



## EFEITOS DO ÓLEO DE COPAÍBA SOBRE A GLICONEOGÊNESE HEPÁTICA EM RATOS COM ARTRITE POR ADJUVANTE

Camila de Lima Barizão (PIBIC/CNPq), Ana Paula Arssufi Ames, Cristiane Vizioli de Castro Ghizoni, Anacharis Babeto Sá-Nakanishi, Jurandir Fernando Comar (orientador), e-mail: [camilabarizao@gmail.com](mailto:camilabarizao@gmail.com).

Universidade Estadual de Maringá /Centro Ciências Biológicas/ Maringá, PR.

Área e subárea do [CNPq/CAPES](#): Ciências Biológicas / Bioquímica

**Palavras-chave:** Gliconeogênese, artrite por adjuvante, perfusão de fígado.

### Resumo:

O óleo de copaíba é um oleorresina formado por uma combinação de sesquiterpenos e diterpenos. A artrite por adjuvante é uma imunopatologia experimental em ratos que apresenta semelhanças com a artrite reumatoide, incluindo manifestações sistêmicas, como alterações no metabolismo hepático. Este trabalho foi planejado para investigar os efeitos do óleo de copaíba sobre a gliconeogênese no fígado de ratos saudáveis e artríticos. Animais controles e artríticos foram tratados com óleo de copaíba nas doses de 0,63 e 1,26 ml/Kg e a artrite foi induzida com adjuvante de Freund. O fígado de rato em perfusão foi utilizado para avaliar a gliconeogênese a partir de L-lactato 2 mM. O tratamento de controles com as duas doses de óleo diminuiu a produção de glicose e o consumo de oxigênio em cerca de 30% em relação aos controles não tratados. A artrite reduziu a produção de glicose em 44,1% em relação ao grupo controle, mas não o consumo de oxigênio. O óleo de copaíba reduziu o consumo de oxigênio em 36% para a dose de 0,63 ml/kg e 58% para 1,26 ml/kg, em relação ao grupo artrítico. Em conclusão, o óleo de copaíba diminuiu a gliconeogênese hepática em ratos saudáveis e não afetou àquela já diminuída na artrite, uma característica que mostra aparente toxicidade do óleo nestas doses.

### Introdução

O óleo de copaíba é um oleorresina extraído de plantas pertencentes ao gênero *Copaifera*, constituído por uma combinação de sesquiterpenos e





diterpenos. Para a espécie *C. langsdorffii* Desf foi demonstrado uma atividade antiinflamatória e antioxidante no tecido intestinal de ratos sob isquemia e reperfusão do intestino (LIMA e SILVA et al., 2009).

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória autoimune e multissistêmica, que pode causar também alterações metabólicas. A artrite induzida por adjuvante completo de Freund é uma imunopatologia experimental em ratos que apresenta muitas semelhanças com a artrite reumatoide, causando respostas inflamatórias e alterações imunológicas em vários órgãos, como cérebro e fígado (COMAR et al., 2013). Alterações metabólicas no fígado de ratos artríticos também são proeminentes. O fígado perfundido de ratos artríticos apresentaram maior consumo de oxigênio e reduzida gliconeogênese a partir de diversos substratos, em especial o lactato (FEDATTO et al., 2002). Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do tratamento de ratos controles e artríticos com o óleo de copaíba sobre a gliconeogênese hepática.

## Materiais e métodos

Ratos Holtzman foram divididos em 6 grupos: 1) controles, 2) controles tratados com óleo de copaíba 0,63 ml/Kg, 3) controles tratados com óleo de copaíba 1,26 ml/Kg, 4) artríticos, 5) artríticos tratados com o óleo 0,63 ml/Kg, e 6) artríticos tratados com 1,26 ml/Kg. O tratamento foi iniciado 5 dias antes da indução da artrite e permaneceu por mais 18 dias. A artrite foi induzida pela injeção de 0,1 ml do adjuvante de Freund (5,0 mg ml<sup>-1</sup>) na pata posterior do animal. No 19º dia, os animais em jejum de 12 horas foram utilizados para os procedimentos experimentais.

O fígado isolado foi perfundido conforme descrito por BRACHT *et al.* (2003). O Lactato 2 mM foi utilizado como substrato gliconeogênico e infundido por 30 minutos. Amostras do perfusado foram coletadas a cada 2 minutos e utilizadas para dosagem de glicose e piruvato. O consumo de oxigênio foi monitorado por polarografia. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média e a avaliação de significância ( $p < 0,05$ ) foi feita por análise de variância (ANOVA) com pós-teste de Newman-Keuls.

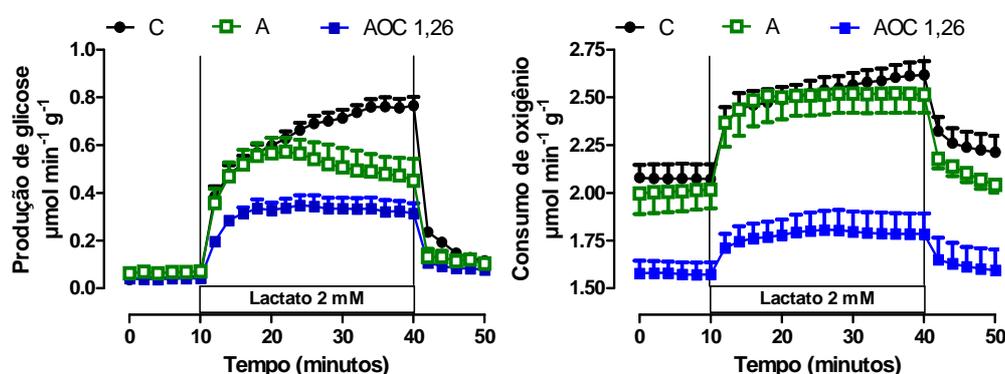
## Resultados e Discussão

A Figuras 1 mostra o consumo de oxigênio e a produção de glicose no fígado perfundido de ratos controles e artríticos não tratados e artríticos tratados com óleo de copaíba na dose de 1,26 ml/kg. Também mostra o





protocolo experimental utilizado. É possível notar que os dois parâmetros aumentam com a introdução lactato, mas de forma diferente para os 3 grupos. Experimentos semelhantes àqueles da Figuras 1 foram feitos também com ratos tratados com o óleo na dose de 0,63 ml/kg. A Tabela 1 mostra os incrementos na produção de glicose, piruvato e consumo de oxigênio devido à infusão de lactato em ratos controles e artríticos, tratados e não tratados. Os incrementos nos fluxos metabólicos da Tabela 1 foram calculados subtraindo-se os valores basais daqueles obtidos ao final da infusão do lactato (40 min). O tratamento dos controles com as duas doses de óleo diminuiu os parâmetros avaliados em cerca de 30% em relação ao grupo controle não tratado. A artrite reduziu a produção de glicose em 44% em relação ao grupo controle, mas o consumo de oxigênio não foi afetado. O tratamento dos animais artríticos reduziu apenas o consumo de oxigênio em 36% para a dose 0,63 ml/kg e 58% para 1,26 ml/kg.



**Figura 1.** Produção de glicose e consumo de oxigênio a partir de lactato 2 mM no fígado perfundido de ratos controle (C), artrítico (A) e artríticos tratados com óleo de copaíba 1,26 ml/Kg (AOC 1,26).

## Conclusões

Os resultados mostram que a gliconeogênese a partir de lactato no fígado de ratos com artrite por adjuvante foi menor que aquela no fígado de ratos controles. O tratamento de ratos saudáveis com o óleo de copaíba nas doses de 0,63 ml/kg e 1,26 ml/kg reduziram a gliconeogênese, uma característica que aparentemente demonstra toxicidade do óleo nestas doses. Em adição, o tratamento de ratos artríticos nas mesmas doses não afetou a gliconeogênese, porém, esta já estava diminuída pela artrite.





Tabela 1. *Incrementos na produção de glicose, produção de piruvato e consumo de oxigênio.*

Grupos	Produção de Glicose ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	Produção de Piruvato ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	Consumo de Oxigênio ( $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$ )
Controle	$0,71 \pm 0,04^a$	$0,28 \pm 0,04^a$	$0,54 \pm 0,05^a$
Controle + 0,63 ml/Kg	$0,48 \pm 0,05^b$	$0,19 \pm 0,03^b$	$0,26 \pm 0,06^b$
Controle + 1,26 ml/Kg	$0,30 \pm 0,03^c$	$0,19 \pm 0,01^b$	$0,20 \pm 0,05^b$
Artrítico	$0,39 \pm 0,07^{bc}$	$0,34 \pm 0,03^a$	$0,51 \pm 0,04^a$
Artrítico + 0,63 ml/Kg	$0,38 \pm 0,04^{bc}$	$0,30 \pm 0,02^{ac}$	$0,35 \pm 0,06^b$
Artrítico + 1,26 ml/Kg	$0,28 \pm 0,05^c$	$0,25 \pm 0,02^{abc}$	$0,21 \pm 0,05^b$

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística.  $p < 0,05$

### Agradecimentos

Ao CNPq pelo fomento e incentivo dados à pesquisa científica.

### Referências

BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E.L.; KELMER-BRACHT, A.M. O estudo do metabolismo no fígado em perfusão. In: BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E.L. (org). **Métodos de laboratório em bioquímica**. São Paulo: Manole, 2002. p. 270-284.

COMAR, J.F.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; OLIVEIRA, A.L.; WENDT, M.M.N.; BERSANI-AMADO, C.A.; ISHII-IWAMOTO, E.L.; PERALTA, R.M.; BRACHT, A. Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. **Free Radical Biology and Medicine**, Maringá, v. 58, p.144–153, 2013.

DE LIMA SILVA, J.J.; GUIMARÃES, S.B.; DA SILVEIRA, E.R.; DE VASCONCELOS, P.R.; LIMA, G.G.; TORRES, S.M.; DE VASCONCELOS, R.C. Effects of Copaifera langsdorffii Desf. on ischemia-reperfusion of randomized skin flaps in rats. **Aesthetic Plastic Surgery**, Fortaleza, v. 33, p. 104-109, 2009.

FEDATTO, Z. Jr; ISHII-IWAMOTO, E.L.; CAPARROZ-ASSEF, S.M.; VICENTINI, G.E.; BRACHT, A.; KELMER-BRACHT, A.M. Glycogen levels and glycogen catabolism in livers from arthritic rats. **Mol Cell Biochem**, Maringá, v. 229, p. 1-7, 2002.

