especial ao meu orientador, professor Dr. Matias Nunes Frizzo, pela oportunidade de ingresso na pesquisa.