

EFEITOS DO BETA-CARIOFILENO SOBRE A GLICONEOGÊNESE HEPÁTICA DE RATOS COM ARTRITE INDUZIDA POR ADJIVANTE

Aline Francieli da Silva (PIBIC/CNPq), Ana Paula Ames Sibin, Jurandir
Fernando Comar (orientador), e-mail: alline.francieli@gmail.com

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

Área e subárea do CNPq/CAPES: Ciências Biológicas / Bioquímica

Palavras-chave: anti-inflamatório, metabolismo hepático, perfusão de fígado

Resumo:

O β -cariofileno é um sesquiterpeno natural com diversas propriedades terapêuticas, principalmente anti-inflamatória. É o principal componente do óleo de copaíba, um dos principais fitoterápicos da Amazônia brasileira. O óleo de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke) oralmente administrado diminuiu a inflamação e o estresse oxidativo sistêmicos em ratos com artrite induzida por adjuvante, entretanto, alterou a morfologia e fortemente reduziu a gliconeogênese no fígado de ratos saudáveis. Estes efeitos foram relacionados à hepatotoxicidade. O β -cariofileno é o responsável pelos efeitos anti-inflamatórios do óleo de copaíba, entretanto, não se sabe se o β -cariofileno está relacionado à hepatotoxicidade. O presente estudo avaliou a gliconeogênese hepática em ratos saudáveis e artríticos tratados oralmente com o β -cariofileno na dose de 430 mg·Kg⁻¹. A gliconeogênese foi 40% menor em ratos artríticos. O tratamento com β -cariofileno não melhorou a gliconeogênese de ratos artríticos, mas diferentemente do óleo de copaíba, não alterou a gliconeogênese de ratos saudáveis. Estes resultados mostram que o β -cariofileno não está relacionado à hepatotoxicidade e é um bom candidato para potencializar os efeitos do tratamento da artrite reumatoide.

Introdução

O β -cariofileno é um sesquiterpeno natural que apresenta diversas propriedades terapêuticas, principalmente anti-inflamatória. É o principal constituinte do óleo de copaíba, um dos mais importantes fitoterápicos da Amazônia brasileira, podendo atingir até 50% do seu conteúdo. O óleo de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke) e o β -cariofileno oralmente administrados diminuíram a inflamação e o estresse oxidativo sistêmicos em ratos com artrite induzida por adjuvante (AMES-SIBIN et al., 2018; CASTRO-GHIZONI et al., 2017). Este último é um modelo de inflamação crônica que compartilha muitas características da artrite reumatoide em humanos e é muito utilizado para avaliar a ação de compostos anti-inflamatórios e antirreumáticos (COMAR et al., 2013). No caso do óleo de copaíba, os efeitos benéficos foram acompanhados por alterações na morfologia e

fortemente reduziu a gliconeogênese no fígado de ratos saudáveis. Estes efeitos foram relacionados à hepatotoxicidade.

O β -cariofileno é o responsável pela atividade anti-inflamatória e antioxidante do óleo de copaíba (AMES-SIBIN et al., 2018), entretanto, ainda é incerto se está ou não associado à hepatotoxicidade observada para o óleo. A via gliconeogênica é extremamente sensível a alterações na integridade e função celular hepática e está diminuída diante de efeitos hepatotóxicos (SOARES et al., 2013). Desta forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do β -cariofileno sobre a gliconeogênese no fígado em perfusão de ratos com artrite induzida por adjuvante.

Materiais e métodos

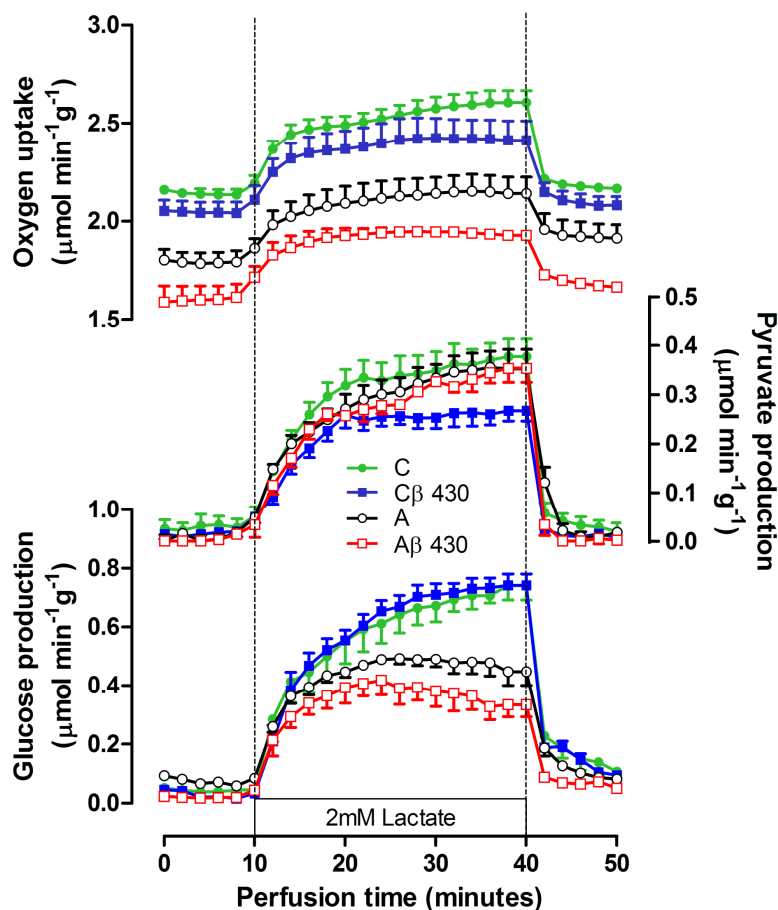
A artrite foi induzida pela injeção do adjuvante completo de Freund em uma pata traseira de ratos *Holtzman* (50 dias de idade). Ratos com a mesma idade foram os controles. Os animais foram divididos em quatro grupos: C, controles + óleo de milho; C β 430, controles + β -cariofileno 430 mg Kg⁻¹; A, artríticos + óleo de milho; A β 430, artríticos + β -cariofileno 430 mg Kg⁻¹. O tratamento foi feito por gavagem oral e o óleo de milho utilizado como controle negativo. O tratamento se iniciou cinco dias antes da indução e se estendeu por mais 18 dias. No 19º dia os animais foram eutanasiados. Este projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação - CEAE, da UEM (Parecer 4643280817).

A perfusão de fígado foi feita em um sistema não recirculante conforme já descrito (CASTRO-GHIZONI et al., 2017). Os animais em jejum de 12 h foram anestesiados com injeção intraperitoneal de tiopental (100 mg·kg⁻¹) mais lidocaína (10 mg·Kg⁻¹) e, após a canulação das veias cava e porta, o fígado foi removido e posicionado e uma câmara de perfusão. O líquido de perfusão foi o tampão Krebs/Henseleit (pH 7,4) saturado com uma mistura de oxigênio e dióxido de carbono (95:5) por meio de um oxigenador de membrana e ajuste simultâneo da temperatura (37°C). O líquido de perfusão entra no fígado pela cânula portal e o deixa pela cânula conectada à veia cava. O consumo de oxigênio foi monitorado por polarografia. Lactato 2 mM foi utilizado como substrato gliconeogênico. Amostras do perfusado efluente foram coletadas para a dosagem de glicose e piruvato.

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra o decurso temporal de produção hepática de glicose e piruvato e o consumo de oxigênio de ratos controles e artríticos. A produção basal de glicose e piruvato foram mínimas e semelhantes para todos os grupos, no entanto, o consumo de oxigênio basal foi menor em ratos artríticos. Após a introdução do lactato, todos os parâmetros foram estimulados, mas apenas a produção de glicose foi aumentada de forma diferente nos ratos controles e artríticos. A parte inferior da Figura 1 mostra o incremento de cada parâmetro devido à infusão de lactato 2 mM. O incremento da produção de glicose foi 41% menor em ratos artríticos

(comparados aos controles). O tratamento de ratos artríticos não melhorou a produção de glicose. O incremento na produção de glicose não foi diferente para controles tratados e não tratados. O incremento do consumo de oxigênio e produção de piruvato foi similar em todos os grupos.



Groups	Parameter ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)		
	Glucose production	Pyruvate production	Oxygen uptake
C	0.66 ± 0.04^a	0.33 ± 0.03^a	0.45 ± 0.06^a
C β 430	0.71 ± 0.04^a	0.27 ± 0.02^a	0.40 ± 0.05^a
A	0.39 ± 0.02^b	0.34 ± 0.04^a	0.36 ± 0.04^a
A β 430	0.34 ± 0.05^b	0.33 ± 0.01^a	0.34 ± 0.05^a

Values with different superscript letters in the same line are different ($P < 0.05$).

Figura 1. **Efeitos do β -cariofileno sobre gliconeogênese hepática de ratos controle e artríticos.** Decurso temporal da gliconeogênese (A). Os valores no estado estacionário (B) foram calculados como [valores finais aos 40 min] - [valores basais aos 10 min]. Os valores são as médias $\pm$ SEM de quatro experimentos em cada condição. Valores com diferentes letras sobrescritas na mesma coluna são diferentes ($P < 0,05$).

A menor gliconeogênese hepática a partir de lactato em ratos artríticos já foi previamente verificada (CASTRO-GHIZONI et al., 2017). O tratamento de

ratos artríticos com β -cariofileno foi praticamente sem efeito sobre a reduzida gliconeogênese em ratos artríticos. Este efeito foi verificado também na gliconeogênese de ratos artríticos tratados com óleo de copaíba. No entanto, o óleo adicionalmente reduziu a gliconeogênese no fígado de ratos controles (CASTRO-GHIZONI et al., 2017). O β -cariofileno não modificou a gliconeogênese de ratos controles, mostrando que não modificou a função hepática. De fato, os marcadores plasmáticos de lesão hepática não foram alterados pelo tratamento com β -cariofileno (resultados não mostrados), o que indica que não está associado à hepatotoxicidade.

Conclusões

O β -cariofileno não melhorou a reduzida gliconeogênese hepática em ratos artríticos, mas diferentemente do óleo de copaíba, esse parâmetro não foi modificado em ratos saudáveis. Portanto, o β -cariofileno não foi associado à hepatotoxicidade. Com isso em vista, o β -cariofileno pode ser um bom candidato para potencializar os efeitos do tratamento da artrite reumatoide ou ponto de partida para desenvolvimento de agentes anti-inflamatórios.

Agradecimentos

A Fundação Araucária pelo fomento e incentivo dados à pesquisa científica.

Referências

AMES-SIBIN, A.P.; BARIZÃO, C.L.; CASTRO-GHIZONI, C.V.; SILVA, F.M.S.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; BRACHT, L.; BERSANI-AMADO, C.A.; NATALI, M.R.M.; BRACHT, A.; COMAR, J.F. β -caryophyllene, the major constituent of copaiba oil, reduces systemic inflammation and oxidative stress in arthritic rats. **J Cell Biochem**, 2018. DOI:10.1002/jcb.27369.

CASTRO-GHIZONI, C.V.; AMES, A.P.A.; LAMEIRA, O.A.; BERSANI-AMADO, C.A.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; BRACHT, L.; NATALI, M.R.M.; PERALTA, R.M.; BRACHT, A.; COMAR, J.F. Anti-inflammatory and antioxidant actions of copaiba oil are related to liver cell modifications in arthritic rats. **J Cell Biochem**, v.118, p. 3409–3423, 2017.

COMAR, J.C.; DE SÁ-NAKANISHI, A.B.; DE 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 Rad Biol Med**, v.58, p. 144-153, 2013.

SOARES, A.A.; OLIVEIRA, A.L.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; COMAR, J.F.; RAMPAZZO, A.P.S.; VICENTINI, F.A.; NATALI, M.R.M.; COSTA, S.M.G.; BRACHT, A.; PERALTA, R.M. Effects of *Agaricus blazei* aqueous extract pretreatment on paracetamol-induced brain and liver injury in rats. **Biomed Res Int**, ID:469180, p.12, 2013.