

## **EFEITO HEPATOPROTETOR DO BETA-MIRCENO EM MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO HEPÁTICA INDUZIDA POR PARACETAMOL**

Isabela Kirach Gaio (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Francielli Maria de Souza Silva Comar (Co-orientador), Roberto Kenji Nakamura Cuman (Orientador), e-mail: rkncuman@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / Departamento de Farmacologia e Terapêutica / Maringá, PR.

**Área: Farmácia / Subárea: Análise Toxicológica**

**Palavras-chave:** Estresse oxidativo, hepatotoxicidade, beta-mirceno.

### **Resumo:**

O paracetamol (APAP) é um dos analgésicos e antipiréticos mais utilizados no mundo. Em doses elevadas, tem potencial para causar hepatotoxicidade. O  $\beta$ -mirceno é um terpeno que apresenta propriedades anti-inflamatórias. Assim, este estudo objetivou avaliar o efeito do  $\beta$ -mirceno sobre o modelo de hepatotoxicidade induzida por paracetamol. Foram analisadas as alterações funcionais hepáticas por meio de marcadores bioquímicos; da atividade da enzima mieloperoxidase; e dos níveis de proteínas carboniladas, TBARS, glutationa, lipoperóxidos e espécies reativas de oxigênio no fígado.. A hepatotoxicidade foi induzida pela administração do APAP em camundongos, os quais foram divididos em grupos: I - controle; II - induzido por APAP; e III, IV e V - pré-tratados com o  $\beta$ -mirceno em doses crescentes. Os resultados obtidos revelaram que o  $\beta$ -mirceno possui propriedades anti-inflamatórias bastante significativas no tratamento da hepatotoxicidade induzida por paracetamol (APAP) por reduzir o nível de marcadores bioquímicos, a atividade da enzima mieloperoxidase e o estresse oxidativo.

### **Introdução**

O paracetamol (APAP) é um dos analgésicos e antipiréticos de venda livre mais utilizados no mundo. É um medicamento eficaz e relativamente seguro quando administrado em doses terapêuticas. No entanto, em doses elevadas, tem o potencial para causar hepatotoxicidade, sendo a principal causa de insuficiência hepática aguda (IHA) nos Estados Unidos e possuindo incidência crescente em vários países, inclusive no Brasil (SABINA et al., 2011).

O  $\beta$ -mirceno (MYR), é um monoterpene proveniente de óleos essenciais de plantas. Apresenta diversas propriedades farmacológicas já descritas na literatura, incluindo atividade anti-inflamatória (CIFTCI et al. 2011; GAUTAM & JACHAK, 2009), . Diante do exposto acima, este estudo objetivou verificar o efeito do  $\beta$ -mirceno em modelo experimental de lesão hepática induzida por paracetamol.

## Materiais e métodos

Camundongos Balb-C foram divididos aleatoriamente em 5 grupos: I: animais que receberam por via oral, o veículo do APAP (solução salina contendo 0,1% de Tween 80); II: animais que receberam por gavagem o APAP na dose única de 250 mg/kg; III, IV e V: animais pré-tratados com o  $\beta$ -mirceno (100, 200 e 400) via oral durante 7 dias, até o dia da administração do APAP. Os animais foram eutanasiados com overdose de anestésico (xilazina/quetamina), após 8 horas da administração de APAP.

O sangue foi coletado (1,5 mL), da veia cava inferior, centrifugado e o soro foi utilizado para dosagens de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP), utilizando métodos espectrofotométricos (kits de ensaio Labtest).

A atividade da MPO foi avaliada no sobrenadante de homogenatos obtidos das secções do fígado (técnica de Bradley). O sobrenadante obtido foi adicionado em microplaca de 96 poços onde foi adicionada solução tampão contendo diidrocloreto de o-dianisidina, água bidestilada, tampão fosfato de potássio e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1%. A atividade enzimática foi determinada em leitor de microplaca com comprimento de onda de 460nm.

A partir do homogenato determinou-se conteúdo de TBARS, glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona oxidada (GSSG). O homogenato remanescente foi centrifugado (20.000g, 20min) e o sobrenadante, utilizado para determinar proteínas carboniladas e espécies reativas de oxigênio (ROS).

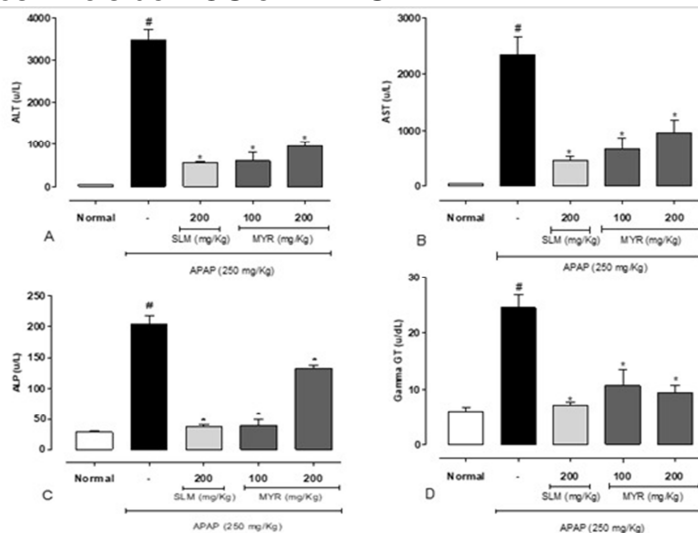
Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de ética em experimentação animal (CEUA) sob protocolo número 2534270418.

## Resultados e Discussão

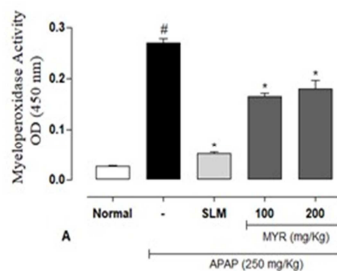
Como observado na figura 1, houve lesão hepática após a dosagem de APAP (250 mg/kg), indicado pelo aumento das enzimas hepáticas séricas. O pré-tratamento com MYR (100 e 200mg/kg) evitou significativamente alterações na ALT (82,4% e 72,3%), AST (71,4% e 59,1%), ALP (80,9% e 35,0%) e  $\gamma$ GT (55,7% e 61,4%). A MPO foi utilizada como medida indireta da infiltração de neutrófilos no tecido. Os resultados (Figura 2) mostraram que a atividade da enzima MPO aumentou após a injeção de APAP. O pré-tratamento com MYR (100 e 200 mg/kg) diminuiu significativamente a atividade da enzima MPO hepática (37% e 30%).

A Figura 3 mostra, no grupo APAP, uma redução significativa nos níveis de GSH e na proporção de GSH/GSSG e um aumento nos níveis de GSSG em comparação ao controle. Em contraste, o pré-tratamento com MYR 100 e 200 mg/Kg restaurou consideravelmente a diminuição do conteúdo de GSH induzida por APAP e reduziu expressivamente o aumento do conteúdo de GSSG no fígado (33% e 32%). O tratamento com MYR 200 mg/Kg aumentou a proporção de GSH/GSSG de forma semelhante ao controle. Os parâmetros oxidativos no fígado foram alterados após a administração APAP (figura 3). Os níveis de proteínas carboniladas, de ROS e TBARS foram

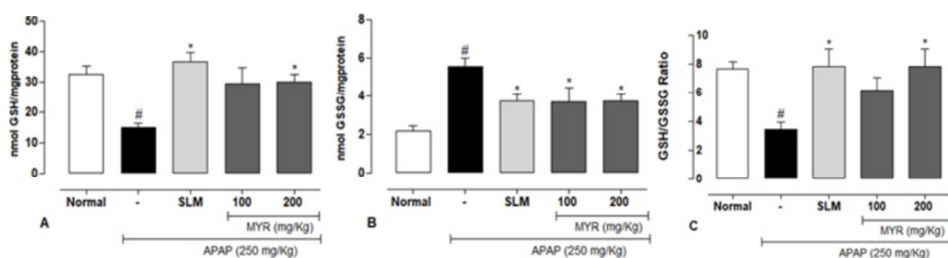
significativamente aumentados, e a atividade das enzimas SOD e CAT foram reduzidas. O pré-tratamento com MYR 100 e 200 mg/kg elevou CAT (86% e 85%) e SOD (107% e 135%), em comparação ao grupo APAP, diminuiu efetivamente os níveis de ROS e TBARS.



**Figura 1:** Efeito de  $\beta$ -mirceno (MYR) e silimarina (SLM) na alanina aminotransferase (A), aspartato aminotransferase (B), fosfatase alcalina (C) e gama-glutamil transferase (D). Os resultados são expressos como média  $\pm$  E.P.M. # ( $p < 0,01$ ) estatisticamente significativo em comparação com animais normais. \* ( $p < 0,01$ ) significativo para animais tratados com APAP.



**Figura 2:** Efeito do  $\beta$ -mirceno (MYR) sobre a atividade da mieloperoxidase. Os valores são média  $\pm$  EPM. # $p < 0,001$  versus grupos de animais normais. \* $p < 0,001$  MYR ou grupo pré-tratado com SLM versus grupo APAP.



**Figura 3:** Parâmetros bioquímicos no conteúdo de GSG e GSSH no fígado. (A) GSG, (B) GSH e (C) Razão GSH/GSSG. Os dados são representados como a média  $\pm$  S.E.M. # ( $p < 0,001$ ) estatisticamente significativo em comparação com animais normais. \* ( $p < 0,001$ ) estatisticamente significativo para animais tratados com APAP.

**Table 1.** Effects of the pretreatment with MYR on liver oxidative stress parameters.

	Normal	APAP	SLM	MYR 100mg/kg	MYR 200mg/kg
<b>TBARS</b> <u>nmol/MDA/mgprt</u>	0,79±0,01	1,40±0,1 <sup>#</sup>	0,95±0,06 <sup>*</sup>	0,96±0,02 <sup>*</sup>	0,95±0,09 <sup>*</sup>
<b>ROS</b> <u>nmol/mg</u>	0,74±0,07	1,58±0,1 <sup>#</sup>	0,80±0,05 <sup>*</sup>	1,25±0,1	1,17±0,06 <sup>*</sup>
<b>CAT</b> <u>mmol/min.mgprt</u>	1038±90	253±28,5 <sup>#</sup>	467±25,8 <sup>*</sup>	472±34,3 <sup>*</sup>	470±19,6 <sup>*</sup>
<b>SOD</b> <u>U/mgprt</u>	2,88±0,1	1,40±0,1 <sup>#</sup>	2,28±0,06	2,90±0,18 <sup>*</sup>	3,03±0,2 <sup>*</sup>

**Tabela 1:** Os resultados são expressos como média ± S.E.M. n = 8 / grupo # (p <0,001) estatisticamente significativo em comparação com animais normais. \* (p <0,001) estatisticamente significante em comparação com animais tratados com APAP. MYR: Beta-mirceno. APAP: Paracetamol. SLM: Silimarina. TBARS: Substância ácido-reativa ácido tiobarbitúrico. ROS: Espécies reativas de oxigênio. CAT: Catalase. SOD: Superóxido dismutase. U/mgprt: Unidades por mg de proteínas.

## Conclusões

Os resultados obtidos revelaram que o β-mirceno possui propriedades anti-inflamatórias bastante significativas no tratamento da hepatotoxicidade induzida por paracetamol (APAP) por reduzir o nível de marcadores bioquímicos de alterações funcionais hepáticas, a atividade da enzima mieloperoxidase, a produção de NO e o estresse oxidativo no fígado.

## Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

## Referências

CIFTCI, O.; TANYILDIZI, S.; GODEKMERDAN, A. Curcumin, myrecen and cineol modulate the percentage of lymphocyte subsets altered by 2,3,7, 8-tetracholorodibenzo p dioxins (TCDD) in rats. **Hum Exp Toxicol.**, v. 30, n. 12, p.1986–1994, 2011.

GAUTAM, R.; JACHAK, S. M. Recent developments in anti-inflammatory natural products. **Med Res Rev.**, vol. 29, p.767–820, 2009.

SABINA E. P., S. J. PRAGASAM, KUMAR S., RASOOL M. 6-gingerol, an active ingredient of ginger, protects acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, v.9, n.11, p.1264–69, 2011.