

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS TOXICOLÓGICOS NA REPRODUÇÃO DE RATOS WISTAR (*Rattus norvegicus*) SUBMETIDOS Á DIFERENTES PERÍODOS DE USO TÓPICO DE ÓLEO DE COPAÍBA.

**GEÓRGIA DA CRUZ TAVARES¹; STELA MARI MENEGHELLO GHELLER¹;
 CARLOS EDUARDO RANQUETAT FERREIRA¹; MÁRCIA DE OLIVEIRA
 NOBRE²; MARIANA TEIXEIRA TILLMANN²; CARINE DAHL CORCINI³**

¹ ReproPEL - Universidade Federal de Pelotas - georgiadacruz.tavares@gmail.com
stelagheller@hotmail.com c_ranquetat@hotmail.com

² Clinpet – Universidade Federal de Pelotas - mariana.teixeira.tillmann@gmail.com
marciaonobre@gmail.com

³ ReproPEL - Universidade Federal de Pelotas – corcinicd@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais desempenham um papel muito importante na medicina, pois podem fornecer fármacos menos nocivos e tóxicos quando comparados com os medicamentos convencionais, entretanto muitas das informações disponíveis não possuem comprovação científica da eficiência das propriedades terapêuticas das plantas bem como a sua toxicidade ao organismo (CAVALINI et al, 2005). Em vista disso a ANVISA vem elaborando normas para a regularização desses medicamentos de origem natural (TUROLLA E NASCIMENTO, 2006).

Uma das plantas mais utilizadas no Brasil com fins medicinais é a Copaíba em forma de óleo, extraído de árvores do gênero *Copaifera* encontradas na América Latina e África Ocidental, comercialmente pode ser encontrada em forma farmacêutica de pomadas, óleos, cápsulas e outros (MACIEL et al., 2002). A Copaíba tem sido alvo de pesquisas com modelos experimentais, para que haja uma comprovação científica eficaz de suas propriedades *in vivo* já que trata - se de um extrato natural e segundo FERREIRA; PINTO (2010) ao ser submetido à produção de fármacos, essa resina da Copaíba é misturada com outras substâncias que podem alterar a pureza do extrato ou ainda causar uma reação em diferentes pontos do organismo, contudo existem poucos que testam a toxicidade causada ao indivíduo submetido ao uso do óleo da Copaíba (SACHETTI, 2010). Em razão da ampla utilização empírica do óleo de copaíba e pela falta de conhecimento da toxicidade desta substância, este estudo objetivou avaliar os efeitos toxicológicos na reprodução de ratos wistar (*Rattus norvegicus*) submetidos ao uso tópico de óleo de Copaíba.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados como modelos experimentais machos da espécie *Rattus norvegicus* provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pelotas. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) (CEEA- Processo 7605) e os animais foram mantidos em condições de bem estar durante todo o período experimental. Foram causadas lesões na pele destes animais, os quais estavam em plano anestésico no momento do procedimento, e após receberam aplicações tópicas diárias de 0,1 mL de pomada contendo copaíba a 0,1% como tratamento. Os animais receberam o tratamento com copaíba por períodos diferentes (4, 7,14 e 21 dias), cada período corresponde a um grupo com seis animais com exceção

do de 21 dias que possuía doze, tendo a existência de um grupo controle com somente aplicação de solução fisiológica sobre a lesão. Foi realizada a eutanásia desses animais segundo o protocolo do CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais - após esse procedimento, realizava-se a remoção dos epidídimos e ductos deferentes- direito e esquerdo- dos indivíduos e fazia-se a manutenção em PBS (Phosphate-buffered saline) pré-aquecido (37°C), que se procedia a dilaceração destes no mesmo poço da placa com agulhas descartáveis, essas amostras eram mantidas sempre sobre uma placa aquecedora com temperatura de 37°C e logo em seguida era feita a análise de motilidade que foi determinada pelo percentual de células móveis identificadas no campo do microscópio, em aumento de 200x (BEARDEN e FUQUAY, 1997) com escala de motilidade 0 – 100% (CBRA, 1998). Essas amostras eram encaminhadas ao laboratório para a realização da análise de funcionalidade de mitocôndria, realizada com adição de uma sonda específica contendo iodeto de propídeo e rhodamine₁₂₃ segundo protocolo ARRUDA et al, 2005. Essa análise foi realizada em microscópio de fluorescência em objetiva de 400x. (Olympus BX 51, América INC, São Paulo – Brasil), filtro UV com excitações de 450-490 nm e emissão 520 nm. Para cada análise se considerou 200 células. A análise estatística foi realizada no software Statistix 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A falta de trabalhos que reportem os efeitos toxicológicos na reprodução pelo uso de copaíba em ratos Wistar machos dificulta a comparação dos resultados obtidos neste trabalho, contudo podemos comparar com outros extratos naturais utilizados como fitoterápicos, como relata MACIEL et al., (2002).

Tabela 1. Motilidade espermática nos diferentes tempos de exposição à copaíba e a solução fisiológica (média ± erro padrão da média).

Tempo de exposição	Tratamento	Motilidade
4 dias	Sol. Fisiológica	75,0 ± 2,5 ^A
	Copaíba 0,1%	34,8 ± 4,7 ^B
7 dias	Sol. Fisiológica	43,3 ± 5,1 ^B
	Copaíba 0,1%	41,7 ± 3,5 ^B
14 dias	Sol. Fisiológica	51,7 ± 3,1 ^A
	Copaíba 0,1%	23,3 ± 2,1 ^{BC}
21 dias	Sol. Fisiológica	35,8 ± 5,0 ^B
	Copaíba 0,1%	17,8 ± 2,1 ^C

Letras diferentes indicam diferença estatística (P<0,05) pelo teste de Turkey.

O uso tóxico de copaíba a 0,1%, por 4, 14 e 21 dias causou diminuição na motilidade espermática quando comparada ao controle (Tab.1), o que corrobora com o que CASTRO et al (2005) descreve sobre uso de plantas medicinais poder resultar na liberação de produtos tóxicos provenientes da biotransformação destas no organismo, tendo esses produtos a capacidade de atravessar a barreira testicular e atuar nas células existentes nesse tecido, levando a uma interferência na espermatogênese.

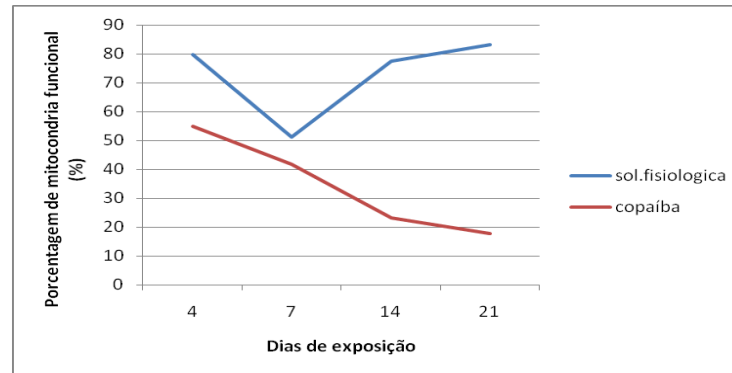


Figura 1. Porcentagem de mitocôndria funcional nos diferentes tempos de exposição comparando o tratamento com copaíba a 0,1% e o controle.

A integridade e a funcionalidade das mitocôndrias espermáticas relacionam-se positivamente com a motilidade (Rodrigues-Martinez, 2005), pois apresenta como função principal a produção do ATP celular - matriz energética para os batimentos flagelares. A funcionalidade da mitocôndria espermática dos animais que receberam tratamento com copaíba, quando comparada ao grupo controle, teve um decréscimo em todos os tempos avaliados o que confirma os resultados encontrados para motilidade espermática.

Em humanos, há inúmeras evidências da correlação entre baixa função mitocondrial espermática e diminuição de motilidade com redução de fertilidade (GRAHAM, 2001; MARCHETTI et al., 2004), logo é de extrema importância mais estudos que avaliem a toxicidade deste extrato relacionado a reprodução, para que a fertilidade tanto humana quanto animal não seja afetada quando submetidos à este tratamento, ou ainda, uma descoberta para induzir a infertilidade sem necessidade de intervenção cirúrgica.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que o uso tópico do óleo de copaíba a 0,1% causa diminuição na motilidade espermática e com mais de 4 dias de uso na funcionalidade da mitocôndria.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARRUDA R.P., CELEGHINI E.C.C., SOUZA L.W.O., NASCIMENTO J., ANDRADE A.F.C., RAPHAEL C.F., GARCIA A.R. Importância da qualidade do sêmen em programas de IATF e TETF. **1º Simpósio de Reprodução Animal**, v.33, supl.1, p.145-150, 2005.

BEARDEN, H.J.; FUQUAY, J.W. Semen evaluation. In: **applied Animal Reproduction**, 4th Ed. New Jersey: Prentice Hall, 1997, pp.159-170.

CASTRO, A.P.; MELLO, F.B.; MELLO, R.B. Avaliação toxicológica do Ginkgo biloba sobre a fertilidade e reprodução de ratos Wistar. **Acta Scientiae Veterinariae**, 33(3), 2005.

CAVALINI, M.; FOLIS, G.P.; RESENER, M.C.; ALEXANDRE, R.F.; ZANNIN, M.; SIMÕES, C.M.O. Serviço de informações sobre plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos. **Revista Eletrônica de Extensão**, n. 2, 2005.

CBRA: COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. Belo Horizonte: CBRA, 1998, 49 p.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C. A Fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 9, p. 1829, 2010.

GRAHAM, J. K. Assessment of sperm quality: a flow cytometric approach. **Animal Reproduction Science**, v.68, p.239-247, 2001.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARCHETTI, C.; JOUY, N.; LEROY-MARTIN, B.; et al. Comparison of four fluorochromes for the detection of inner mitochondrial membrane potential in human spermatozoa and their correlation with sperm motility. **Human Reproduction**, v. 19, p. 2267-2276, 2004.

Rodriguez, M. H. Methods for semen evaluation and their relationship to fertility. **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**, 16, 2005, Goiânia, GO.

SACHETTI, C.G. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.19, n.4, p. 937 – 941, 2009.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 42, n. 2, 2006.