Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl., v. 26, n. 1, p. 25-28, 2005
ISSN 1808-4532

Análise sérica das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e gama glutamiltranspeptidase de coelhos adultos tratados com extrato bruto de própolis

Oliveira, T.T.[1]; Nagem T.J.[2*]; Ribeiro, J.N.[1]

[1]*Laboratório Biofármacos. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.*
[2]*Departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto, 35400.000, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.*

Recebido 25/02/05 / Aceito 27/06/05

RESUMO

Diversos trabalhos têm atribuído a própolis inúmeras propriedades farmacológicas, dentre elas podemos citar, como exemplo, efeitos antibacteriano, antiviral, antiinflamatório, regenerador do tecido cartilaginoso, inibidor da formação de radicais livres e redutor de níveis sangüíneo de glicose e triacilglicerol. Alguns efeitos colaterais são atribuídos à própolis principalmente em doses elevadas. Muitos efeitos tóxicos da própolis são atribuídos ao álcool etílico presente no extrato.Dentre alguns efeitos tóxicos citados em literatura como realmente da própolis temos a dermatite e o aumento da uréia sangüínea. O presente estudo teve como objetivo investigar se o extrato bruto de própolis ocasiona algum efeito adverso nos níveis séricos de alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e gama – glutamiltranspeptidase de coelhos saudáveis. O experimento teve 30 dias de duração, sendo as dosagens dos constituintes do sangue (alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e gama – glutamiltranspeptidase) realizadas a 0, 15 e 30 dias. Os resultados indicaram que, de o extrato bruto de própolis na forma testadea, não ocasionou alteração relevante nos níveis séricos das enzimas marcadoras de metabolismo hepático.
Palavras-chave: Própolis, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, gama glutamiltranpeptidase, toxicologia.

ABSTRACT

Serum activities of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and gamma glutamyl transpeptidase enzymes in rabbits treated with crude extract of propolis

Various authors have attributed to propolis countless pharmacological properties, such as: antiviral, antibacterial and anti-inflammatory effects, regeneration of cartilaginous tissue, inhibition of free radical formation and reduction of blood glucose and triacylglycerol levels. Some side effects have also been attributed to propolis, especially in high doses. Many of the toxic effects of propolis have been said to result from the ethyl alcohol present in the prepared extract. Among the toxic effects described in the literature as really pertaining to the propolis, dermatitis and an increase in the blood urea level can be cited. The objective of the present study was to investigate whether the crude extract of propolis had any adverse effect on the seric levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma glutamyltranspeptidase in healthy rabbits. The total period of experimental treatment was 30 days. Seric enzymes (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma glutamyltranspeptidase) were assayed on days 0, 15 and 30 of treatment. The results indicated that, in general, the crude propolis extract did not cause significant alterations in the seric levels of these enzyme markers of hepatic metabolism.
Keywords: Propolis, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma glutamyltranspeptidase, toxicology.

INTRODUÇÃO

A própolis é uma resina coletada pelas *Apis mellifera* L, de brotos, botões, caules de árvores que se misturam a substancias de sua mandíbula, formando um cimento para a proteção da colméia (Ghisalberti, 1979).

Esses insetos empregam a própolis para muitos fins, como para reduzir as aberturas das colméias e embalsamar animais invasores mortos por abelhas operárias. As abelhas utilizam a própolis também para fins anti-sépticos (Biri, 1983; Crane, 1990)

Por centenas de anos, vários povos têm empregado a própolis para diversos fins medicinais (Ghisalberti, 1979). Hoje, isso pode ser verificado através de vários trabalhos científicos, que relatam inúmeras propriedades farmacológicas da própolis, como efeitos antibacteriano (Grange, 1990), antiviral (Amoros et al., 1992), antiprotozoário (Starziyk et al., 1997), antitumoral (Frenkel et al., 1993), antiinflamatório (Dobowoski et al., 1991; Volper & Elstner, 1996) regenerador do tecido cartilaginoso (Scheller et al., 1997) inibidor da formação de radicais livres (Scheller et al, 1989; Volper & Elstner, 1993).

Ribeiro, (2001), verificou efeito hipoglicemiante e hipertrigliceridemiante em coelhos diabéticos e coelhos saudáveis submetidos a tratamento com extrato bruto de própolis na dose de 150mg/kg por dia.

Um efeito hepatoprotetor da própolis, ou seja, a capacidade de destruição de radicais livres, também foi observado (Gonzalez et al., 1995).

A introdução de um composto para fins terapêuticos, tanto em medicina humana como veterinária, requer uma série de estudos, que têm por finalidade demonstrar não somente o lado benéfico deste material, mas também seus possíveis efeitos colaterais, ou seja, um estudo da sua toxicidade é imprescindível para que ele seja definitivamente utilizado como fármaco (Hollands et al., 1991).

Quando se faz uso da própolis em quantidades exageradas ocorrem efeitos colaterais (Hay & Greig, 1990; Machackova et al., 1985; Moanti et al., 1983; Young, 1987). A própolis contém alguns compostos que podem ocasionar algum efeito tóxico: a dermatite, que ocorre em apicultores, é bem conhecida (Gausen et al., 1987a).

Hollands et al.,(1991), realizando estudos da

**Autor correspondente:* Tanus Jorge Nagem - Depto de Química, Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Campus Morro do Cruzeiro, 35400-000, Ouro Preto, MG., Brasil E-mail: tjnagem.bh@terra.com.br, Fone: (31) 3559-1719.

toxicidade de própolis cubano em ratos, observaram alteração da uréia do soro sangüíneo dessas cobaias. Eles explicaram que os resultados que indicaram alteração na uréia sérica, seriam devidos ao álcool etílico presente no extrato de própolis que esses animais ingeriram durante três meses. No entanto, afirmaram, também, que a própolis exerceu alguma influência nos níveis de uréia no soro sangüíneo, pois havia animais que tinham sido tratados somente com água e os níveis séricos de uréia deles se apresentaram inferiores aos daqueles animais tratados somente com solução aquosa de própolis, ou seja, o nível de uréia sérica em animais tratados com extrato aquoso de própolis se apresentou menor do que naqueles tratados com extrato alcoólico, porém foi maior que dos animais tratados somente com água.

As aminotransferases (ALT e AST) catalisam a transferência reversível de uma amina de um aminoácido para um α-cetoácido. Essas enzimas, geralmente, transferem o grupo amino de vários aminoácidos para o α-cetoglutarato, para a conversão em NH_4^+ (Lehninger, 2000; Stryer, 1996).

Essas enzimas estão presentes em altas concentrações no músculo, fígado e cérebro. A elevação da atividade das aminotransferases no sangue indica necrose ou moléstia, especialmente nesses tecidos (Murray et al., 1994).

A ALT é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito, enquanto 80% da AST está presente na mitocôndria. Essa diferença tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas. Em dano hepatocelular leve a forma predominante no soro é a citoplasmática, enquanto em lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT (Motta, 2003).

O presente trabalho teve como objetivo investigar se a própolis na dose de 150mg/kg por dia, ocasiona algum efeito adverso nos níveis séricos de alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e gama glutamiltranspeptidase em coelhos normais.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho consistiu de um ensaio biológico quantitativo direto onde foram utilizados 18 coelhos saudáveis, machos, albinos da raça Nova Zelândia, com idade de dois meses.

Após a chegada, esses animais foram acondicionados em gaiolas individuais, permanecendo à temperatura ambiente por cinco dias, para adaptação, recebendo água à vontade e sendo alimentados, diariamente, com 120g de ração para coelhos da marca Linha Natural da Purina.

Após esse período os animais foram divididos ao acaso nos seguintes grupos: Grupo 1 (G1) composto por seis animais, que receberam apenas 120 g de ração diariamente e água à vontade (grupo-controle), Grupo 2 (G2) composto por seis animais, que receberam 120 g de ração, água à vontade e uma cápsula de 100 mg/kg de talco farmacêutico diariamente, Grupo 3 (G3) composto por seis animais, que receberam 120 g de ração, água à vontade e uma cápsula de 150 mg/kg de própolis diariamente.

Os exames de sangue foram realizados aos 0, 15 e 30 dias. O sangue dos animais foi retirado pelo plexo retro orbital, para serem realizadas as dosagens no soro sanguíneo das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (γ-GT). Estas dosagens foram realizadas utilizando-se o aparelho Alizé (analisador multiparamétrico de bioquímica) e "kits" da marca BIOLAB de acordo com a metodologia padrão. Procedeu-se à análise de variância e ao teste de F ($P< 0,05$ e $P< 0,01$).

Os grupos G1 e G2 foram comparados entre si pelo teste de F. O grupo G3 foi comparado entre si pelo teste de Tukey ($P< 0,05$) e com os grupos G1 e G2 por meio do teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

O efeito do tempo foi avaliado dentro dos tratamentos utilizados pelo teste F ($P< 0,05$ e $P< 0,01$).

RESULTADOS

Os resultados referentes aos níveis médio, no soro, da alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) e suas respectivas percentagens de variação encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Embora pareça que a substância teste influenciou profundamente a ALT, deve-se considerar que o grupo G3 já apresentava aumentos estatisticamente significativos, em relação o grupo G1, antes mesmo de se iniciarem os tratamentos com a própolis. Isso quer dizer que já era da natureza desse grupo essa relação de divergência.

Além disso, o grupo G3 não apresentou alterações significativas em relação ao grupo que recebeu talco farmacêutico G2.

Os resultados apresentados na Tabela 2 evidenciam que a própolis não ocasionou alterações significativas na atividade da AST, levando a crer que também não causaram danos relacionados ao aumento da atividade dessa enzima nos animais utilizados neste modelo experimental.

Os resultados referentes aos níveis médio no soro da Gama Glutamiltranspeptidase (γ–GT) e suas respectivas percentagens de variação encontram-se na Tabela 3.

Avaliando-se os dados da Tabela 3 observa-se que durante todo o ensaio que as diferenças ocorridas na atividade dessa enzima não foram consideradas estatisticamente significativas.

Os resultados aqui obtidos indicam que a substância-teste não interferiu significativamente na atividade de γ-GT.

Tabela 1 - Valores médios de ALT em UI/l percentual de variação em relação aos grupos controle, em % de coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	ALT (UI/l)	Variação (%) em relação a G1	Variação (%) em relação a G2
0	G1-ração	106,33^{A}	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	40,00^{B}	-	-
	G3-ração + própolis	34,00^{b}	-68,02*	-15,00
15	G1-ração	101,33^{A}	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	41,50^{B}	-	-
	G3-ração + própolis	33,33^{b}	-67,11	-
30	G1-ração	104,00^{A}	-	+122,10*
	G2-ração + talco farmacêutico	41,00^{B}	-	-
	G3-ração + própolis	34,33^{b}	-66,99*	-16,27

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
Em cada tempo A difere de B pelo teste F (P< 0,05).
*Estatisticamente diferente do controle pelo teste de Dunnet (P< 0,05) em cada tempo.

Tabela 2 - Valores médios de AST em UI/l percentual de variação em relação aos grupos controle, em % de coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	AST (UI/l)	Variação (%) em relação a G1	Variação (%) em relação a G2
0	G1-ração	65,50^{A}	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	81,67^{A}	-	-
	G3-ração + própolis	72,67^{a}	-	-
15	G1-ração	65,83^{A}	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	83,33^{A}	-	-
	G3-ração + própolis	73,33^{a}	+11,39	-12,00
30	G1-ração	67,33^{A}	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	82,83^{A}	-	-
	G3-ração + própolis	72,83^{a}	-6,63	+5,91

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
Em cada tempo A difere de B pelo teste F (P< 0,05).

Tabela 3 - Valores médios de γ–GT em UI/l percentual de variação em relação aos grupos controle, em % de coelhos submetidos a diferentes tratamentos e avaliados durante 30 dias.

Tempo (dias)	Grupo tratado	γ–GT (UI/l)	Variação (%) em relação a G1	Variação (%) em relação a G2
0	G1-ração	12,83^{A}	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	11,33^{A}	-	-
	G3-ração + própolis	12,33^{a}	-	-
15	G1-ração	13,33^{A}		
	G2-ração + talco farmacêutico	11,83^{A}		
	G3-ração + própolis	11,83^{a}	-11,25	0
30	G1-ração	12,67^{A}	-	-
	G2-ração + talco farmacêutico	11,17^{A}	-	-
	G3-ração + própolis	11,83^{a}	-6,63	+5,91

Em cada tempo, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).
Em cada tempo A difere de B pelo teste F (P< 0,05).

DISCUSSÃO

Segundo Ockner, (1993) a elevação dos níveis da ALT é relativamente específica da doença hepatobiliar. Apesar dos níveis de AST estarem aumentados nas doenças de outros órgãos, valores mais de 10 vezes acima do limite superior de variação normal refletem habitualmente uma patologia hepática ou biliar. Os valores das aminotransferases são úteis para monitorizar a evolução da hepatopatia parenquimal aguda ou crônica.

A γ–GT é uma indicadora sensível das doenças hepáticas. Os níveis são freqüentemente elevados nas disfunções do fígado, ocasionadas por alcoolismo. Essa enzima está presente no fígado, nos rins e no pâncreas e transfere ácido glutâmico C-terminal de um peptídio para outros peptídios ou L-aminoácidos (Murray et al., 1994).

Segundo Motta, (2003) aumento na atividade da γ–GT pode significar, entre outros, esteatose hepática (hepatites medicamentosas) ou a indução de aumento de sua atividade por determinados fámacos.

Fica claro, portanto, que a própolis testada nesse trabalho não ocasionou efeitos adversos significativos nos níveis séricos das enzimas alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e gama glutamiltranspeptidase em coelhos saudáveis.

O fato deste experimento não ter apresentado resultados significativos, do ponto de vista estatístico, pode-se deduzir pela ausência de hepatotoxicidade do extrato bruto de própolis.

Trabalhos futuros deverão ser realizados, não só prolongando o tempo bem como elevando as doses a serem utilizadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amoros, M, Sauvager F, Girre L., Cormier, M. *In vitro* antiviral activity of própolis**.** *Apidologie* 1992; 23:231-240.

Biri M, Albert JMA. *Cria moderna de las abejas : manual practico***.** Barcelona: Editorial de Vecchi, 1983. 287p.

Crane E. *Bees and beekeeping, science, practice and world resources.* New York: Cornell University Press; 1990. 614p.

Dobowolski JW, Vohora SB, Sharma K, Shah S.A, Naqvi SAH. Dandiya, P.C. Antibacterial, antifungal, antiamoebic, anti-inflammatory and antipyretic studies on propolis bee products**.** *J Ethnopharmacol* 1991;35:77-82.

Frenkel K, Wei H, Brimani R, Ye J, Zadunaisky VA, Huang M, Ferraro T, Conney AH, Grumberger D. Inhibition of tumor promoter-mediated processes in mouse skin and bovine lens by caffeic acid phenethyl ester. *Cancer Res* 1993; 53(1):255-1261.

Ghisalberti EL. Propolis: a review. *Bee World* 1979; 60:59-84.

González R, Corcho I, Remirez D, Rodríguez S, Ancheta O, Merino N, González A, Pascual C. Hepatoprotective effects of propolis extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Phytother Res* 1995; 9: 114-117.

Grange JM, Davey RW. Antibacterial properties of propolis. *J R Soc Med* 1990; 83:159-160.

Hausen BM, Wollenweber E, Senff H, Post B. Propolis allergy. I. Origin, properties, usage and literature review. *Contact Dermatitis* 1987a ; 17: 163-170.

Hay K.D, Greig DE. Propolis allergy: a cause of oral mucositis with ulceration. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 70:584-586.

Hollands I, Vidal A, Gra B, Sotolongo M. Estudio evaluativo de la toxicidad subcrônica del propóleos cubano**.** *Rev Cub Cienc Vet* 1991;22(2):91-100.

Lehninger A L. *Princípios de bioquímica*. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p.

Machackova-Todorova V, Manolova N, Gegova G. Antiviral action of some fractions isolated from propolis. *Acta Microbiol Bulg* 1985;17:79-84.

Monti M, Berti E, Carminatti G, Cusini M. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis*, 1983; 9:163.

Motta V T. *Bioquímica Clínica para o Laboratório:* princípios e interpretações. 4 ed. São Paulo: Robe, 2003. 419 p.

Murray R K, Granner D K, Mayes P A, Rodwell V W. *Harper: bioquímica.* 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994. 763p.

Ockner R K. Doenças do Fígado, da Vesícula Biliar e dos Ductos Biliares. In: Wyngaarden J B. *Tratado de Medicina Interna* .19 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1993. v.1, 1214p.

Ribeiro J N. *Efeitos de Própolis, Antocianina e Naringenina em Coelhos Normais e Diabéticos***.** [Dissertação] Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 2001.

Scheller S, Gazda G, Krol W, Czuba Z, Zajuzz A, Gabys J, Shani J. The ability of ethanolic extract of propolis to protect mice against gamma irradiation**.** *Z. Naturforsch.,* 1989; 44(c):1049-1052.

Scheller S, Szaflarski J, Tustanowski E, Nolewajka E, Stojka A. Biological properties and clinical applications of propolis. VII. Investigation of the influence of ethanol extract of propolis (EEP) on cartilaginous regeneration. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1997; 27:2138-2140.

Starzyk J, Scheller S, Szaflarski J, Moskwa M, Stojko A biological properties and chemical application of propolis. II. Studies on the antiprotozoan activity of extract of propolis. *Arzneim-Forsch/Drug Res* 1997;27(1):1198-1199.

Stryer L. *Bioquímica.* 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.1000p.

Volpert R, Elstner E F. Biochemical activity of propolis extracts II. Photodynamic activities. *Z. Naturforsch* 1993;48(c):858-862.

Volpert R, Elstner E F. Interactions of different extracts of propolis with leuckocytes enzymes. *Arznein-Forsch/Drug Res* 1996; 46: 47-51.

Young E. Sensitivity to propolis. *Contact Dermatitis* 1987;16:49-50.