

ESTUDO MORFOLÓGICO DO EFEITO SUBAGUDO DE ALTAS DOSES DO ÓLEO DE COPAÍBA EM RATOS¹

MORPHOLOGICAL STUDY OF THE SUBACUTE EFFECT OF HIGH DOSES OF COPAIBA OIL ON RAT'S¹

Nara Macedo BOTELHO², Rita de Kássia Vidigal CARVALHO³, Lia Tavares de Moura Brasil MATOS³, Suelen Costa CORRÊA³, Rodolfo Costa LOBATO⁴ e Rosângela Baía BRITO⁵.

RESUMO

Objetivo: estudo morfológico sobre efeito subagudo de altas doses do óleo de copaíba em rins, estômago e fígado de ratos. **Método:** estudo experimental, utilizando 16 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, machos, distribuídos em dois grupos de oito ratos cada. Cada animal recebeu, via gavagem, a determinada dose de óleo de copaíba - *Copaifera officinalis* - ou água destilada, durante 14 dias, conforme: Grupo copaíba (GCop): 6,0 ml/kg de copaíba e Grupo Água (GA): 6,0 ml/kg de água destilada. Após o 14^o dia, os ratos foram submetidos à anestesia inalatória e posterior laparotomia longitudinal mediana xifopúbica para retirada de seus rins, estômago e fígado. **Resultados:** o estômago dos animais do grupo GCop, foi o órgão que mais sofreu alterações, desenvolvendo ortoceratose compacta em sua mucosa e infiltrado inflamatório misto em mucosa e submucosa associado à vasocongestão; nos rins observou-se vasocongestão glomerular difusa; já o fígado não apresentou alteração microscópica alguma. **Conclusão:** Conclui-se que o uso subagudo de copaíba em altas doses provoca um processo inflamatório no estômago e faz com que haja espessamento da mucosa gástrica, além de levar a uma vasocongestão glomerular renal e não alterar a microscopia hepática.

DESCRITORES: Copaifera, Ratos, Estômago, Fígado, Rim.

INTRODUÇÃO

Dentre as diversas fontes de produtos naturais fitoterápicos do planeta, a Amazônia se destaca como a maior de todas e é a que possui um maior número de pessoas utilizando esses produtos de forma empírica.¹ Nesse cenário, destacam-se os estados do Pará e Amazonas, nos quais grande parte da população utiliza tais produtos naturais, principalmente as plantas medicinais, para o tratamento das mais diversas doenças.^{2,3}

Apesar da maioria das informações sobre o uso de plantas medicinais serem baseadas em costumes populares, um número crescente de estudos vem dar suporte a teoria de que algumas destas plantas realmente

possuem atividades farmacológicas, uma vez que a Medicina não tem se dedicado somente ao desenvolvimento de fármacos sintéticos, havendo também pesquisas para tentar isolar o princípio ativo dessas plantas.^{4,5}

Em meio às diversas plantas medicinais utilizadas como fitoterápicos, destacam-se as do gênero *Copaifera* e em especial da espécie *Copaifera officinalis*. A maioria dos trabalhos realizados sobre esta espécie está relacionada com o óleo que é exsudado do tronco destas árvores, chamado de óleo de copaíba, o qual é facilmente encontrado na região tropical da América Latina.^{4,5,6}

A população que usa esta planta como medicamento, afirma que a mesma apresenta

¹ Trabalho desenvolvido no Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará (UEPA).

² Prof^a. Dra Adjunta do Laboratório de Cirurgia Experimental da Universidade do Estado do Pará.

³ Médicas graduadas pela Universidade do Estado do Pará

⁴ Graduandos do Curso de Medicina da Universidade do Estado do Pará

⁵ Médica Patologista especializada e Prof^a Adjunta de Anatomia e Fisiologia Patológica - Universidade do Estado do Pará

ação antiinflamatória, analgésica, anestésica, cicatrizante, anti-séptica, anti-reumática e até anticancerígena, sendo que algumas dessas propriedades já foram comprovadas cientificamente.^{1,6,7,8}

Em seu uso frente às doenças inflamatórias, o óleo de copaíba demonstrou-se como potente antiinflamatório e fonte de estímulo a cicatrização de feridas.^{9,10,11,12,13} Outros trabalhos observaram efeitos antitumorais do óleo de copaíba,^{14,15} bem como algumas atividades desempenhadas pelo mesmo que ajudaram a caracterizá-lo como antimicrobiano.^{16,17}

Apesar de diversos efeitos e atividades biológicas benéficas que algumas pesquisas vêm comprovando a respeito do óleo de copaíba, alguns trabalhos vêm mostrando que em determinadas situações, o uso deste óleo não teve resultado benéfico significativo ou até mesmo foram observados resultados piores nos grupos em que foi utilizado copaíba.^{2,7}

Dentre estes trabalhos se inclui a pesquisa de Brito, Figueiredo e Tavares (2006)⁷, em que a utilização do óleo de copaíba não reduziu o processo de miosite induzida em ratos. Já Westphal e col. (2007)² concluíram que a copaíba é irritante para pleura e parênquima pulmonar, causando alterações morfológicas neste órgão e alterando a função respiratória dos animais.

Outros trabalhos também foram desenvolvidos buscando avaliar o efeito do óleo de copaíba em alguns outros órgãos dos animais. Brito e col. (2000)¹⁸ demonstraram que baixas doses do óleo de copaíba em fígados de ratos promove uma leve congestão vascular, tendo, no entanto, uma ação dose dependente.

Já outra pesquisa comprovou que pequenas doses de copaíba alteram as pregas da mucosa gástrica, possuindo assim um efeito gastoplégico¹⁹, enquanto Souza Jr. e col. (2002)²⁰ desenvolveram pesquisa evidenciando que este mesmo óleo, em baixas doses, leva a formação de aderências e abscesso na cavidade abdominal de ratos além de ser irritativo para o peritônio quando administrado por gavagem de forma subaguda.

Logo, ao avaliar a grande eficácia do óleo de copaíba frente às diversas doenças,

traça-se também um perfil de seus efeitos maléficos sobre determinados órgãos-alvo, como fígado, pulmões e rins. No entanto, a grande maioria dos trabalhos utilizou doses baixas de óleo de copaíba e por curto período de tratamento. Assim, é necessário avaliar quais alterações morfológicas podem ocorrer após o uso subagudo e em altas doses desse óleo, uma vez que é dessa forma que a população utiliza esse fitoterápico.

OBJETIVO

Estudo morfológico do efeito subagudo de altas doses do óleo de copaíba em rins, estômago e fígado de ratos.

MÉTODO

• Ética e Lei

Os animais desta pesquisa foram cuidados segundo a legislação nacional para viviseção animal em vigor (Lei federal 6.638 de 08 de maio de 1979) e as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Trabalho aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Pará (UEPA).

• Amostra

Foram utilizados 16 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), da linhagem *Wistar*, machos, adultos, pesando de 250 a 300 g, provenientes do biotério do Instituto Evandro Chagas - IEC (Belém-Pará), adaptados ao biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental - LCE (UEPA) por um período de 15 dias antes do início do estudo. Durante o período do experimento, os ratos foram mantidos em ambiente controlado (ciclo claro/escuro, de 12 horas cada, com iluminação de 50 lux, temperatura ambiente de 22°C, ruídos de no máximo 40 dB e umidade do ar de 55% ur – umidade relativa) com alimentação e água fornecidas *ad libitum*.

• Material vegetal

O óleo de copaíba utilizado foi da espécie *Copaifera officinalis*, sendo seu fornecimento e análise físico-química realizados pela empresa Beraca/Brasmazon – Indústria de Oleaginosas e Produtos da Amazônia (PA).

• Grupos

Para o experimento, os ratos foram distribuídos, randomicamente, em dois grupos de oito ratos cada. Cada grupo recebeu por gavagem uma dose diária de água ou óleo de copaíba por 14 dias, conforme o esquema a seguir:

- Grupo copaíba (GCop): 6,0 ml/kg de óleo de copaíba
- Grupo Água (GA): 6,0 ml/kg de água destilada.

- **Procedimentos**

- Administração do óleo de copaíba

Nesta pesquisa, foi considerada como uso agudo do óleo de copaíba sua administração até 7 dias e uso subagudo sua administração por 14 dias.

Foi administrado óleo de copaíba e água destilada durante 14 dias, via gavagem, de acordo com as doses de cada grupo citadas acima.

- Extração dos órgãos

Logo após o 14º dia, os ratos foram submetidos à anestesia por inalação de éter etílico, utilizando vaporizador artesanal. Posteriormente, foi realizada laparotomia longitudinal mediana xifopúbica e exposição da cavidade abdominal. Após a exposição da cavidade, utilizando-se instrumentais e materiais cirúrgicos adequados, foi realizada ligadura dos vasos e retirada dos órgãos a serem estudados: rins, estômago e fígado. Após a retirada dos órgãos, a eutanásia foi realizada por meio de anestésico inalatório (éter etílico).

A seguir, os órgãos foram cortados em fatias de 0,5 cm e mantidos em recipientes contendo Formol® tamponado a 10% e fechados hermeticamente por um período de 5 dias até serem enviadas ao processamento histológico. As lâminas foram coradas pela Hematoxilina-eosina (HE) e a leitura das mesmas foi realizada por médica patologista especializada utilizando microscópio óptico NIKON-YS2-T®.

- Histopatologia

Na análise histopatológica foram observados determinados parâmetros que serviram de comparação entre os grupos GCop e GA, podendo haver assim avaliação do efeito do óleo de copaíba nos órgãos

estudados. Foram adotados os seguintes critérios para todos os órgãos:

- Edema: ausência ou presença
- Infiltrado inflamatório: ausência ou presença: classificação → Mononuclear, Polimorfonuclear ou Misto.
- Tecido de granulação: ausência ou presença
- Fibrose: ausência ou presença
- Necrose: ausência ou presença
- Outras alterações: ausência ou presença; especificar.

- **Avaliação estatística**

Os resultados obtidos foram analisados de acordo com sua ocorrência e frequência e expostos na forma de tabelas descritivas.

RESULTADOS

Estudo morfológico:

No estudo microscópico dos órgãos dos animais observou-se:

GA: ausência de alterações gástricas, renais ou hepáticas

GCop: alterações gástricas como: Ortoceratose Compacta, Infiltrado inflamatório misto mucoso e submucoso, vasocongestão submucosa. Alterações renais como: vasocongestão glomerular difusa. Ausência de alterações hepáticas.

DISCUSSÃO

A histopatologia dos órgãos estudados buscou identificar qualquer alteração que divergisse do padrão histológico desses órgãos, respeitando os critérios adotados na metodologia do trabalho.

Na análise histopatológica do estômago dos animais, foi evidenciado que todos os 8 animais do grupo copaíba (GCop) apresentaram alterações histológicas importantes quando comparados ao grupo água (GA).

Dentre estas alterações, destaca-se o desenvolvimento de ortoceratose compacta na mucosa gástrica dos animais, evidenciando um crescimento intenso e anormal de queratina acima da mucosa gástrica. Também foi observado um infiltrado inflamatório misto (mononuclear e polimorfonuclear) mucoso e submucoso com predominância de eosinófilos e acompanhado de vasocongestão submucosa.

Brito e col. (2001)¹⁹ e Souza Júnior e col. (2002)²⁰ analisaram o estômago de ratos após administração do óleo de copaíba via gavagem e também concluíram que o mesmo provoca alterações gástricas, levando a diminuição das pregas gástricas e conseqüente efeito gastroléxico. Entretanto, não é possível fazer análises comparativas mais precisas entre esse trabalho e estas pesquisas, uma vez que as mesmas analisaram os órgãos apenas macroscopicamente e utilizaram uma dose de óleo de copaíba inferior (0,06 e 0,63 ml/Kg) e por um período de tempo menor.

Em pesquisa de Brito e col. (2000)²¹ foi utilizado óleo de copaíba por via tópica em colo uterino de ratas na dose de 0,3 ml/Kg e administração por 14 dias. Os autores concluíram resultado semelhante aos da presente pesquisa, observando espessamento do epitélio do colo uterino, que se mostrou pavimentoso estratificado queratinizado, e infiltrado inflamatório mononuclear acompanhado de vaso congestão da mucosa da cérvix uterina, resultados estes que também estiveram presentes na mucosa e submucosa gástrica (ortoceratose compacta, infiltrado inflamatório mucoso e submucoso e vasocongestão submucosa)

Outros estudos realizados por Brito e col. (1998, 1995, 1999)^{10, 22, 23} avaliando os efeitos do óleo de copaíba na cicatrização de feridas abertas comprovaram que este fitoterápico induziu vasodilatação local e aumento do número de vasos sanguíneos e do tecido de granulação, sendo que a maioria desses efeitos também foi observada no presente estudo. Além disso, o óleo de copaíba promoveu o aumento do tamanho das crostas das lesões com aumento da queratina, o que também se observou no estômago quando este desenvolveu ortoceratose compacta. Os autores acreditam que esse aumento da camada de queratina seja uma resposta orgânica de defesa do organismo contra possíveis efeitos corrosivos do óleo de copaíba.

Em relação à análise histopatológica dos rins dos animais, em todos os 8 ratos do grupo GCop foi encontrado vasocongestão glomerular difusa, sendo que tal aspecto não estava presente no grupo água (GA).

Não foram encontrados na literatura outros estudos que tenham objetivado avaliar o uso do óleo de copaíba e seu efeito na morfologia microscópica de rins de ratos. No entanto, pesquisas desenvolvidas por Brito e col. (2001e 2005)^{24, 25} avaliaram a função renal de ratos submetidos ao uso subagudo de 0,63 ml/Kg de óleo de copaíba e agudo após isquemia e reperfusão renal. Em um destes estudos²⁴ observou-se que a função renal não se altera após o uso subagudo do óleo de copaíba em baixas doses. Já em outro trabalho²⁵, os pesquisadores observaram uma melhora da função renal nos grupos em que se administrou óleo de copaíba.

Esses achados não corroboram com o que foi encontrado no presente trabalho, já que os rins dos animais estudados apresentaram vasocongestão glomerular difusa, fato que pode alterar patologicamente a função renal; entretanto, as dosagens de uréia e creatinina não foram realizadas na presente pesquisa.

No que diz respeito à avaliação hepática microscópica, o fígados dos animais do grupo GCop, submetidos a administração do óleo de copaíba, não apresentaram qualquer alteração que variasse do padrão de normalidade apresentado pelos animais do grupo água (GA), sendo excluída qualquer possibilidade de alteração patológica (infiltrado inflamatório, vasocongestão, fibrose, necrose e outros).

Corroborando com o que foi encontrado, estudo de Brito e col. (2000)¹⁸ não observou nenhuma alteração hepatocitária após o uso do óleo de copaíba, apesar do mesmo ter sido utilizado em dose de 0,63 ml/Kg, a qual está bem abaixo da dose utilizada no estudo atual.

Outros estudos experimentais^{26,27,28,29} também provaram que o óleo de copaíba em determinadas doses, como 0,06 e 0,63 ml/Kg, não altera as enzimas hepáticas AST e ALT, sendo mais uma evidência de que não há ação inflamatória no fígado por parte do óleo de copaíba, seja este utilizado de forma aguda (7 dias) ou subaguda (14 dias).

CONCLUSÃO

O óleo de copaíba, em dose de 6,0 ml/Kg administrado por gavagem em ratos, num período subagudo de 14 dias, altera a microscopia gástrica dos mesmos, levando a ortoceratose compacta, infiltrado inflamatório misto mucoso e submucoso com

predominância de eosinófilos e acompanhado de vasocongestão submucosa; altera a microscopia renal causando vasodilatação glomerular difusa e não altera a microscopia hepática.

SUMMARY

MORPHOLOGICAL STUDY THE SUBACUTE EFFECT OF HIGH DOSES OF COPAIBA OIL ON RAT'S

Nara Macedo Botelho, Rita de Kássia Vidigal CARVALHO, Lia Tavares de Moura Brasil MATOS, Suelen Costa CORRÊA, Rodolfo Costa LOBATO, e Rosângela Baía BRITO.

Objective: to evaluate morphologically the subacute effect of high doses of copaiba oil in rat's kidneys, stomach and liver. **Method:** 16 Wistar male rats (*Rattus norvegicus albinus*) were used, distributed in two groups of eight rats each. Each group received, by way of gavage, a quantity of the adopted substance, during 14 days, according to the following division: Copaiba Group (CopG): 6.0 ml/kg of copaiba oil and Water group – Standard group – (SG): 6.0 ml/kg of distilled water. After the 14th day, the rats were submitted to inhalatory anesthesia followed by a longitudinal midline laparotomy, which aimed to take out the rat's kidneys, stomach and liver and send them to microscopical analyze. **Results:** Rat's stomachs were the organs which suffered most of the alterations, showing compact orthokeratosis, mucosal and submucosal *polimorfonuclear and mononuclear infiltrate and* submucosal vascular congestion; in the kidneys were observed extense glomerular vascular congestion; and the livers didn't show any microscopic alterations. **Conclusions:** It was concluded that the subacute use of copaiba oil in high doses promotes relevant pathological alterations on rat's kidneys and stomach, but does not alter microscopically the hepatic structure.

KEYWORDS: Copaifera, Rats, Stomach, Liver, Kidney.

REFERÊNCIAS

1. Veiga Júnior, VF; Maciel, MAM. Plantas medicinais: cura segura? Química Nova. 2005; 28(3): 519-28.
2. Westphal, FL; de Lima, LC; Guimarães, RA; de Souza, RFS; do Couto, SB; Nakajima, SR. Avaliação das alterações pleuropulmonares após a injeção de óleo de resina de copaíba, extrato aquoso de cajuru e polivinilpirrolidona iodado (PVPI) na pleura e parênquima pulmonar de ratos. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões. 2007; 34(3): 170-6.
3. Gomes, NM; Rezende, CM; Fontes, SP; Matheus, ME; Fernandes, PD. Antinociceptive activity of amazonian Copaiba oils. Journal of Ethnopharmacology. 2007. 109(3): 486-92.
4. Echard, BW; Talpur, NA; Fan, AY; Bagchi, D; Preuss, HG. Hepatoprotective ability of a novel botanical formulation on mild liver injury in rats produced by acute acetaminophen and/or alcohol ingestion. Res Commun Mol Pathol Pharmacol. 2001;110(1-2):73-85.
5. Souza Júnior, OG; Damous, SHB; Lamarão, LG. Revisão crítica do uso médico do óleo de copaíba. Rev Para Med. 2000; 14(1):71-6.
6. Veiga Júnior, VF; Andrade Jr, MA; Ferraz, IDK; Christo, HB; Pinto, AC. Constituintes das sementes de *Copaifera officinalis* L. Acta Amazônica. 2007; 37(1): 123-6.
7. Brito, MVH; Figueiredo, RC; Tavares, MLC; Silveira, TS; Cantanhêde, Gabriel. Efeito dos óleos de andiroba e copaíba na miosite induzida em ratos. Rev Para Med. 2006; 20(2):17-24.
8. Francisco, SG. Uso do óleo de resina de copaíba (*Copaifera Officinalis* L) em inflamação ginecológica. Femina. 2005; 33(2): 89-93.

9. Basile, AC; Sertié, JÁ; Freitas, PC; Zanini, AC. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. *Journal of Ethnopharmacology*. 1988; 22(1): 101-9.
10. Brito, NMB; Simões, MJ; Pessoa, AF; Melo, MCF. Efeitos do óleo de copaíba na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos. *Revista Paraense de Medicina*. 1998; 12(1): 28-32.
11. Pennaforte, RJ. Estudo da atividade antiinflamatória de duas espécies de plantas amazônicas. Dissertação de Mestrado. Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. 2003; 70pp.
12. Veiga Júnior, VF; Rosas, EC; Carvalho, MV; Henriques, MG; Pinto, AC. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne: a comparative study. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007; 112(2): 248-54.
13. Paiva, LAF; Gurgel, LA; De Sousa, ET; Silveira, ER; Silva, RM; Santos, FA et al. Protective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin against acetic acid-induced colitis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 93(1): 51-6.
14. Lima, SR; Junior, VF; Christo, HB; Pinto, AC; Fernandes, PD. In vivo and in vitro studies on the anticancer activity of *Copaifera multijuga* Hayne and its fractions. *Phytotherapy Research*. 2003; 17(9): 1048-53.
15. Desmarchelier, CJ; Bustamante, JM; Gil, RR; Coussio, JD; Ciccía, GN; Silva, GL. Profisetinidin type tannins responsible for antioxidant activity in *Copaifera reticulata*. *Pharmazie*. 2001; 56: 573-7.
16. Cotoras, M; Folch, C; Mendoza, L. Characterization of the antifungal activity on *Botrytis cinerea* of the natural diterpenoids kaurenoic acid and 3-beta-hydroxy-kaurenoic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004; 52: 2821-6.
17. Santos, AO; Ueda-Nakamura, T; Dias Filho, BP; Veiga Junior, VF; Pinto, AC; Nakamura, CV. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008; 103(3): 277-281.
18. Brito, MVH; Oliveira, RVB; Silveira, EL; dos Reis, JMC; Noguchi, A; Epaminondas, WA; Moraes, MR. Aspectos microscópicos do fígado de ratos após administração do óleo de copaíba. *Acta Cir. Bras*. 2000; 15(2).
19. Brito, MVH; Oliveira, RVB; Moraes, MR; Miranda, JS; Reis, JMC. Stomach analysis after the administration of copaiba oil: experimental study in rats. *Gastroenterol. Endosc. Dig*. 2001; 20(3):78-82.
20. Souza Júnior, OG; Guimarães Neto, HP; Pinto, NT; Santos, MT; Carvalho, RA. Macroscopic findings in peritoneal cavity of rats after injection of copaiba oil. *Rev. Para. Med*. 2002; 16(1):14-8.
21. Brito, NMB; Kulay-Júnior, L; Simões, MJ; Lameira, AO; Lamarão, LG; Damos, SHB. Aspectos morfológicos e morfométricos do colo uterino de ratas ooforectomizadas após aplicação de óleo de copaíba. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*. 2000; 22(8): 489-93.
22. Brito, NB. Aspectos morfológicos e morfométricos da cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos tratados com óleo de copaíba [Tese Mestrado]. Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina; 1995.
23. Brito, NMB; Simões, MJ; Gomes, PO; Pessoa, AF; Melo, MCF. Aspectos microscópicos da cicatrização de feridas cutâneas abertas tratadas com óleo de copaíba em ratos. *Rev. Para. Med*. 1999; 13(1):12-7.
24. Brito, MVH; Tavares, MLB; Moura, LGS; Lima, JT. 2001. Efeito do óleo de copaíba na função renal de ratos. *Revista Paraense de Medicina*, 15: 28-32.
25. Brito, MVH; Moreira, RJ; Tavares, MLC; Carballo, MCS; Carneiro, TX; Santos, AAS. Efeito do óleo de copaíba nos níveis séricos de uréia e creatinina em ratos submetidos à síndrome de isquemia e reperfusão renal. *Acta Cir. Bras*. 2005; 20(3): 243-6.
26. Noguchi, A; Brito, MVH; dos Reis, JMC; Dias, CS; Epaminondas, WA; Azevedo, PSR. Níveis séricos de aminotransferases, bilirrubinas e gama-glutamil transpeptidase após a administração de óleo de copaíba em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2002; 17(2): 130-4.
27. Brito, MVH; Maneschy, RB; Albuquerque, BCM; Braz, MN; Rocha Neto, OG; Araújo Júnior, FA. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática. *Revista Paraense de Medicina*. 2004; 18(3):23-8.
28. Araújo, JFA; Braz, MN; Rocha Neto, OG; Costa, FD; Brito, MVH. Efeito do óleo de copaíba nas aminotransferases de ratos submetidos à isquemia e reperfusão hepática com e sem pré-condicionamento isquêmico. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2005; 20(1): 93-9.

29. Brito, MVH; Vasconcelos, DM; Costa, FD; Tavares, MLC; Muto, NS; Dolabela, MF; Teixeira, RR. Avaliação da Toxicidade Aguda do óleo de copaíba em ratos. In: XII Congresso Médico-Amazonico, 2004, Belém. Revista Pará-Médico. Volume 8 (1) Mar/2004.
Recebido em 20.10.2010 – Aprovado em 05.10.2011

Recebido em 20.10.2010 – Aprovado em 05.10.2011