

# Efeitos do óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) na função hepática de ratos submetidos à isquemia e reperfusão normotérmica do fígado

## *Effects of andiroba (Carapa guianensis) oil on hepatic function of rats subjected to liver normothermic ischemia and reperfusion*

NATHALYA BOTELHO BRITO<sup>1</sup>; JORGE MANGABEIRA DE SOUZA JUNIOR<sup>1</sup>; LAYRA RIBEIRO SOUSA LEÃO<sup>1</sup>; MARCUS VINICIUS HENRIQUES BRITO, TCBC-PA<sup>2</sup>; AMÁLIA CÍNTIA MENESES RÊGO<sup>3</sup>; ALDO CUNHA MEDEIROS, ECBC-RN<sup>4</sup>

### R E S U M O

**Objetivo:** avaliar os efeitos do óleo da andiroba (*Carapa guianensis*) na função do fígado de ratos submetidos à isquemia/reperfusão hepática normotérmica. **Métodos:** foram utilizados 12 ratos Wistar, distribuídos em dois grupos: solução salina (n=6) e andiroba (n=6). O grupo andiroba foi tratado com óleo de andiroba (0,63ml/kg, VO) durante sete dias antes do procedimento cirúrgico. A isquemia foi induzida por oclusão da vascularização dos lobos mediano e lateral do fígado, usando *clip* vascular, nos dois grupos, por 45min, com posterior reperfusão por 60min. Analisaram-se as dosagens de AST, ALT, Gama-GT e biodistribuição hepática do fitato-Tc<sup>99m</sup>. **Resultados:** não houve diferença significativa no percentual de radioatividade/grama de tecido (%ATI/g) no lobo direito do grupo salina (17,53±2,78) quando comparado com o grupo andiroba (18,04±3,52), com p=0,461, o mesmo ocorrendo no %ATI/g do lobo esquerdo do fígado quando os dois grupos foram comparados (p=0,083). No grupo salina o %ATI/g foi significativamente mais elevado no lobo hepático direito não isquemiado (17,53±2,78), em comparação com o lobo esquerdo (5,04±0,82), que sofreu isquemia/reperfusão (p=0,002). Diferença significativa também ocorreu na comparação entre os lobos direito (18,04±3,52) e esquerdo (7,11±1,86) dos animais do grupo andiroba (p=0,004). Não houve diferença significativa nas dosagens de AST, ALT e Gama-GT comparando-se os dois grupos (p>0,05). **Conclusão:** o óleo de andiroba não contribuiu para a proteção da função hepática em modelo de lesão induzida por isquemia e reperfusão normotérmica do fígado de ratos.

**Descritores:** Fígado. Óleos vegetais. Isquemia. Reperfusão. Ratos.

### INTRODUÇÃO

A lesão por isquemia-reperfusão (I/R) do fígado envolve uma série complexa de processos que culminam na lesão hepatocelular. É consequência comum da cirurgia hepática, particularmente após hepatectomias e transplante de fígado, complicada por insuficiência microcirculatória, seguida de necrose e morte celular<sup>1</sup>. Neste contexto, especula-se que o dano oxidativo desempenha papel importante, incluindo o resultado de transplantes de órgãos. As estratégias atuais para o tratamento da lesão por I/R hepática são o tratamento preventivo<sup>2</sup> ou farmacológico<sup>3</sup>. A modulação farmacológica pode ter aplicação mais universal, mas, apesar de várias formulações terapêuticas terem sido estudadas para reduzir a mortalidade induzida pela I/R, nenhuma delas tem sido totalmente bem sucedida<sup>4,5</sup>. Desse modo, o desenvolvimento de novas estratégias para a prevenção e tratamento de lesão hepática por I/R é crítico

para a melhoria dos resultados em pacientes sob tais condições.

*Carapa guianensis* é árvore amplamente conhecida e utilizada como planta medicinal na região da Mata Amazônica. No Brasil, ela é conhecida popularmente como andiroba, carapa e carapinha<sup>6</sup>. É valorizada pela madeira e suas propriedades medicinais, sendo recomendada por programa das Nações Unidas como de grande potencial farmacêutico. Todas as partes da árvore - especialmente o óleo de suas sementes -, têm sido usadas empiricamente para fins medicinais. Comunidades tradicionais da Amazônia utilizam sabão de óleo de semente de *Carapa guianensis* para o tratamento de doenças de pele, artrite, reumatismo, infecções, feridas, contusões e como repelente de insetos<sup>7</sup>. Vários estudos demonstraram atividade anti-inflamatória, analgésica e antialérgica desse óleo<sup>8,9</sup>. Ele tem sido muito utilizado por extrativistas, índios e ribeirinhos da Amazônia também em casos de picadas de animais

Trabalho realizado na Universidade Federal do Rio Grande do Norte, em cooperação com a Universidade do Estado do Pará.

1. Alunos participantes de Programa de Iniciação Científica Universidade do Estado do Pará (UEPA) e Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN); 2. Professor Titular de Cirurgia da UEPA, Pará, Brasil; 3. Professora da Universidade Potiguar, UnP. Natal-RN, Brasil; 4. Professor Titular Chefe do Núcleo de Cirurgia Experimental – Departamento de Cirurgia da UFRN. Natal- RN, Brasil.

peçonhentos, para combater helmintos, protozoários, hepatite e outras afecções do fígado<sup>3</sup>. Sua caracterização química revelou a presença dos ácidos mirístico, palmítico, linoleico, oleico, ácido esteárico e ácidos graxos araquídicos, alguns tetranortriterpenoides como 6-alfa-acetoxi-epoxyazadiradiona, oxogedunina, gedunina, andirobina, metil angolensato<sup>10</sup>, aminas, ácidos hexacosanoico e ursólico, naringenina, escopoletina, alguns deles com propriedades antioxidantes, entre outros componentes<sup>11</sup>.

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do óleo de andiroba (*Carapa guianensis*) na função hepática de ratos submetidos à lesão induzida por I/R normotérmica do fígado.

## MÉTODOS

O presente estudo caracteriza-se como experimental e comparativo, realizado através de cooperação entre a UEPA e a UFRN, na qual o Laboratório de Cirurgia Experimental da UEPA cedeu o óleo de andiroba (certificado pela Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e os experimentos foram realizados no Núcleo de Cirurgia Experimental da UFRN. Todos os animais da presente pesquisa foram cuidados segundo a legislação nacional para viviseção animal em vigor, Lei federal 11.794.

Foram utilizados 12 ratos machos da linhagem Wistar provenientes do biotério do Centro de Ciências da Saúde da UFRN, que foram distribuídos em dois grupos de seis cada: grupo solução salina e grupo andiroba. Os animais do grupo andiroba foram tratados com óleo de andiroba (0,63ml/kg, VO) durante sete dias antes do procedimento cirúrgico, e o outro grupo com solução salina 0,63ml/Kg, VO, durante sete dias.

A anestesia foi realizada utilizando-se cetamina intramuscular 50mg/kg de peso, associada ao tiopental sódico intraperitoneal, na dose de 20mg/kg de peso. As operações ocorreram com técnica asséptica e os animais observados em gaiolas individuais com água e alimento *ad libitum*.

Em todos os ratos foi realizada laparotomia mediana de 5cm a partir do apêndice xifoide. Após exteriorizados os lobos do fígado, a isquemia hepática foi induzida por oclusão dos vasos que suprem os lobos mediano e esquerdo, usando *clip* vascular (bulldog), nos dois grupos, por 45min. Após a retirada do *clip* vascular, houve reperfusão hepática por 60min.

### Biodistribuição do fitato-Tc<sup>99m</sup>

Foi realizada para avaliar a resposta de captação radioativa hepática. Decorrido o período de I/R, 0,1ml (0,66MBq) do radiofármaco fitato-pertecnetato (fitato-Tc<sup>99m</sup>) foi injetado através da veia jugular. Após 30 minutos os animais foram mortos com superdose de anestésico

(tiopental 100mg/Kg). Amostras dos lobos esquerdo e direito do fígado foram retiradas, lavadas em solução salina 0,9% e pesadas em balança de precisão. As amostras foram colocadas separadamente em tubos de ensaio descartáveis com 8cm de altura por 1cm de diâmetro e introduzidas no contador gama automático. Os resultados foram descritos em contagem por minuto, devidamente corrigida para desintegrações por minuto. A atividade específica de cada amostra foi calculada dividindo a contagem absoluta de radioatividade em desintegrações por minuto pelo peso da amostra em gramas. O percentual de radioatividade de cada amostra de fígado por grama de tecido (%ATI/g) foi calculado dividindo-se a atividade específica pela radioatividade total injetada em cada animal.

### Dosagens laboratoriais

Amostras de sangue foram obtidas por punção cardíaca. O sangue foi centrifugado a 3000rpm por 10min e amostras de plasma foram estocadas à -40°C até análise de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama-GT. As dosagens foram realizadas com a utilização de espectrofotômetro, com Kits CEPA.

## RESULTADOS

A tabela 1 mostra, descritivamente, os resultados da biodistribuição de fitato-Tc<sup>99m</sup> encontrados nos lobos direito e esquerdo do fígado, como também os resultados dos testes para investigar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos salina (controle) e andiroba.

Observa-se que os valores da captação radioativa no lobo direito dos animais tratados com solução salina (17,53±2,78) não foram estatisticamente diferentes dos verificados nos animais do grupo andiroba (18,04±3,52), correspondendo ao p=0,461. Do mesmo modo, não houve diferença significativa nos valores do %ATI/g do lobo esquerdo do fígado quando os dois grupos foram comparados (p=0,083). Entretanto, no grupo tratado com solução salina, a captação radioativa de fitato-T<sup>99m</sup> foi significativamente mais elevada no lobo hepático não isquemiado (direito), em comparação com o lobo esquerdo, que sofreu I/R (p=0,002). Diferença significativa também ocorreu na comparação entre os lobos direito e esquerdo dos animais do grupo tratado com andiroba (p=0,004). Estes dados estão resumidos na tabela 1.

Na tabela 2 pode-se verificar que não houve diferença significativa na concentração plasmática das enzimas AST, ALT e gama-GT comparando-se os grupos solução salina e andiroba (p>0,05), indicando que o tratamento dos animais com andiroba não contribuiu para alterar as provas de função hepática.

**Tabela 1** - Resultados do percentual de atividade radioativa do fitato- $Tc^{99m}$  por grama de tecido hepático (%ATI/g) comparando os lobos direito e esquerdo, bem como os grupos solução salina e andiroba.

Lobo	%ATI/g		p <sup>(1)</sup>
	Solução salina (controle)	Andiroba	
Direito	17,53 ± 2,78	18,04 ± 3,52	0,461
Esquerdo	5,04 ± 0,82	7,11 ± 1,86	0,083
p <sup>(2)</sup>	0,002	0,004	

Média ± desvio-padrão

1. p da análise do teste t de Student para amostras independentes, comparativo entre os tratamentos.

2. p da análise do teste t de Student para amostras dependentes, comparativo entre os lobos hepáticos direito e esquerdo.

**Tabela 2** - Valores descritivos e teste estatístico referentes à análise das provas de função hepática, comparando os dois grupos estudados.

Provas Epáticas	Grupo		p <sup>(1)</sup>
	Solução salina (controle)	Andiroba	
AST (U/L)	117 ± 4,6	115,0 ± 0,77	0,066
ALT (U/L)	68,2 ± 2,8	66,4 ± 1,14	0,226
Gama GT (U/L)	2,86 ± 0,35	2,88 ± 0,17	0,90

Média ± desvio-padrão

1. p da análise do teste t de Student para amostras independentes.

## DISCUSSÃO

A *Carapa guianensis* foi recomendada por programa de desenvolvimento das Nações Unidas como espécie vegetal com grande potencial farmacêutico<sup>7</sup>. O potencial das sementes está no seu óleo, extraído de forma artesanal, que é administrado por via oral ou tópica, também utilizado pela indústria farmacêutica na formulação de cosméticos<sup>7</sup>. Pesquisas relatam o potencial antimicrobiano e anti-inflamatório do óleo da andiroba, podendo atuar como um fator adjuvante no tratamento de inflamações de vários órgãos<sup>12</sup>.

O radiofármaco fitato- $Tc^{99m}$  é usado como prova de função hepática e no diagnóstico de doenças do fígado através de exames de imagem, na dependência de sua biodistribuição<sup>7</sup>. Estudo recente mostrou que em ratos a esplenectomia provocou alteração na captação de fitato- $Tc^{99m}$  pelo fígado, coincidindo com deterioração da função hepática<sup>13</sup>.

No presente estudo foram avaliados os efeitos do óleo da andiroba na função hepática de ratos submetidos à lesão induzida por isquemia e reperfusão hepática normotérmica. O pré-tratamento dos animais com o óleo não foi suficiente para alterar a deterioração da função hepática, examinada através da captação do fitato- $Tc^{99m}$ . O efeito do óleo de andiroba apresentou-se neutro na proteção da função hepática, indicando provavelmente que, na concentração utilizada, não atuou minimizando os danos decorrentes do procedimento de I/R. Comparando-se a captação radioativa do lobo hepático esquerdo (que so-

freu isquemia) dos animais do grupo controle com os que usaram andiroba, verificou-se que houve maior captação do radiofármaco no grupo experimental do que nos tratados com solução salina, porém a diferença entre os grupos foi estatisticamente não significativa. Tal achado indicou que o óleo de andiroba não contribuiu para evitar ou reduzir a deterioração da função hepática pela I/R.

Comparando-se os lobos direito e esquerdo, foi encontrada diferença de captação estatisticamente significativa, sugerindo que o lobo isquemiado foi altamente afetado na sua capacidade de captar fitato- $Tc^{99m}$ . Alguns trabalhos têm demonstrado que o óleo de andiroba não provoca ou aumenta morbimortalidade quando aplicado na cavidade abdominal de ratos<sup>14,15</sup>, em período de até sete dias. No presente trabalho foi utilizada a via oral. Em um dos raros estudos a respeito da toxicidade aguda e subaguda do óleo de andiroba, Costa-Silva *et al.* encontraram em ratos Wistar aumento dos níveis séricos de ALT e aumento absoluto e relativo no peso de fígados dos animais tratados, podendo indicar a possibilidade de toxicidade hepática<sup>16</sup>. Em outro estudo em camundongos, foi demonstrado que a toxicidade hepática aguda do óleo de andiroba é praticamente nula, quando administrado por via oral<sup>17</sup>. No presente estudo ocorreu discreto aumento na dosagem da gama-GT após o tratamento com óleo de andiroba, mas a comparação das médias demonstrou diferença insignificante do ponto de vista estatístico. Observou-se tendência de redução da ALT e AST nos animais tratados com óleo de andiroba, porém sem significado estatístico.

Os dados obtidos permitem concluir que o tratamento com óleo de andiroba não contribuiu para a prote-

ção da função hepática em modelo de lesão induzida por isquemia e reperfusão normotérmica em fígados de ratos.

## A B S T R A C T

**Objective:** To evaluate the effects of the *Andiroba* (*carapa guianensis*) oil on liver function in rats subjected to normothermic ischemia / reperfusion injury. **Methods:** we divided 12 Wistar rats into two groups: saline ( $n = 6$ ) and *Andiroba* ( $n = 6$ ). The *Andiroba* group was treated with *Andiroba* oil (0.63 ml/kg orally) for seven days before surgery. Ischemia was induced by occlusion of the blood supply to the lateral and median lobes of the liver, using vascular clips, in both groups, for 45min, followed by reperfusion for 60 minutes later. We analyzed dosages of AST, ALT, Gamma-GT, and liver biodistribution of  $^{99m}\text{Tc}$  phytate. **Results:** There was no significant difference in the percentage of radioactivity / gram of tissue (%ATI/g) in the right lobe of the saline group ( $17.53 \pm 2.78$ ) compared with the *Andiroba* group ( $18.04 \pm 3.52$ )  $p = 0.461$ , the same occurring in the %ATI/g of the left lobe of the liver when the two groups were compared ( $p = 0.083$ ). In the saline group, the %ATI/g was significantly higher in the non-ischemic right hepatic lobe ( $17.53 \pm 2.78$ ) when compared with the left lobe ( $5.04 \pm 0.82$ ) that suffered ischemia / reperfusion ( $p = 0.002$ ). Significant differences also occurred when comparing the right ( $18.04 \pm 3.52$ ) and left ( $7.11 \pm 1.86$ ) lobes of the animals of the *Andiroba* group ( $p = 0.004$ ). There was no significant difference in dosages of AST, ALT and Gamma- GT when comparing the two groups ( $p > 0.05$ ). **Conclusion:** *Andiroba* oil did not contribute to the protection of liver function in a rat model of liver injury induced by normothermic ischemia and reperfusion.

**Key words:** Liver. Plant oils. Ischemia. Reperfusion. Rats.

## REFERÊNCIAS

- Kupiec-Weglinski JW, Busuttill RW. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation. *Transplant Proc.* 2005;37(4):1653-6.
- Banga NR, Homer-Vanniasinkam S, Graham A, Al-Mukhtar A, White SA, Prasad KR. Ischaemic preconditioning in transplantation and major resection of the liver. *Br J Surg.* 2005;92(5):528-38.
- Carrizo GJ, Wu R, Cui X, Dwivedi AJ, Simms HH, Wang P. Adrenomedullin and adrenomedullin-binding protein-1 downregulate inflammatory cytokines and attenuate tissue injury after gut ischemia-reperfusion. *Surgery.* 2007;141(2):245-53.
- Fondevila C, Busuttill RW, Kupiec-Weglinski JW. Hepatic ischemia/reperfusion injury—a fresh look. *Exp Mol Pathol.* 2003;74(2):86-93.
- Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;284(1):15-26.
- Corrêa MP. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas por Manuel Pio Corrêa, vol. 1. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional; 1984.
- Hammer MLA, Johns EA. Tapping an Amazon plethora: four medicinal plants of Marajo island, Para (Brazil). *J Ethnopharmacol.* 1993;40(1):53-75.
- Penido C, Costa KA, Pennaforte RJ, Costa MFS, Pereira JFG, Siani AC, et al. Anti-allergic effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on allergen-induced vascular permeability and hyperalgesia. *Inflamm Res.* 2005;54(7):295-303.
- Penido C, Conte FP, Chagas MSS, Rodrigues CAB, Pereira JFG, Henriques MGMO. Antiinflammatory effects of natural tetranortriterpenoids isolated from *Carapa guianensis* Aublet on zymosan-induced arthritis in mice. *Inflamm Res.* 2006; 55(11):457-64.
- Pereira JFG, Teixeira D, Mazzei JL, Gilbert B. Characterization of the chemical constituents of *Carapa guianensis* Aublet by HPLC-DAD. *Bolletino di Chimica Farmaceutico.* 1999;138(1):77-9.
- Qi S, Wu D, Zhang S, Luo X. Constituents of *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae). *Pharmazie.* 2004;59(6):488-90.
- Mendonça AP, Ferraz IDK. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. *Acta Amazônica.* 2007;37(3):353-64.
- Pereira KRSG, Açucena MKMT, Villarim-Neto A, Rêgo ACM, Bernardo-Filho M, Azevedo IM, et al. Biodistribution of the radiopharmaceutical technetium-99m-sodium phytate in rats after splenectomy. *Braz Arch Biol Technol.* 2008; 51(1): 203-7.
- Souza Junior OG, Cal RVR, Amoury Junior RRC. Efeito do óleo de andiroba em cavidade peritoneal de ratos. *Rev Para Med.* 1999;13(2):47-50.
- Teixeira RKC, Houat AP, Costa FLS. Efeito do óleo de andiroba na sobrevida de camundongos submetidos à sepse abdominal. *Rev Bras Clin Med.* 2012;10(5):407-9.
- Costa-Silva JH, Lima CR, Silva EJ, Araújo AV, Fraga MC, Ribeiro E Ribeiro A, et al. Acute and subacute toxicity of the *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) seed oil. *J Ethnopharmacol.* 2008;116(3):495-500.
- Miranda Júnior RN, Dolabela MF, da Silva MN, Póvoa MM, Maia JG. Antiplasmodial activity of the andiroba (*Carapa guianensis* Aubl., Meliaceae) oil and its limonoid-rich fraction. *J Ethnopharmacol.* 2012;142(3):679-83.

Recebido em 13/10/2012

Aceito para publicação em 10/12/2012

Conflito de interesse: nenhum.

Fonte de financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

### Como citar este artigo:

Brito NB, Souza Júnior JM, Brito MVH, Leão LRS, Rêgo ACM, Medeiros AC. Efeitos do óleo de andiroba (*carapa guianensis*) na função hepática de ratos submetidos à isquemia e reperfusão normotérmica do fígado. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2013;40(6). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

### Endereço para correspondência:

Aldo Cunha Medeiros  
E-mail: [aldo@ufrnet.br](mailto:aldo@ufrnet.br)