



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UM ADOÇANTE COMERCIAL COM SUCRALOSE NA
MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUÍNEOS COM TECNÉCIO-99M, NA
MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS E NA BIODISPONIBILIDADE DOS
RADIOFÁRMACOS PERTECNETATO DE SÓDIO E ÁCIDO
DIETILENOTRIAMINOPENTACÉTICO-TECNÉCIO-99M EM RATOS WISTAR

GABRIELLE DE SOUZA ROCHA

Natal / RN
2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UM ADOÇANTE COMERCIAL COM SUCRALOSE NA
MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUÍNEOS COM TECNÉCIO-99M, NA
MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS E NA BIODISPONIBILIDADE DOS
RADIOFÁRMACOS PERTECNETATO DE SÓDIO E ÁCIDO
DIETILENOTRIAMINOPENTACÉTICO-TECNÉCIO-99M EM RATOS WISTAR

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em ciências da saúde, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor

GABRIELLE DE SOUZA ROCHA

ORIENTADOR: PROF. DR. MARIO BERNARDO FILHO

Natal / RN
2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Professora Doutora Técia Maria de Oliveira Maranhão

Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Natal / RN

2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÉNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÉNCIAS DA SAÚDE

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UM ADOÇANTE COMERCIAL COM SUCRALOSE NA
MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUÍNEOS COM TECNÉCIO-99M, NA
MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS E NA BIODISPONIBILIDADE DOS
RADIOFÁRMACOS PERTECNETATO DE SÓDIO E ÁCIDO
DIETILENOTRIAMINOPENTACÉTICO-TECNÉCIO-99M EM RATOS *WISTAR*

Banca Examinadora:

Presidente da Banca: Prof. Dr. Mario Bernardo Filho

Membros da Banca:

Profa. Dra. Maria Goretti Freire de Carvalho

Profa. Dra. Patrícia Froes Meyer

Profa. Dra. Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda

Prof. Dr. Aldo da Cunha Medeiros

Natal / RN

2010

R672a Rocha, Gabrielle de Souza.

Avaliação do efeito de um adoçante comercial com sucralose na marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m, na morfologia das hemácias e na biodisponibilidade dos radiofármacos pertechnetato de sódio e ácido dietilenotriaminopentacético-tecnécio-99m em ratos *Wistar*. / Gabrielle de Souza Rocha – Rio Grande do Norte, 2010.

80 f.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010.

Orientador: Prof. Dr. Mario Bernardo Filho

1. Tecnécio ^{99m}Tc / uso diagnóstico.
2. Compostos Radiofarmacêuticos / uso diagnóstico.
- I. Título.

CDD 540

DEDICATÓRIA

“Porque Dele, por Ele e para Ele, são todas as coisas...” Rm 11:36.

A minha mãe Léa e irmãos Cao Cao Si, Pinkerton e Charles. Amo vocês!
Ao meu querido e amado namorado Hélio Mesquita
Ao meu pai Antônio Carlos (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu guia, que me mostrou que o deserto é grande, mas termina.

Ao Professor Dr. Mario Bernardo Filho por todo seu esforço, dedicação e paciência. Agradeço pelos momentos de aprendizado e por sua capacidade em conduzir seus alunos no caminho da busca do conhecimento e da excelência, forjando o caráter do cientista.

Ao querido amigo e Professor Dr. Adenilson de Souza da Fonseca pela ajuda nos momentos difíceis, pelo incentivo e pelo exemplo, além da amizade e do carinho, toda minha admiração e respeito.

A querida amiga Márcia de Oliveira Pereira com quem pude compartilhar momentos muito bons e também de medo e frustração. A ajuda na bancada, nos congressos, nos artigos e na própria tese, além dos momentos de amizade e desabafo.

Ao meu namorado por entender meus momentos de ansiedade, minhas ausências e sempre ter tido fé e confiança de que tudo daria certo.

Agradeço em especial a minha família que sempre acreditou em mim.

A minha amiga e líder Denise Rocha, exemplo de pessoa e profissional. Obrigada pelas orações e pelos momentos de crescimento frente a tantas situações diferentes para mim.

Aos meus pastores Ricardo e Roberta Leão pela ajuda em todos os momentos e pelas orações constantes.

Aos amigos e companheiros de pesquisa: Mônica Benarroz, Jacques Natan, Vanessa Rocha, Camila Godinho, Rosane Neves, Bernardo Rebello, Angélica Garcia-Pinto, Mônica Benarroz, Cristiano Viana, Cláudia Leite, Fernanda Carmo, Danielle Almeida e também ao Prof. Dr. Sebastião David Santos-Filho e Prof. Dr. Mário José dos Santos Pereira.

Aos meus alunos que sempre serviram de incentivo para mim.

Ao Serviço de Medicina Nuclear e ao Laboratório de Endocrinologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto / UERJ pelo suporte aos resultados obtidos.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Ao auxílio dado pelo CAPES, FAPERJ e CNPq.

A todos que direta ou indiretamente possibilitaram a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	v
AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO	vii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	viii
RESUMO	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 Sucralose	4
2.2 Medicina nuclear, tecnécio-99m e suas aplicações em saúde	5
2.3 Marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m	6
2.4 Morfologia das hemácias	7
2.5 Biodistribuição do radiofármaco pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) e ácido dietilenotriaminopentacético marcado com tecnécio-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$)	7
3 ARTIGOS	9
3.1 Artigo publicado	9
3.2 Artigo aceito para publicação	15
3.3 Artigo submetido	39
4 COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E CONCLUSÕES	65
5 APÊNDICE	72
5.1 Trabalhos apresentados em congressos	72
6 REFERÊNCIAS	82
ABSTRACT	92

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Ácido Dietilenotriaminopentacético Marcado com Tecnécio-99m	^{99m} Tc-DTPA
Cloreto de Sódio	NaCl
Cloreto Estanoso	SnCl ₂
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico	CNPq
Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	CAPES
Doenças Crônicas Não Transmissíveis	DCNT
<i>Food and Drug Administration</i>	FDA
Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro	FAPERJ
Grama	g
Hora	h
Hospital Universitário Pedro Ernesto	HUPE
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes	IBRAG
Instituição de Ensino Superior	IES
Íon Estanoso	Sn ²⁺
Laboratório de Radiofarmácia Experimental	LRE
Megabequerel	MBq
Molibdênio-99	⁹⁹ Mo
Pertecnetato de Sódio	Na ^{99m} TcO ₄
Porcentagem de Radioatividade Incorporada	%ATI
<i>Positron Emission Tomography</i>	PET
Pós-graduação	PG
Quiloelectronvolt	keV
<i>Single Photon Emission Computed Tomography</i>	SPECT
Tecnécio-99m	^{99m} Tc
Universidade do Estado do Rio de Janeiro	UERJ
Universidade Federal do Rio Grande do Norte	UFRN

RESUMO

Células e moléculas são marcadas com tecnécio-99m (^{99m}Tc) e usadas na obtenção de imagens em medicina nuclear. Produtos naturais e sintéticos podem interferir na marcação de constituintes sanguíneos com ^{99m}Tc . A sucralose é um adoçante utilizado em alimentos e bebidas, sendo indicado para indivíduos com dietas de restrição calórica como obesos e diabéticos. O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito do adoçante comercial com sucralose: (i) na marcação de constituintes sanguíneos com ^{99m}Tc ; (ii) na morfologia das hemárias e (iii) na biodistribuição dos radiofármacos pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) e ácido dietilenotriaminopentacético marcado com ^{99m}Tc ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$) em ratos *Wistar*. No estudo *in vitro*, amostras de sangue de animais foram isoladas e incubadas com diferentes concentrações da solução de sucralose ou solução de NaCl 0,9% (controle). No tratamento *in vivo*, animais foram tratados com sucralose em diferentes doses ou solução de NaCl 0,9% (controle) e em diferentes tempos. Amostras de sangue foram isoladas e a marcação de constituintes sanguíneos com ^{99m}Tc foi realizada. Plasma e células foram isolados por centrifugação. Frações solúvel e insolúvel de plasma e células sanguíneas também foram separadas utilizando-se ácido tricloroacético a 5% e centrifugação. A radioatividade em cada fração foi contada e a porcentagem de radioatividade incorporada (%ATI) foi calculada. Distensões sanguíneas foram preparadas, fixadas, coradas e a morfologia das hemárias foi avaliada em microscopia óptica. Para os estudos de biodistribuição, os animais foram tratados com sucralose em diferentes doses e em diferentes tempos (1h e 8 dias). Como controle animais foram tratados com solução de NaCl 0,9%. Após o tratamento, os animais foram anestesiados, realizada a administração do radiofármaco via plexo ocular. Depois de 10 minutos, os animais foram sacrificados, os órgãos e tecidos foram isolados, pesados e feita a contagem

do percentual de atividade administrada que foi incorporada por grama de tecido (%ATI/g). Nos experimentos de marcação de constituintes sanguíneos com ^{99m}Tc nos estudos *in vitro* e *in vivo*, a sucralose não alterou a %ATI nos compartimentos plasmático e celular, e não alterou a fixação do ^{99m}Tc nas frações solúveis e insolúveis do plasma e da célula ($p>0,05\%$). Não houve alteração significativa na morfologia das hemácias ($p>0,05\%$). Os resultados obtidos na biodistribuição do radiofármaco pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) mostrou aumento significativo ($p<0,05$) na captação deste radiofármaco nos rins no estudo agudo (1h). No estudo crônico (8 dias), não houve alteração na captação do $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ ($p>0,05\%$). Os resultados do estudo agudo (1h) com o radiofármaco $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ mostrou alteração significativa ($p<0,05\%$) na captação deste radiofármaco nos seguintes órgãos: tireóide, estômago, pâncreas, músculo e baço. Considerando-se estes resultados, sugere-se que o uso da sucralose poderia interferir com procedimentos de medicina nuclear relacionados à biodistribuição de radiofármacos, mas não poderia interferir em procedimentos relacionados com a marcação de constituintes sanguíneos e morfologia das hemácias. O estudo teve caráter multidisciplinar com a participação das seguintes áreas de conhecimento: Radiobiologia, Físico-química, Endocrinologia, Morfologia, Hematologia e Nutrição.

Palavras-chaves: ácido dietilenotriaminopentacético, adoçante, biodistribuição, constituintes sanguíneos, morfologia, pertecnetato de sódio, radiomarcação, ratos *Wistar*.

1 INTRODUÇÃO

A prevalência de doenças crônicas não-transmissíveis (DCNT) está aumentando no mundo e de forma alarmante, sendo considerada como um importante problema de saúde pública ^(1,2). Estudos epidemiológicos tem relatado um crescimento rápido no aparecimento de DCNT, que está relacionada à obesidade, ao diabetes tipo 2, à redução da tolerância a glicose e outras complicações como hipertensão, doenças cardiovasculares, falência renal, apnêia do sono, artrite e até mesmo o câncer ^(3,4).

Ressalta-se que o sobrepeso e a obesidade atingem mais de 1,1 bilhão e 312 milhões de adultos em todo mundo, respectivamente ^(1,5). Nestes casos, o uso de adoçantes artificiais, como a sucralose, torna-se necessário por apresentarem baixo valor calórico e nutritivo, sendo recomendado para indivíduos com dietas especiais ⁽⁶⁾.

Como consequência do aumento da expectativa de vida, mesmo com o aparecimento de DCNT, torna-se importante implementar técnicas de exames e diagnósticos a fim de prevenir e/ou tratar doenças que necessitem de avaliação e/ou intervenção precoce. Dentre os procedimentos que tem contribuído para auxiliar os diagnósticos, destacam-se as técnicas de imagens cintilográficas da medicina nuclear, a tomografia por emissão de fóton único (SPECT, *single photon emission computed tomography*) e a tomografia por emissão de pósitrons (PET, *positron emission tomography*) ^(7, 8).

Durante os exames de medicina nuclear, são administradas quantidades mínimas de estruturas de interesse biomédico marcadas com radionuclídeos denominadas de radiofármacos ou radiobiocomplexos para fins de diagnóstico e/ou terapia ⁽⁹⁾. O ^{99m}Tc é o radionuclídeo mais utilizado para obtenção de imagens

diagnósticas tipo SPECT. O processo de marcação desses radiofármacos, que podem ser de natureza molecular ou celular, com ^{99m}Tc depende de um agente redutor, sendo o cloreto estanoso (SnCl_2) o mais utilizado⁽⁹⁾.

Produtos naturais ou sintéticos podem alterar a marcação de constituintes sanguíneos com ^{99m}Tc , seja em ensaios *in vitro*^(10,11), seja em ensaios *in vivo*^(12,13). Além disso, alterações na morfologia das hemácias⁽¹⁴⁾ e na biodistribuição de radiofármacos também podem ser observadas^(15,16).

Essa pesquisa foi motivada por tentar identificar uma possível interação radiofármaco-sucralose, que despertaria grande interesse para a área de medicina nuclear, já que este adoçante tem seu consumo livre para todas as idades e está presente em diversos produtos industrializados de consumo comum⁽¹⁷⁾. Um paciente que utiliza sucralose poderia precisar realizar um procedimento de imagem em medicina nuclear. Além disso, não foram encontrados na literatura pesquisada⁽¹⁸⁾ dados sobre a influência da sucralose na marcação de constituintes sanguíneos com ^{99m}Tc , na morfologia das hemácias e na biodistribuição dos radiofármacos $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e $^{99m}\text{Tc-DTPA}$.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do adoçante comercial com sucralose: (i) na marcação de constituintes sanguíneos com ^{99m}Tc ; (ii) na morfologia das hemácias e (iii) na biodistribuição dos radiofármacos $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ em ratos *Wistar*.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Radiofarmácia Experimental (LRE), do Departamento de Biofísica e Biometria do IBRAG (Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) em colaboração com o Serviço de Medicina Nuclear do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE/UERJ) e com o Departamento de Ciências Fisiológicas do IBRAG

(UERJ). Os experimentos foram possíveis através de convênio firmado entre a UERJ e a Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), sob a orientação do Professor Doutor Mario Bernardo Filho, e na vigência dos auxílios concedidos pela CAPES, FAPERJ e CNPq.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sucralose

A sucralose é um adoçante não-nutritivo e não-calórico derivado da sacarose utilizado em alimentos. Possui boa estabilidade físico-química e é solúvel em água, podendo ser utilizado em alimentos e bebidas sem perder seu sabor durante o processamento e armazenamento^(6,19-23).

A sucralose não é hidrolisada no lúmen instestinal, sendo pouco absorvida e metabolizada. A excreção da sucralose em seres humanos é semelhante àquela encontrada em ratos, coelhos, cachorros e camundongos. Observa-se que em animais de laboratório, após uma dose oral de sucralose, aproximadamente 10-35% é absorvida, em contraste com o observado em humanos, em que a absorção gira em torno de 15%^(24,25), apresentando um pico de concentração plasmática em torno de 2 horas após o consumo^(20,26-30).

Estudos sobre a farmacocinética da sucralose realizados em diferentes espécies animais e em seres humanos mostram que este adoçante apresenta limitada absorção, rápida excreção urinária e fecal, não possuindo bioacumulação^(6,20,26-29).

A segurança no uso da sucralose tem sido estabelecida e relatada em uma série de estudos toxicológicos^(21,31,32). Efeitos observados em dietas com altas concentrações de sucralose foram caracterizados como secundários à redução na ingestão alimentar e por ser uma substância osmoticamente ativa. A elevada osmolaridade da sucralose explicaria um maior consumo de água e, consequentemente, aumento do ceco e do peso dos rins, sendo ambos, considerados como uma resposta fisiológica à presença do adoçante^(21,31,32).

Apesar da sucralose e outros adoçantes artificiais (acesulfame-K, aspartame,

ciclamato, neotame, sacarina, esteviosídeo) serem consumidos mundialmente em alimentos e bebidas, não há relatos na literatura⁽¹⁸⁾ a respeito da interação destes adoçantes com radiofármacos.

2.2 Medicina nuclear, tecnécio-99m e suas aplicações em saúde

O ^{99m}Tc é um radionuclídeo largamente utilizado em procedimentos de medicina nuclear para obtenção de imagens do tipo SPECT (*single photon emission computed tomography*)^(7,33).

Os radiofármacos ou radiobiocomplexos são estruturas moleculares ou celulares marcadas com um radionuclídeo emissor de radiação gama, beta positiva ou raios-X (captura eletrônica) para fins diagnósticos ou com beta negativa para fins terapêuticos⁽³⁴⁾. O radionuclídeo mais utilizado em cintilografias por emissão de fóton único (SPECT) é o ^{99m}Tc em virtude de suas características químicas e físicas, tais como fácil obtenção através do gerador ⁹⁹Mo/^{99m}Tc, emissão de fóton de 140 keV, meia vida física de 6 horas e impacto ambiental desprezível^(9,33).

Os procedimentos, realizados em medicina nuclear, são importantes por produzirem imagens de excelente qualidade com baixas doses de radiação e baixa exposição do paciente^(7,34,35). O ^{99m}Tc também vem sendo utilizado na pesquisa científica básica para a marcação de estruturas biológicas e moléculas como modelo experimental para avaliação de efeitos de produtos naturais e sintéticos^(14,36,37,38).

Desta forma, pesquisas experimentais, realizadas em nosso laboratório, têm sugerido que produtos naturais e sintéticos podem alterar a marcação de constituintes sanguíneos, a morfologia das hemácias e a biodistribuição do radiofármaco Na^{99m}TcO₄. Estes estudos se revestem de grande relevância, pois o comportamento inesperado de um radiofármaco pode acarretar um diagnóstico

inadequado e/ou a necessidade da repetição do exame, expondo o paciente à dose adicional de radiação⁽³⁵⁾.

2.3 Marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m

O processo de marcação de hemácias com ^{99m}Tc representa uma técnica de grande relevância em medicina nuclear^(9,35). Hemácias marcadas com ^{99m}Tc tem sido muito utilizadas em medicina nuclear para várias aplicações importantes em exames diagnósticos, como avaliação do *pool* sanguíneo, avaliação da perfusão miocárdica, detecção de hemorragias, sequestro esplênico de hemácias, hemorragias no trato gastrintestinal, hemangiomas, trombose venosa profunda, entre outros⁽³⁹⁻⁴⁵⁾.

Quando leucócitos são marcados com ^{99m}Tc, esse complexo pode ser usado para localizar infecções e inflamações. Caso a marcação seja feita com plaquetas, sua utilização auxilia na detecção de trombose venosa⁽⁴⁶⁾.

O ^{99m}Tc também pode ser utilizado na marcação de outras substâncias e auxiliar no diagnóstico clínico, no qual as suas aplicações variam de acordo com a especificidade de cada radiofármaco⁽⁴⁶⁾.

Nos procedimentos de marcação com ^{99m}Tc é necessária a presença de um agente redutor, sendo o cloreto estanoso (SnCl_2) o composto químico mais utilizado para esta finalidade⁽⁹⁾. A ação deste agente permite a redução da valência do ^{99m}Tc de +7 para +3 ou +4, possibilitando uma elevada eficiência de marcação, isto é, a fixação do ^{99m}Tc às hemácias de forma mais eficiente^(9,46).

Na ligação ^{99m}Tc-hemácias tem sido sugerido que: (i) o íon estanoso (Sn^{+2}) é transportado através de canais de cálcio para o interior das células, ligando-se ao componente celular; (ii) o íon pertecnetato vai para o meio intracelular através do

sistema de transporte transmembrana do tipo banda-3; (iii) ao mesmo tempo, o íon pertecnetato, dentro da célula na presença do Sn^{+2} é reduzido e se liga principalmente à cadeia beta da hemoglobina^(47,48).

Estudos têm demonstrado que diversos produtos naturais e sintéticos podem alterar a morfologia (qualitativa e quantitativamente) das hemácias^(14,49-51).

2.4 Morfologia das hemácias

A análise morfológica tem sido usada como um método para avaliar os efeitos de produtos naturais e sintéticos nas hemácias⁽⁵²⁾. Alterações na membrana das hemácias podem ser quantificadas através de medidas morfométricas, como a relação perímetro/área^(52,53). Assim, os dados obtidos com esta técnica podem auxiliar na compreensão dos efeitos destes produtos na marcação de hemácias com $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

2.5 Biodistribuição dos radiofármacos pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) e ácido dietilenotriaminopentacético marcado com tecnécio-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$)

A biodistribuição de uma substância é um parâmetro farmacológico que está relacionado com a velocidade e a extensão de absorção de determinada dose de alguma substância, a partir de uma curva dose/resposta em determinado período de tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina⁽⁵⁴⁾.

Após administração no plexo venoso orbital, o radiofármaco $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ é distribuído pelo sistema vascular e é captado, principalmente, pelo estômago, intestino, tireóide e glândulas salivares⁽⁹⁾.

O $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$ é usado principalmente para observações do fluxo renal, da taxa de filtração glomerular e em preparações de aerossois para avaliação da

ventilação pulmonar^(55,56).

Após administração via plexo venoso orbital, o ^{99m}Tc-DTPA é distribuído sistemicamente através da vasculatura, concentrando-se principalmente nos rins em virtude de sua excreção ser urinária e por isso, este radiofármaco se torna útil para análise de imagens relacionadas aos rins^(57,58).

A depuração plasmática do ^{99m}Tc-DTPA é rápida e estima-se estar próxima de 70 minutos. Sua meia-vida biológica é de cerca de 1 a 2 horas. A taxa de excreção urinária é de cerca de 90% em 24 horas e sua ligação às proteínas plasmáticas é de 5% a 10% em 1 hora⁽⁹⁾.

Muitos fatores, além da doença, como drogas sintéticas (medicamentos), drogas naturais (plantas medicinais), dieta, procedimentos médicos invasivos, radioterapia, cirurgias, imunossupressão, diálise renal, podem afetar a biodisponibilidade dos radiofármacos^(35,59-68).

3 ARTIGOS

3.1 Artigo publicado

Periódico “Brazilian Archives of Biology and Technology” (ISSN: 1516-8913), Volume 51, Special Number, December 2008.

EFFECTS OF CHRONIC SUCRALOSE SWEETENER ON THE LABELING OF BLOOD CONSTITUENTS WITH TECHNETIUM-99m, MORPHOLOGY OF RED BLOOD CELLS AND THE BIODISTRIBUTION OF SODIUM PERTECHNETATE IN RATS

^{1,2}Gabrielle de Souza Rocha, ^{1,2}Marcia de Oliveira Pereira, ²Mônica de Oliveira Benarroz, ^{1,2}Jacques Natan Grinapel Frydman, ²Angélica Beatriz Garcia-Pinto, ³Mário José Pereira, ^{2,4*}Adenilson de Souza da Fonseca and ^{2,5}Mario Bernardo-Filho

¹Centro de Ciências da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. General Gustavo Cordeiro de Faria, s/n; 59010180; Natal – RN – Brasil. ²Departamento de Biofísica e Biometria; Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes; Universidade do Estado do Rio de Janeiro; Rio de Janeiro – RJ – Brasil. ³Departamento de Fisiologia; Avenida 28 de setembro, 87; Vila Isabel; 20551030; Rio de Janeiro – RJ - Brasil. ⁴Centro de Ciências da Saúde; Centro Universitário Serra dos Órgãos; Av. Alberto Torres, 111; 25964004; adenilso@uerj.br; Teresópolis - Rio de Janeiro – RJ – Brasil. ⁵Instituto Nacional do Câncer; Praça Cruz Vermelha, 23; 20230130; Rio de Janeiro – RJ – Brasil.

ABSTRACT

This work evaluates effects of the sweetener with sucralose on the labeling of blood constituents with technetium-99m (^{99m}Tc), on the morphology of red blood cells (RBC) and on the biodistribution of sodium pertechnetate in Wistar rats. Animals were treated with sweetener for 8 days. Blood samples were withdrawn and the assay of labeling of blood constituents with ^{99m}Tc was performed. Blood cells (BC) and plasma (P) were isolated. Aliquots of BC and P were also precipitated, soluble and insoluble fractions separated. The radioactivity in each fraction was counted and percentage of incorporated radioactivity (%ATI) determined. Blood smears were prepared, fixed, stained and the qualitative and quantitative morphology of the RBC was evaluated under optical microscopy. In biodistribution experiments, sodium pertechnetate was administrated, organs and tissues isolated, radioactivity was counted and percentage of incorporated radioactivity per gram (%ATI/g) determined. The data showed no significant alterations in %ATI, morphology of RBC and in %ATI/g in the studied organs.

Keywords: biodistribution, blood, morphology, sweetener, technetium-99m

INTRODUCTION

Sucralose is a non-caloric and non-nutritive sweetener derived from sucrose, has high water solubility and excellent physico-chemical stability (Mann *et al.*, 2000). This sweetener is used in foods and beverages, as

well as in baking, without loss of sweetness during processing and storage presenting safety for human consumption (Grice & Goldsmith, 2000).

Other studies in animals and humans have shown that sucralose is not hydrolysed in the

intestinal lumen, to exhibit limited absorption, rapid urinary excretion and faecal excretion in an unchanged form (John *et al.*, 2000). Plasma peak concentration is about 2 hours (1.0 a 3 hours) after the oral dose (Baird *et al.*, 2000; Roberts *et al.*, 2000).

At higher doses, sucralose decreases diet palatability, food consumption, food conversion efficiency as well as body and organ weight gain (Goldsmith, 2000).

Red blood cells (RBC) labeled with technetium-99m (^{99m}Tc) is used as radiopharmaceutical in nuclear medicine (Olds *et al.*, 2005). Labeling of blood constituents with ^{99m}Tc has been successfully used as assay to evaluate the interference of *in vitro* or *in vivo* treatment with synthetic or natural products with radiopharmaceuticals (Fonseca *et al.*, 2007; Benarroz *et al.*, 2008). Moreover, the analysis of the morphology of the RBC has been used a method to evaluate the effects of drugs on shape of these cells (Frydman *et al.*, 2008).

The radiopharmaceutical sodium pertechnetate is uptaken by stomach, intestinal tract, thyroid and salivary glands (Saha, 2004). However, factors as synthetic or natural drugs, dietary conditions could affect the biodistribution of radiopharmaceuticals (Bernardo-Filho *et al.*, 2005).

Although widely consumed by diabetics and by subjects for weight control, no data about diary consumption of sucralose sweetener and the biodistribution of radiopharmaceuticals or effects upon the shape of RBC have been described. Thus, the aim of this work was to evaluate the *in vivo* effects of chronic treatment with sucralose sweetener on the labeling of blood constituents with ^{99m}Tc , on the morphology of the RBC, and on the biodistribution of sodium pertechnetate.

MATERIAL AND METHODS

Animals

Wistar rats (3-4 months, 250-350g) were housed in an environmentally-controlled room (25 ± 2 °C), with free access to water and food. Experimental procedures were conducted in

accordance with the Department Committee of Animal Care of the *Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro* (protocol number CEA/134/2006).

Sweetener

The commercial sweetener with sucralose (*Linea®*, lot 060908, expiration date, September 2008) used in this study was purchased from *Linea Nutrição e Ciência (Brazil)*.

Chronic sweetener treatment

For radiolabeling and morphological evaluation of RBC, the animals (n=10, for each dose) were treated with sweetener at different doses (0.5, 5 and 50 mg/kg) for 8 days. For biodistribution procedure, the animals (n=12, for each dose) were treated with sweetener (0.5 and 50 mg/kg) for 8 days. As control groups, animals (n=10) were treated with saline solution (0.9% NaCl). The sweetener solutions were prepared immediately before the experimental procedures.

Labeling of blood constituents with ^{99m}Tc

Samples of heparinized blood were withdrawn from animals 24 hours after sweetener treatment. This labeling assay was described elsewhere (Bernardo-Filho *et al.*, 1983). Briefly, stannous chloride solution (1.20 µg/ml) (Sigma Chemical Co., St Louis, USA) was added and incubation continued for 60 minutes at room temperature. After this period of time, ^{99m}Tc (3.7MBq), as sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$), recently milked from a $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator (*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Comissão Nacional de Energia Nuclear, Brazil*) were added and incubation was continued for 10 minutes. These samples were centrifuged (1500 rpm, 5 min) to separate plasma (P) and blood cells (BC). Aliquots of P and BC were also precipitated in trichloroacetic acid (5%) solution and centrifuged (1500 rpm, 5 min) to isolate soluble (SF) and the insoluble fractions

(IF). The radioactivity in each aliquot of P, BC, SF-P, IF-P, SF-BC and IF-BC were determined in a well gamma-counter (Automatic Gamma Counter, Packard Instrument Co, Illinois, USA) and the percentage of incorporated radioactivity (%ATI) was calculated as described elsewhere (Bernardo-Filho *et al.*, 1983).

Morphological evaluation of red blood cells

Smears were prepared with blood samples from animals *in vivo* treated with sweetener or with saline solution as control group, dried, fixed and stained by May-Grünwald-Giensa method (Junqueira & Carneiro, 2004). Five slides per blood sample were analyzed and five fields were evaluated per slide. After that, images of the RBC were acquired (Optronics, USA) from slides for qualitative morphology analysis under optical microscopy ($\times 1000$, Olympus, BX model, Japan). For morphometric analysis of RBC, the perimeter/area ratio was obtained from images by specific program (Image ProPlus Software, USA).

Biodistribution of sodium pertechnetate

After the *in vivo* treatment with sweetener or saline, $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (3.7 MBq) were injected by ocular plexus and the animals were sacrificed 10 minutes later. Organs were isolated and weighed (pancreas, testis, stomach, kidney, spleen, intestine, heart, lung, liver, thyroid, bone, muscle, brain and blood), and radioactivity was counted in a well counter (Automatic Gamma Counter, Packard Instrument Co, Illinois, USA). The percentage radioactivity per gram of each tissue or organ (%ATI/g) was calculated as described elsewhere (Moreno *et al.*, 2007).

Statistical analysis

Data is reported as (means \pm SD) from radiolabeling assay (%ATI), perimeter/area ratio and %ATI/g. Each treated group was compared with control group by One way analysis of variance-ANOVA with a $p<0.05$. InStat Graphpad software was used to perform

statistical analysis (GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95, GraphPad Software, San Diego California, USA).

RESULTS

Figure 1 shows the effect of chronic *in vivo* treatment with sweetener at different doses for 8 days on the labeling of blood cells (BC), insoluble fraction of plasma (IF-P) and insoluble fraction of blood cells (IF-BC) with $^{99\text{m}}\text{Tc}$. The results indicate that the sweetener was not capable of significantly altering ($p>0.05$) the radiolabeling of blood constituents.

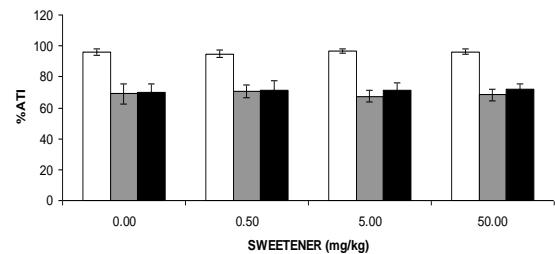


Figure 1: Effect of chronic *in vivo* treatment with sweetener on the labeling of blood constituents with $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Wistar rats were treated with sweetener for 8 days. (□) Blood cells, (■) insoluble fraction of plasma, (■) insoluble fraction of blood cells.

Figures 2 and 3 represent photomicrographs of the blood smears from animals treated with saline solution (control) and with an aqueous sweetener solution at the highest dose used (50mg/kg) for 8 days. Qualitative morphological analysis by the comparison between these figures suggests that the sweetener solution used did not induce important changes on shape of RBC when observed under optical microscopy.

The perimeter/area ratio of RBC from animals treated with an aqueous sweetener solution at different doses for 8 days is shown in Figure 4. This data suggests that no modification on perimeter/area ratio of the RBC is induced by chronic *in vivo* sweetener treatment.

The effect of sweetener treatment on the biodistribution of radiopharmaceutical

sodium pertechnetate is shown in Table 1. Data in this table indicate that treatment with sweetener did not alter significantly ($p>0.05$) the biodistribution of sodium pertechnetate on organs and tissues evaluated.

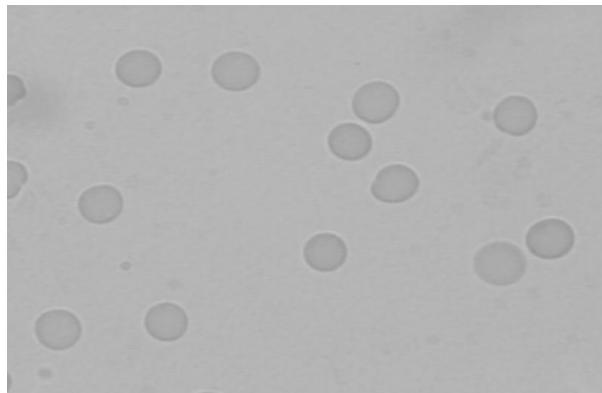


Figure 2: Photomicrography of blood smears from animals treated with saline (control group). Blood smears were prepared, dried, fixed and staining by May-Grünwald-Giensa method. The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x1000) after image capture.

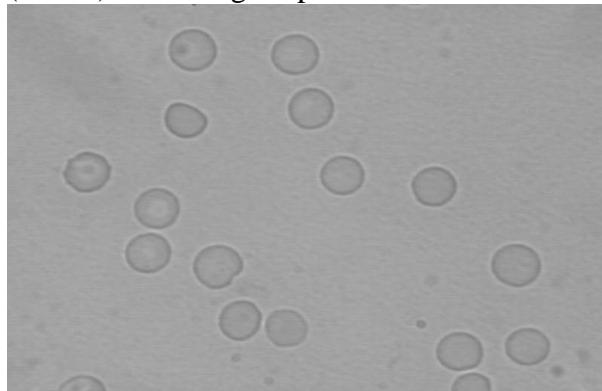


Figure 3: Photomicrography of blood smears from animals was treated with sweetener (50mg/kg) for 8 days. Blood smears were prepared, dried, fixed and staining by May-Grünwald-Giensa method. The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x1000) after image capture.

DISCUSSION

In this study the effects of a chronic *in vivo* treatment with sweetener on the radiolabeling of blood constituents, on the qualitative and quantitative morphology of the RBC and on

the biodistribution of $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ were evaluated. The concentrations and treatment time with sweetener used were similar to plasma peak concentration (ranging 141 to 455 ng/ml) and the time to peak blood levels (1.0 to 3 h) in human beings reported by Roberts *et al.*, 2000 and Baird *et al.*, 2000.

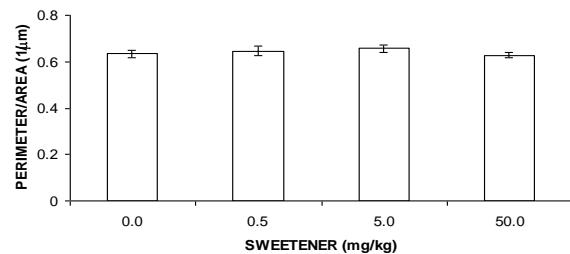


Figure 4: Effect of chronic *in vivo* treatment with sweetener on the perimeter/area ratio of RBC from animals treated with sweetener for 8 days. Morphology of RBC was evaluated under optical microscopy (x1000) after image captures, morphometric measurements (perimeter and area) were carried out and perimeter/area calculated.

Table 1

Effects of the sweetener on the biodistribution of sodium pertechnetate in *Wistar* rats.
Effects of the sweetener on the biodistribution of $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ in *Wistar* rats. Animals were treated with sweetener for 8 days or with saline solution as control group, $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ was administered, organs and tissues were isolated and weighed. Radioactivity was counted and the percentages of radioactivity per gram of each organ (%ATI/g) were calculated.

Organs And tissues	%ATI/g			
	Sweetener (mg/kg)	0.00	0.50	50.00
Pancreas	0.20 ± 0.04	0.37 ± 0.07	0.38 ± 0.05	
Testis	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.01	
Stomach	2.02 ± 0.38	1.12 ± 0.12	1.44 ± 0.09	
Kidney	0.58 ± 0.04	0.57 ± 0.05	0.56 ± 0.05	
Spleen	0.29 ± 0.03	0.30 ± 0.03	0.34 ± 0.03	
Intestine	0.36 ± 0.05	0.49 ± 0.07	0.52 ± 0.04	
Heart	0.33 ± 0.03	0.24 ± 0.03	0.34 ± 0.03	
Lung	0.68 ± 0.03	0.84 ± 0.08	0.89 ± 0.06	
Liver	0.50 ± 0.04	0.60 ± 0.06	0.58 ± 0.04	
Thyroid	4.53 ± 0.69	3.25 ± 0.68	3.57 ± 0.34	
Bone	0.15 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.19 ± 0.01	
Muscle	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.11 ± 0.01	
Brain	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	
Blood	1.05 ± 0.07	1.10 ± 0.11	1.33 ± 0.10	

The results obtained in this study by radiolabeling assay indicate that the sweetener solutions have not affected the labeling of blood constituents (Figure 1). In the assay of labeling of blood constituents with 99m Tc, cellular (hemoglobin) and plasma proteins are labeled and a reducing agent is necessary (Early & Soddee, 1995; Owunwanne *et al.*, 1995). Some authors have suggested that sucralose treatment does not alter the glycated hemoglobin (Grotz *et al.*, 2003; Reyna *et al.*, 2003) and C-peptide levels (Mezitis *et al.*, 1996) as well as serum biochemistry (Baird *et al.*, 2000). Thus, the compounds present in sweetener used would not present redox action or interact with sites on plasma or cellular proteins related with the 99m Tc.

No qualitative alteration on the shape of the RBC from *Wistar* rats treated with sweetener was observed (Figures 2 and 3). This result was confirmed by the quantitative morphological analysis (perimeter/area ratio) of these cells (Figure 4). Studies have demonstrated that sucralose has not induced morphological modifications on cells of central nervous system (Grice & Goldsmith, 2000). In addition, other data have suggested no alteration on haematologic profile after treatment with this sweetener. However, in these studies were not investigated the effects of sucralose on RBC (Baird *et al.*, 2000).

Taken together, the data obtained with assay of radiolabeling of blood constituents and morphological analysis suggest that the chronic *in vivo* treatment with sweetener used did not present important effects on the membrane of RBC and could not influence the ion membrane transport systems.

Data obtained in the biodistribution assay indicates that chronic *in vivo* treatment with sweetener could not also alter the uptake of $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ in specific organs and tissues (Table 1). The development of models to study the normal biodistribution and elimination pattern of sucralose may help to understand the sweetener interaction with radiopharmaceuticals and to observe of the possible change. Moreover, these findings are

relevant to justify the use of the sucralose by the human beings.

In conclusion, the results presented in this study have important interest to a better understanding of the actions of the sucralose sweetener on blood constituents and on the interactions with radiopharmaceuticals. Moreover, the experimental models used could be worthwhile so as to verify some properties related with chemical compounds that the human beings could be using daily.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by grants and financial aid from CAPES, CNPq and FAPERJ.

RESUMO

Neste estudo foram avaliados efeitos do adoçante com sucralose na marcação de constituintes sanguíneos com 99m Tc, na morfologia de hemácias e na biodistribuição do perteconato de sódio em ratos *Wistar*. Animais foram tratados com adoçante durante 8 dias. Amostras de sangue foram retiradas e a marcação de constituintes sanguíneos com 99m Tc foi realizada. Células sanguíneas (CS) e plasma (P) foram isolados. Aliquotas de CS e P foram precipitadas, frações insolúvel e solúvel foram separadas. A radioatividade em cada fração foi contada e o percentual de radioatividade incorporada (% ATI), determinado. Distensões sanguíneas foram preparadas, fixadas, coradas e análise morfológica, qualitativa e quantitativa, de hemácias foi avaliada sob microscopia óptica. Nos experimentos de biodistribuição, perteconato de sódio foi administrado, órgãos e tecidos isolados, a radioatividade contada e o percentual de radioatividade incorporada por grama (% ATI/g), determinada. Os dados sugerem que não houve alterações significativas no % ATI, morfologia de hemácias e no % ATI/g.

REFERENCES

- Baird, I. M.; Shephard, N. W.; Merritt, R. J.; Hildick-Smith, G. (2000), Repeated dose study of sucralose tolerance in human subjects. *Food Chem Toxicol.*, **38** (Suppl. 2), 123-129.
- Benarroz, M. O.; Fonseca, A. S.; Rocha, G. S.; Frydman, J. N.; Rocha, V. C.; Pereira, M. O.; Bernardo-Filho, M. (2008), Cinnamomum zeylanicum extract on the radiolabelling of blood constituents and the morphometry of red blood cells: In vitro assay. *Appl Radiat Isot.*, **66**, 139-146.
- Bernardo-Filho, M.; Moura, I. N. S.; Boasquevisque, E. M. (1983), 99m Technetium-labeled red blood cells "in vitro". *Archives Biol Technol.*, **26**, 455-461.
- Bernardo-Filho, M.; Santos-Filho, S. D.; Moura, E. G.; Maiworn, A. I.; Orlando, M. M. C.; Penas, M. E.; Cardoso, V. N.; Bernardo, L. C.; Brito, L. C. (2005), Drug interaction with radiopharmaceuticals: a review. *Braz Arch Biol Technol.*, **48**, 13-27.
- Early, P. J.; Soddee, D. B. (1995), *Principles and Practice of Nuclear Medicine*. Mosby, London, pp. 877.
- Fonseca, A. S.; Frydman, J. N. G.; Rocha, V. C.; Bernardo-Filho, M. (2007), Acetylsalicylic acid decreases the labeling of blood constituents with technetium-99m. *Acta Biol Hung.*, **58**, 187-98.
- Frydman, J. N. G.; Rocha, V. C.; Benarroz, M. O.; Rocha, G. S.; Pereira, M. O.; Fonseca, A. S.; Bernardo-Filho, M. (2008), Assessment of effects of a *Cordia salicifolia* extract on the radiolabeling of blood constituents and on the morphology of red blood cells. *J Med Food*, in press.
- Goldsmith, L. A. (2000), Acute and Subchronic Toxicity of Sucralose. *Food Chem Toxicol.*, **38** (Suppl. 2), 53-69.
- Grice, H. C.; Goldsmith, L. A. (2000), Sucralose An Overview of the Toxicity Data. *Food Chem Toxicol.*, **38** (Suppl. 2), 1-6.
- Grotz, V. L.; Henry, R. R.; McGill, J. B.; Prince, M. J.; Shamoon, H.; Trout, J. R.; Pi-Sunyer, F. X. (2003), Lack of effect of sucralose on glucose homeostasis in subjects with type 2 diabetes. *J Am Dietetics Ass.*, **103**, 1607-1612.
- John, B. A.; Wood, S. G.; Hawkins, D. R. (2000), The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the rabbit. *Food Chem Toxicol.*, **38** (Suppl. 2), 111-113.
- Junqueira, L. C.; Carneiro, J. (2004), *Histologia Básica*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro
- Mann, S. W.; Yuschak, M. M.; Amyes, S. J. G.; Aughton, P.; Finn, J. P. (2000), A combined chronic toxicity/carcinogenicity study of sucralose in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol.*, **38** (Suppl. 2), 71-89.
- Mezitis, N. H.; Maggio, C. A.; Koch, P.; Quddoos, A.; Allison, D. B.; Pi-Sunyer, F. X. (1996) Glycemic effect of a single high oral dose of the novel sweetener sucralose in patients with diabetes. *Diabetes Care*, **19**, 1004-1005.
- Moreno, S. R. F.; Silva, A. L. C.; Diré, G.; Honeycut, H.; Carvalho, J. J.; Nascimento, A. L.; Pereira, M.; Rocha, E. K.; Oliveira-Timóteo, M.; Arnobio, A.; Olej, B.; Bernardo-Filho, M.; Caldas, L. Q. A. (2007), Effect of oral ingestion of an extract of the herb *Uncaria tomentosa* on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats; *Braz J Med Biol Res*, **40**, 77-80.
- Olds, G. D.; Cooper, G. S.; Chak, A.; Sivak, M. V. Jr.; Chitale, A. A.; Wong, R. C. (2005), The yield of bleeding scans in acute lower gastrointestinal hemorrhage. *J Clin Gastroenterol.*, **39**, 273-277.
- Owunwanne, A.; Patel, M.; Sadek, S. (1995), *The handbook of radiopharmaceuticals*, ed. Chapman & Hall, London.
- Reyna, N. Y.; Cano, C.; Bermudez, V. J.; Medina, M. T.; Souki, A. J.; Ambard, M.; Nunez, M.; Ferrer, M. A.; Inglett, G. E. (2003), Sweeteners and beta-glucans improve metabolic and anthropometrics variables in well controlled type 2 diabetic patients; *Am J Therapeutics*, **10**, 438-43.
- Roberts, A.; Renwick, A. G.; Sims, J.; Snodin, D. J. (2000), Sucralose Metabolism and Pharmacokinetics in Man. *Food Chem Toxicol.*, **38** (Suppl. 2), 31-41.
- Saha, G. B. (2004), *Fundamentals of nuclear pharmacy*, ed. Springer, New York.

3.2 Artigo aceito para publicação

Periódico “Medicinal Chemistry Research” (ISSN: 1054-2523).

SUCRALOSE SWEETENER DOES NOT MODIFY RADIOLABELING OF BLOOD CONSTITUENTS AND MORPHOLOGY OF RED BLOOD CELLS

^{1,2}Gabrielle de Souza Rocha, ^{1,2}Marcia de Oliveira Pereira, ²Monica de Oliveira Benarroz, ^{1,2}Jacques Natan Grinapel Frydman, ²Vanessa Câmara da Rocha, ³Mário José Pereira dos Santos, ^{2,4,5}Adenilson de Souza da Fonseca*, ^{2,6}Mario Bernardo-Filho.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Avenida General Gustavo Cordeiro de Farias, s/n, 59010180, Natal, RN, Brasil.

²Departamento de Biofísica e Biometria e ³Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Avenida 28 de Setembro 87, fundos, 4º Andar, Vila Isabel, 20551030, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

⁴Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto Biomédico, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro Avenida Pasteur, 94, 20211040, Rio de Janeiro, Brasil..

⁵Centro de Ciências da Saúde, Centro Universitário Serra dos Órgãos, Avenida Alberto Torres, 111, Alto, Teresópolis, Rio de Janeiro, 20211040, Rio de Janeiro, Brasil.

⁶Instituto Nacional do Câncer, Coordenadoria de Pesquisa Básica, Praça Cruz Vermelha, 23, 20230130, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Corresponding author:

Adenilson de Souza da Fonseca
Departamento de Biofísica e Biometria
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes
Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Avenida 28 de Setembro 87, fundos, 4º andar

Fax number: +55 21 25876432

Rio de Janeiro, Brasil, 20551030

E-mail: adenilso@uerj.br

Abbreviated title: Sucratose and Technetium-99m

Acknowledgements

This study was supported by grants and financial support by Universidade Federal do Rio Grande no Norte (UFRN), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação Carlos Chaga Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Abstract

Effects of sucralose on the labeling of blood constituents with technetium-99m (^{99m}Tc) and on the morphology of red blood cells (RBC) were evaluated. Blood samples from *Wistar* rats were treated with sweetener and the labeling of blood constituents with (^{99m}Tc) was performed. Radioactivity in blood constituents was counted and percentage of incorporated radioactivity (%ATI) determined. Blood smears were prepared for morphology evaluation of RBC. No significant alteration in %ATI of blood constituents and morphology of RBC were observed.

Key words: blood; morphology; sweetener; technetium-99m; *Wistar* rats

1. Introduction

Sucralose (1,6-dichloro-1,6-dideoxy- β -D-fructofuranosyl-4-chloro-4-deoxy- α -D-galactopyranoside) is a unique non-caloric and non-nutritive sweetener derived from sucrose and about 600 times sweeter than sucrose (Grice and Goldsmith, 2000).

This sweetener was selected for commercial development because it has an excellent taste profile, high water solubility and physico-chemical stability of sucralose allow it to be used in acid beverages and baked goods without loss of sweetness during processing and storage (Sims et al., 2000).

Pharmacokinetic studies carry out in different animal species and in human beings have showed that sucralose presents limited absorption, rapid urinary excretion, faecal excretion of unchanged sucralose and minimal metabolism of the absorbed material with no bioaccumulation (Sims et al., 2000; John et al., 2000a; Roberts et al., 2000; Wood et al., 2000). Sucralose is not hydrolysed in the intestinal lumen, poorly absorbed and an elimination profile in humans similar to those found in the rat, rabbit, dog and mouse (Sims et al., 2000; John et al., 2000a; Wood et al., 2000; John et al., 2000b).

Red blood cells (RBC) labeled with technetium-99m (^{99m}Tc) have been used as radiopharmaceutical for a number of applications in nuclear medicine (Niemeyer et al., 1995; Harel et al., 2005; Wong et al., 2004; Olds et al., 2005; Verdu et al., 2005; Cortes et al., 2003; Jin et al., 2004; Benarroz et al., 2008a).

The labeling of blood cells (BC), plasma (P), soluble (SF) and insoluble (IF) fractions of these blood constituents with ^{99m}Tc has been successfully used as *in vitro* assay to evaluate the interference of synthetic or natural products with the labeling of blood constituents (Fonseca et al., 2005; Frydman et al., 2008). For

examples, studies have demonstrated that a guava extract altered the fixation of the ^{99m}Tc on the blood constituents (Abreu et al., 2006). In another study using the same experimental assay was not capable to verify alterations using a *Passiflora edulis* *flavicarpa* extract (Rebelo et al., 2008). Moreover, the analysis of the morphology of the RBC has been used a method to evaluate the effects of drugs on shape of these cells (Benarroz et al., 2008b; Rocha et al., 2008).

Despite clinical and experimental studies have suggested that compounds present in foods, as sweetener, interact and modify the effects of therapeutic drugs (Grenier et al., 2006; Wonneman et al., 2006); no data have been related about the interactions of sucralose with the labeling of the blood constituents with ^{99m}Tc , as well as its effects on the morphology of the RBC, at least when a search in the PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov) was carried out.

In this work was evaluated the in vitro effects of a commercial sweetener with sucralose on the labeling of blood constituents with ^{99m}Tc and on the qualitative and quantitative morphology of the RBC.

2. Materials and Methods

2.1. Animals

Adult male Wistar naive rats (3-4 months of age, body weight 250-350g) were housed, five per cage, in an environmental controlled room. Animals had free access to water and food and ambient temperature was kept at $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Experiments were conducted in accordance with the Department Committee of Animal Care of the Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes (protocol number CEA/134/2006).

2.2. Sweetener

The commercial sweetener with sucralose (Linea®, lot 050314, validity March 2009) used in this study was purchased from Linea Nutrição e Ciência (Linea, Brasil). A search in the PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov) was carried out in July 31th, 2009 about the interactions of sucralose with the labeling of the blood constituents with $^{99\text{m}}\text{Tc}$, as well as its effects on the morphology of the RBC.

2.3. Preparation of sweetener solution

The solutions were prepared adding 40 mg of commercial sweetener (500 µg of sucralose and lactose as vehicle) in 10 ml of saline solution (NaCl 0.9%) and shaken during 1 minute. This solution was considered to be 4 mg/ml.

2.4. Assay of labeling of blood constituents with $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Heparinized blood (500 µl) was withdrawn from Wistar rats and in vitro treated with 100 µl of sweetener solution at different concentrations (0.06, 0.12, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/ml) or with a saline solution (NaCl 0.9%) alone, as control, for 1

hour (room temperature). This assay of labeling was described elsewhere (Pereira et al., 2008). Briefly, following 500 µl of stannous chloride solution (1.20 µg/ml) (Sigma Chemical Co., St Louis, USA) was added and the incubation continued for further 1 hour. After this period of time, 100 µl of 99m Tc (3.7MBq), as sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$), recently milked from a $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Comissão Nacional de Energia Nuclear, Brasil) were added and the incubation was continued for 10 minutes. These samples were centrifuged (1500 rpm, 5 min) to separate P and BC. Aliquots of P and BC were also precipitated in 1.0 ml of trichloroacetic acid (5%) and centrifuged (1500 rpm, 5 min) to isolate SF and IF that contain the proteins (Manada et al., 2006). The radioactivity in each aliquot of 20 µl of P, BC, SF-P, IF-P, SF-BC and IF-BC were determined in a well gamma-counter (Packard, model C5002, Illinois, USA) and the percentage of incorporated radioactivity (%ATI) was calculated as described elsewhere (Pereira et al., 2008).

2.5. Morphological evaluation of red blood cells

Histological preparations were carried out with blood samples in vitro treated with the sweetener solutions during 60 min at room temperature, or with saline solution as control group. Blood smears were prepared, dried, fixed and staining by May-Grünwald-Giensa method (Junqueira and Carneiro, 2008). After that, the images of the RBC were acquired (Optronics, USA) from blood smears to qualitative morphology analysis under optical microscopy (x1000, Olympus, BX model, Japan). To morphometric analysis of RBC the perimeter/area ratio was obtained from images by specific program (Image ProPlus Software, USA).

2.6. Statistical analysis

Data are reported as (means \pm SD) from radiolabeling assay (%ATI, n=10 for each sweetener concentration) and morphometric analysis (perimeter/area ratio, five smears for each sweetener concentration and five fields for each smear). Each treated group was compared with control group by One way analysis of variance - ANOVA with a p<0.05 as significant level. InStat Graphpad software was used to perform statistical analysis (GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95, GraphPad Software, San Diego California, USA).

3. Results

Figure 1 shows the %ATI in the compartments of BC and P from blood samples treated with sweetener solutions at different concentrations. These data indicate that the sweetener at all concentrations has not significantly ($p>0.05$) modified the labeling of blood cells. Consequently, the distribution of radioactivity between BC and P compartments was not altered.

<Insert figure 1 here>

The figure 2 shows the %ATI in IF-P and SF-P from blood samples treated with sweetener solutions at different concentrations. Similar to the labeling of cellular proteins with ^{99m}Tc , the data indicate that the sweetener solutions at all concentrations studied not significantly ($p>0.05$) modified the radioactivity fixation on plasma proteins because no alteration of %ATI on IF-P was observed.

<Insert figure 2 here>

Figure 3 shows the %ATI in IF-BC and soluble SF-BC fractions of blood cells from blood samples treated with sweetener solutions at different concentrations. These data indicate that the treatment with these solutions has not significantly ($p>0.05$) modified the fixation of the ^{99m}Tc on the cellular proteins due to no alteration of %ATI on BC was observed at all concentrations studied.

<Insert figure 3 here>

The figures 4 and 5 show the photomicrographs of the blood smears from blood treated with saline solution (control) and with an aqueous sweetener solution at the highest concentration used (4.0 mg/ml), respectively. The qualitative morphological analysis by the comparison between these figures suggests that the sweetener solution used not induce important changes on shape of RBC observed under optical microscopy.

<Insert figures 4 and 5 here>

The figure 6 shows the perimeter/area ratio for RBC from blood samples treated with aqueous sweetener solution at different concentrations. The analysis of these data indicates that the sweetener solutions used didn't modify the perimeter/area ratio of the RBC.

<Insert figure 6 here>

4. Discussion

As publications about the interactions of sucralose with the labeling of the blood constituents with ^{99m}Tc , as well as its effects on the morphology of the RBC was not found in the PubMed, this fact have stimulated these studies using a commercial preparation with sucralose.

The assay of labeling of RBC is based on the reducing agent (Sn^{+2}) action on pertechnetate ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) ions into the RBC and subsequent binding of the reduced ^{99m}Tc to cellular proteins, mainly to β chain of the hemoglobin (Dewanjee et al., 1982). The cytoplasm membrane transport systems as the band-3 and calcium channels seem to be involved with the transport of the ions $^{99m}\text{TcO}_4^-$ and Sn^{+2} , respectively (Callahan and Rabito, 1990; Gutfilen et al., 1992; Sampson, 1996). Changes in membrane transport could induce morphological alteration on membrane shape and they could be evaluated by qualitative and quantitative morphology analysis. This technique could bring relevant information about the biological effects of drugs on RBC and it has been also used as a complementary assay to study the effects of drugs on the assay of labeling of RBC with ^{99m}Tc (Oliveira et al., 2003).

In this study was evaluated the in vitro effects of a sweetener at different concentrations (0.06 up to 4.0 mg/ml, with sucralose at 130 up to 8000 ng/ml) on radiolabeling of blood constituents and on morphology of the RBC. These concentrations of sweetener was used basing on studies demonstrating that the plasma peak concentration of sucralose in human beings was observed to be about 262 ng/ml (ranging 141 to 455 ng/ml) (Roberts et al., 2000).

The results obtained in this study by radiolabeling assay indicate that the sweetener solutions has not affected the labeling of RBC due to no significant

modification on distribution of ^{99m}Tc between BC and P compartments was verified (figure 1). The same result was observed in vivo study rat treatment with sucralose for 8 days (Rocha et al., 2008).

To verify if the aqueous sweetener solutions used could cause morphological modifications at membrane of RBC and to alter the labeling of these cells with ^{99m}Tc , smears of blood samples were prepared and, after appropriated fixation and staining, qualitative (figures 4 and 5) and quantitative (figure 6) analysis was carried out under optical microscopy. The qualitative analysis comparing RBC from blood samples incubated with saline solution and RBC from blood samples incubated with the aqueous sweetener solution at the higher concentration used (4.0 mg/ml) suggests that the treatment with this solution did not alter the shape of the RBC. RBC from blood samples incubated with sweetener solution at lowest concentrations used (0.06, 0.12, 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/ml) did not present alterations on their shape (data not shown).

The absence of effects of the sweetener on the shape of RBC was confirmed by the quantitative analysis, at least when no modifications in the perimeter/area ratio of these cells were not found (figure 6). These results from qualitative and quantitative morphology analysis of RBC could be related to absence of effects of sweetener on the uptake or fixation of ^{99m}Tc in these cells. These findings are in accordance with other authors that have demonstrated that sucralose has not induced morphological modifications on cells of central nervous system¹. In addition, other data have suggested no alteration on haematologic profile after treatment with this sweetener (Baird et al., 2000). However, in these studies not was evaluated the effects of sucralose on RBC.

The presented data obtained with these assays of labeling of RBC with ^{99m}Tc

and morphology analysis suggest that the sweetener used not present important effects on the membrane of RBC not influencing the ion membrane transport systems and/or redox action. These results have relevant interest to a better comprehension about the actions of the commercial sweetener with the BC.

Other data showed in this work suggest that the aqueous sweetener solutions have not also altered the fixation of ^{99m}Tc on IF-P and IF-BC (figures 2 and 3). In the assay of labeling of RBC with ^{99m}Tc plasma proteins are labeled and also depends on the reducing agent action at different proteins sites and albumin is, in general, the main protein involved (Early and Soddee, 1995). The influence on the labeling of plasma proteins with ^{99m}Tc could be used as assay to evaluate the effects of drugs on these structures (Fonseca et al., 2005; Abreu et al., 2006). Some authors have suggested that sucralose treatment does not alter the glycated hemoglobin and glycosylated hemoglobin or C-peptide levels as well as serum biochemistry (Baird et al., 2000; Grotz et al., 2003; Reyna et al., 2003; Mezitis et al., 1996). These data could be in agreement with the absence of effects of the studied sweetener solution on the labeling of IF-P and IF-BC with ^{99m}Tc . Thus, the compounds present in commercial sweetener used would not present redox action or interact with sites on plasma or cellular proteins that are sites of fixation for ^{99m}Tc in assay of labeling of blood constituents with ^{99m}Tc .

In conclusion, the data presented in this work suggest that the commercial sweetener with sucralose used not modify the labeling of blood constituents with ^{99m}Tc and not induce important alterations in the morphology of RBC. Moreover, these experimental models could be worthwhile to try to verify some properties related with chemical compounds that the human beings could be daily using.

References

- Abreu PR, Almeida MC, Bernardo RM, Bernardo LC, Brito LC, Garcia EA, Fonseca AS, Bernardo-Filho M (2006) Guava extract (*Psidium guajava*) alters the labelling of blood constituents with technetium-99m. *J Zhejiang Univ Sci B*7:429-435
- Baird IM, Shephard NW, Merritt RJ, Hildick-Smith G (2000) Repeated dose study of sucralose tolerance in human subjects. *Food Chem Toxicol* 38 (Suppl 2):S123-S129
- Benarroz MO, Rocha GS, Pereira MO, Presta GA, Geller M, Fonseca AS, Bernardo-Filho M (2008a) Effects of *Cinnamomum zeylanicum* treatment on radiolabeling of blood constituents and morphology of red blood cells in Wistar rats. *Braz Arch Biol Technol* 51:143-149
- Benarroz MO, Fonseca AS, Rocha GS, Frydman JNG, Rocha VC, Pereira MO, Bernardo-Filho M (2008b) *Cinnamomum zeylanicum* extract on the radiolabeling of blood constituents and the morphometry of red blood cells: In vitro assay. *Appl Radiat Isot* 66:139-146
- Callahan RJ, Rabito CA (1990) Radiolabeling of erythrocytes with technetium-99m: role of band-3 protein in the transport of pertechnetate across the cell membrane. *J Nucl Med* 31:2004-2010
- Cortes J, Alonso JI, Ruiz-Oliva F, Alvarez S, Ormijana JS, Caton B, Alcorta P (2003) Renal cell carcinoma detected on Tc-99m-labeled red blood cell imaging. *Clin Nucl Med* 28:920-922

Dewanjee MK, Rao SA, Penniston JT (1982) Mechanism of red blood cell labeling with ^{99m}Technetium-pertechnetate and the role of cation pumps at RBC membrane on distribution and binding of Sn⁺² and ^{99m} Technetium with membrane proteins and hemoglobin. J Labeled Compd Radiopharm 11:1464-1466

Early PJ, Soddee DB (1995) Principles and Practice of Nuclear Medicine, Toronto: Mosby Year Book, pp. 877

Fonseca AS, Frydman JNG, Santos R, Bernardo-Filho M (2005) Influence of antipyretic drugs on the labeling of blood elements with technetium-99m. Acta Biol Hung 56:275-282

Frydman JNG, Rocha VC, Benarroz MO, Rocha GS, Pereira MO, Fonseca AS, Bernardo-Filho M (2008) Assessment of effects of a Cordia salicifolia extract on the radiolabeling of blood constituents and on the morphology of red blood cells. J Med Food 11:767-772

Grenier J, Fradette C, Morelli G, Merritt GJ, Vranderick M, Ducharme MP (2006) Pomelo juice, but not cranberry juice, affects the pharmacokinetics of cyclosporine in humans. Clin Pharmacol Therapy 79:255-262

Grice HC, Goldsmith LA (2000) Sucralose An Overview of the Toxicity Data. Food Chem Toxicol 38 (Suppl 2):S1-S6

Grotz VL, Henry RR, McGill JB, Prince MJ, Shamoon H, Trout JR, Pi-Sunyer FX

(2003) Lack of effect of sucralose on glucose homeostasis in subjects with type 2 diabetes. *J Am Dietetics Ass* 103:1607-1612

Gutfilen B, Boasquevisque EM, Bernardo-Filho M (1992) Calcium channel blockers: interference on red blood cells and plasma proteins labeling with Tc-99m. *Rev Esp Med Nucl* 11:195-199

Harel F, Dupuis J, Benelfassi A, Ruel N, Gregoire J (2005) Radionuclide plethysmography for non-invasive evaluation of peripheral arterial blood flow. *Am J Physiol Heart Circulatory Physiol* 289:H258-H262

Jin RB, Ma XL, Wen JL, Tang WJ (2004) Application of radionuclide imaging to hepatic impact injury in rabbits. *Chinese J Traumatol.* 7:45-48

John BA, Wood SG, Hawkins DR (2000b) The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the mouse. *Food Chem Toxicol* 38 (Suppl 2):S107-S110

John BA, Wood SG, Hawkins DR (2000a) The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the rabbit. *Food Chem Toxicol* 38 (Suppl 2):S111-S113

Junqueira LC, Carneiro J (2002) Basic Histology, New York: McGraw-Hill, pp. 1-18

Manadas BJ, Vougas K, Fountoulakis M, Duarte CB (2006) Sample sonication after trichloroacetic acid precipitation increases protein recovery from cultured hippocampal neurons, and improves resolution and reproducibility in two-

dimensional gel electrophoresis. Electrophoresis 27:1825-1831

Mezitis NH, Maggio CA, Koch P, Quddoos A, Allison DB, Pi-Sunyer FX (1996) Glycemic effect of a single high oral dose of the novel sweetener sucralose in patients with diabetes. Diabetes Care 19:1004-1005

Niemeyer MG, Van der Wall EE, Kuijper AF, Cleophas AT, Palwels EK (1995) Nuclear cardiology, current applications in clinical practice. Angiology 46:591-602

Olds GD, Cooper GS, Chak A, Sivak MVJr, Chitale AA, Wong RC (2005) The yield of bleeding scans in acute lower gastrointestinal hemorrhage. J Clin Gastroenterol 39:273-277

Oliveira JF, Oliveira MBN, Avila AS, Braga ACS, Catano MTJ, Jales RL, Cardoso VN, Bernardo-Filho M (2003) Assessment of the effect of Fucus vesiculosus extract on the labeling of blood constituents with technetium-99m and the histological modifications on the shape of the red blood cells. Food Chem Toxicol 41:15-20

Pereira MO, Rocha GS, Lombardi SS, Geller M, Pereira MJ, Santos-Filho SD, Fonseca AS, Bernardo-Filho M (2008) Effects of fenoprofen on the labeling of blood constituents with technetium-99m, the morphology of red blood cells and the plasmid. Braz Arch Biol Technol 51:135-141

Rebelo BM, Moreno SR, Godinho CR, Neves RF, Fonseca AS, Bernardo-Filho M, Medeiros AC (2008) Effects of Passiflora edulis flavicarpa on the radiolabeling of blood constituents, morphology of red blood cells and on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. *Appl Radiat Isot* 66:1788-1792

Reyna NY, Cano C, Bermudez VJ, Medina MT, Souki AJ, Ambard M, Nunez M, Ferrer MA, Inglett GE (2003) Sweeteners and beta-glucans improve metabolic and anthropometrics variables in well controlled type 2 diabetic patients. *Am J Therapeutics* 10:438-43

Roberts A, Renwick AG, Sims J, Snodin DJ (2000) Sucralose Metabolism and Pharmacokinetics in Man. *Food Chem Toxicol* 38 (Suppl 2):S31-S41

Rocha GS, Pereira MO, Benarroz MO, Frydman JNG, Garcia-Pinto AB, Pereira MJ, Fonseca AS, Bernardo-Filho M (2008) Effects of chronic sucralose sweetener on the labeling of blood constituents with technetium-99m, morphology of red blood cells and the biodistribution os sodium pertechnetate in rats. *Braz Arch Biol Technol* 51:127-133

Sampson CB (1996) Complications and difficulties in radiolabeling blood cells: a review. *Nucl Med Commun* 17:648-658

Sims J, Roberts A, Daniel JW, Renwick AG (2000) The Metabolic Fate of Sucralose in rats. *Food Chem Toxicol* 38 (Suppl 2):S115-S121

Verdu J, Martinez A, Anton MA, Munoz JM, Riera M, Jover R, Caballero O (2005) Increased thallium-201 uptake and Tc-99m red blood cell accumulation in hemangioma. Clin Nucl Med 30:25-26

Wong KT, Beauvais MM, Melchior WR, Snyder SP (2004) Enhanced liver uptake of Tc-99m-labeled RBCs during gastrointestinal bleed scintigraphy using transfused RBCs compared with autologous RBCs. Clin Nucl Med 29:522-523

Wonnemann M, Schug B, Schmucker K, Brendel E, Van Zwieten PA, Blume H (2006) Significant food interactions observed with a nifedipine modified-release formulation marketed in the European Union. Int J Clin Pharmacol Therapeutics 44:38-48

Wood SG, John BA, Hawkins DR (2000) The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the dog. Food Chem Toxicol 38 (Suppl 2):S99-S106

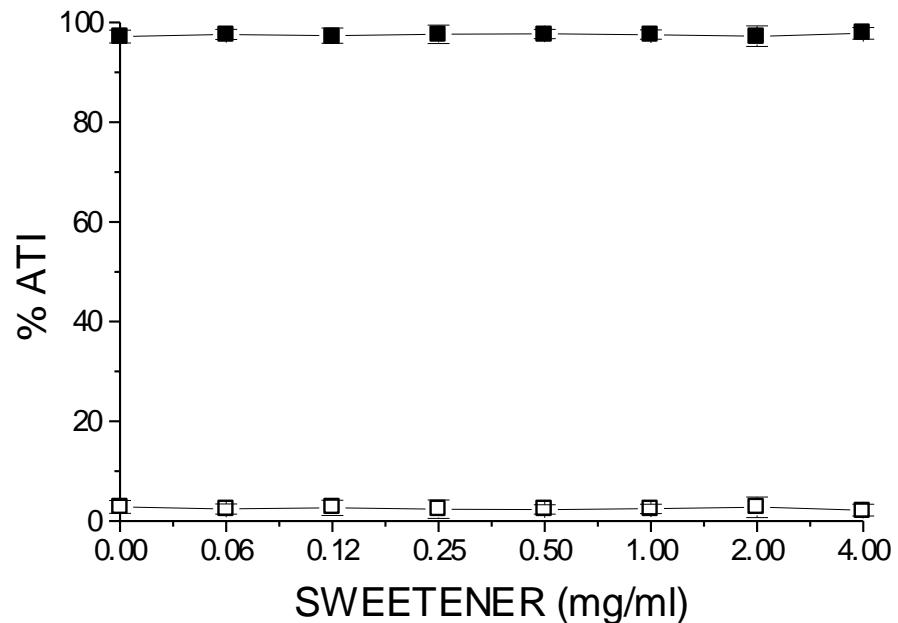
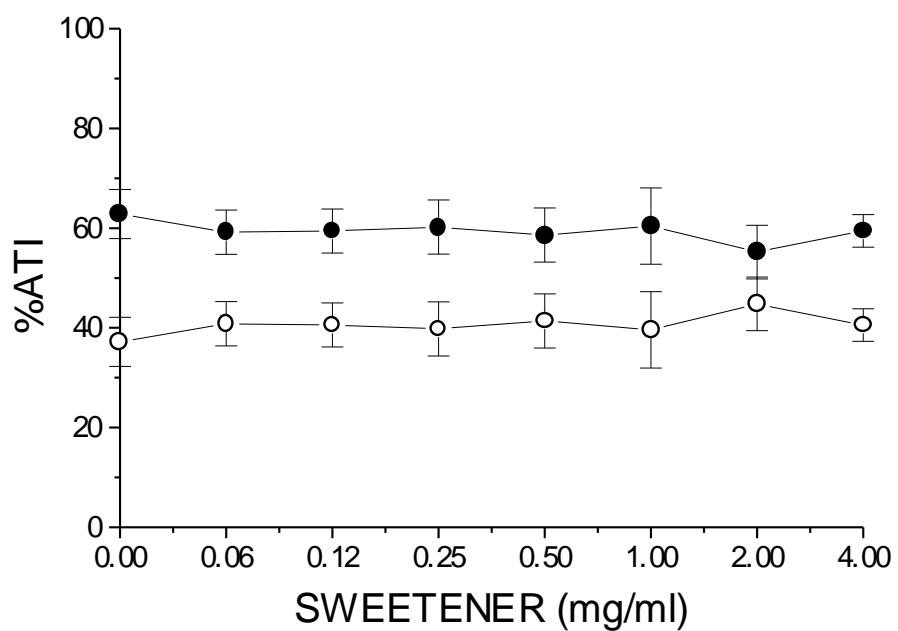
FIGURE 1**FIGURE 2**

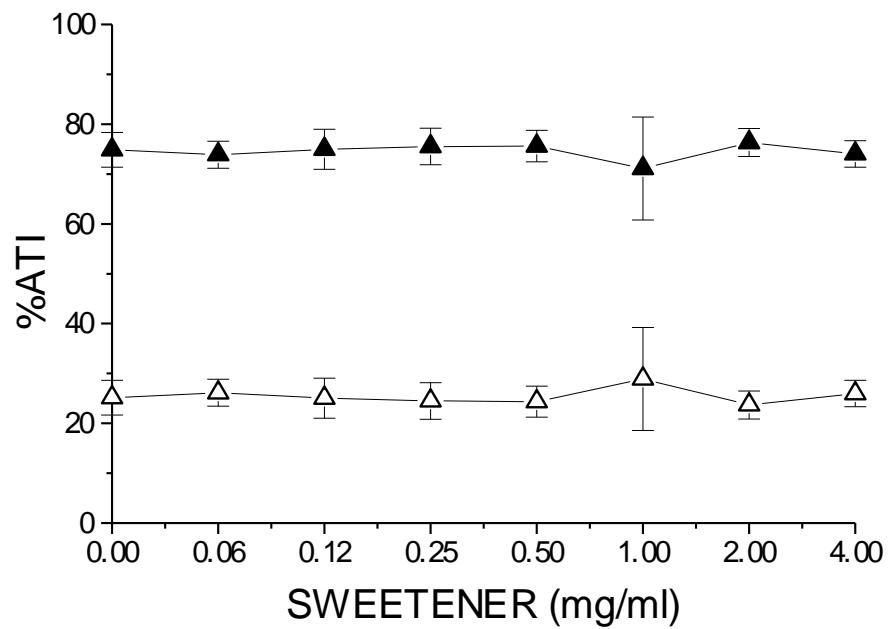
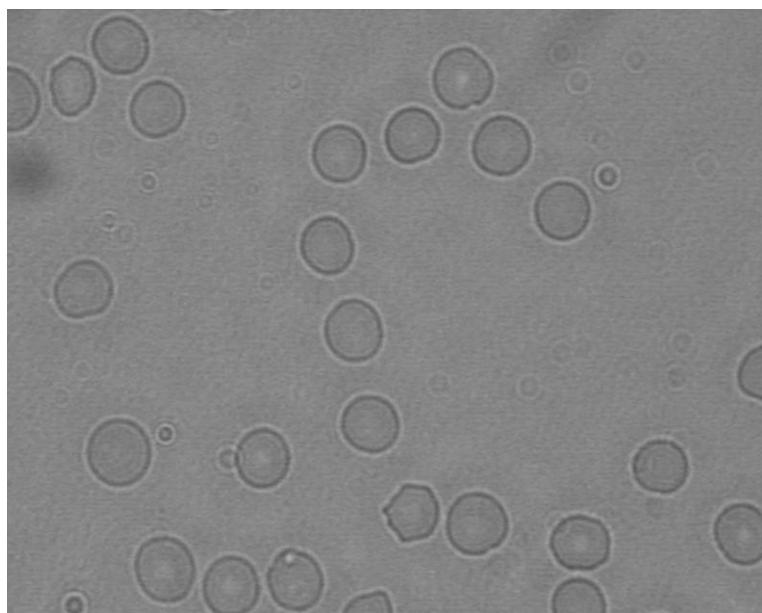
FIGURE 3**FIGURE 4**

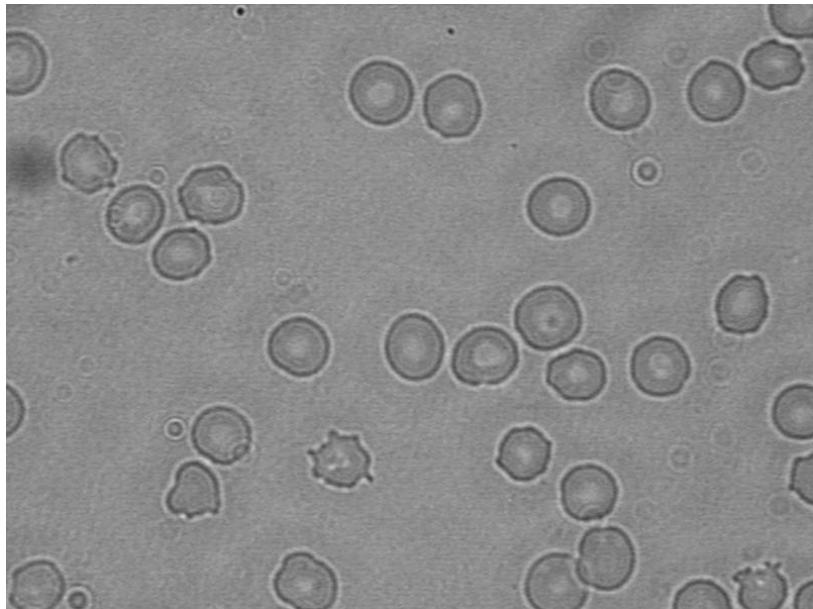
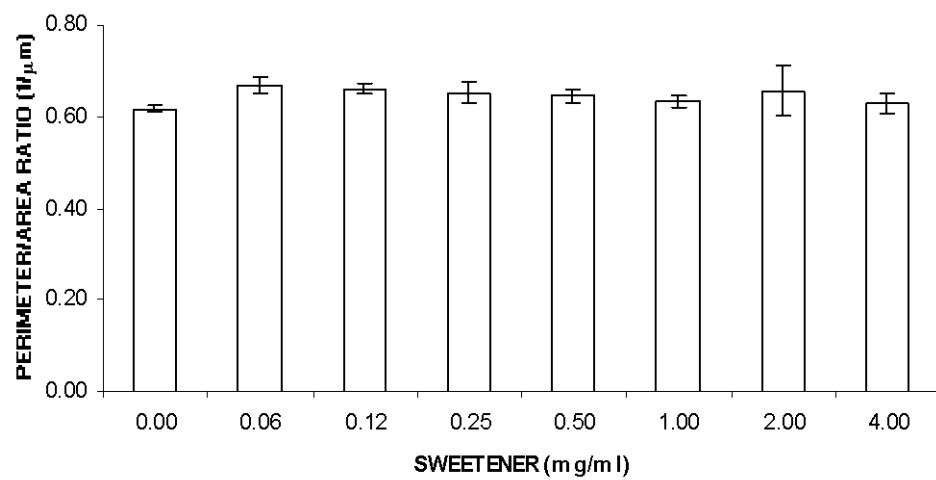
FIGURE 5**FIGURE 6**

FIGURE LEGENDS

FIGURE 1: Effect of commercial sweetener on the distribution of the ^{99m}Tc in the plasma (P) and blood cells (BC) compartments in the assay of labeling of blood constituents with ^{99m}Tc . Heparinized blood samples from *Wistar* rats were treated with sweetener (60 minutes) at different concentrations and after with SnCl_2 (1.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 60 minutes) and in sequence with $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (3.7 MBq, 10 minutes). Plasma (P) and blood cells (BC) were isolated by centrifugation (1500 rpm, 5 minutes). The radioactivity was counted and the %ATI calculated. (■) BC and (□) P.

FIGURE 2: Effect of commercial sweetener on fixation of ^{99m}Tc in insoluble (IF) and soluble (SF) fractions of plasma (P) in the assay of labeling of blood constituents with ^{99m}Tc . Heparinized blood samples from *Wistar* rats were treated with sweetener (60 minutes) at different concentrations and after with SnCl_2 (1.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1h) and in sequence with $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (3.7 MBq, 10 minutes). Insoluble and soluble fractions of plasma (IF-P and SF-P) were obtained by precipitation with trichloroacetic acid (5%) and centrifugation (1500 rpm, 5 minutes). The radioactivity in these fractions was counted and the %ATI were calculated. (●) IF-P and (○) SF-P.

FIGURE 3: Effect of commercial sweetener on fixation of ^{99m}Tc in insoluble (IF) and soluble (SF) fractions of blood cells (BC) in the assay of labeling of blood constituents with ^{99m}Tc . Heparinized blood samples from *Wistar* rats were treated with sweetener (60 minutes) at different concentrations and after with SnCl_2 (1.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 60 minutes) and in sequence with $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (3.7 MBq, 10 minutes). Insoluble and soluble fractions of blood cells (IF-BC and SF-BC) were obtained by precipitation with trichloroacetic acid (5%) and centrifugation (1500 rpm, 5 minutes).

the radioactivity in these fractions was counted and the %ATI were calculated. (▲) IF-BC and (Δ) SF-BC.

FIGURE 4: Photomicrography of blood smears from blood samples treated with NaCl 0.9% solution (control group). Samples of whole blood from *Wistar* rats were treated with NaCl 0.9% solution during 60 minutes. Blood smears were prepared, dried, fixed and staining by May-Grünwald-Giensa method. The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x 1000) after image capture.

FIGURE 5: Photomicrography of blood smears from blood samples treated with the commercial sweetener. Samples of whole blood from *Wistar* rats were treated with sweetener (4.0 mg/ml) during 60 minutes. Blood smears were prepared, dried, fixed and staining by May-Grünwald-Giensa method. The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x 1000) after image capture.

FIGURE 6: Effects of a commercial sweetener on the perimeter/area ratio of red blood cells. Samples of whole blood from *Wistar* rats were treated with sweetener at different concentrations during 60 minutes. Blood smears were prepared, dried, fixed and staining by May-Grünwald-Giensa method. The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x 1000) after image captures of five fields for each smear and five smears for each sweetener concentration. After that, morphometric measurements (perimeter and area) were carried out and perimeter/area calculated.

3.3 Artigo submetido

Periódico “Applied Radiation and Isotopes” (ISSN: 0969-8043).

SUCRALOSE SWEETENER *IN VIVO* EFFECTS ON BLOOD CONSTITUENTS RADIOLABELING, RED BLOOD CELL MORPHOLOGY AND RADIOPHARMACEUTICAL BIODISTRIBUTION IN RATS

Rocha G S^{1,3}, Pereira M O^{1,3}, Benarroz M O¹, Frydman J N G¹, Rocha V C¹, Pereira M J², ¹Fonseca A S^{1,4,*}, Medeiros A C³ and Bernardo-Filho M^{1,5}

¹Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Departamento de Biofísica e Biometria; ²Departamento de Fisiologia, Avenida 28 de setembro, 87, 4º Andar, Vila Isabel, 20551030, Rio de Janeiro, Brasil.

³Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Avenida General Gustavo Cordeiro de Farias, s/n, 59010180, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. ⁴Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto Biomédico, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rua Frei Caneca, 94, Rio de Janeiro, 20211040, Brasil. ⁵Instituto Nacional do Câncer, Coordenadoria de Pesquisa Básica, Praça Cruz Vermelha, 23, 20230130, Rio de Janeiro, Brasil.

Corresponding author:

Adenilson de Souza da Fonseca

Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto Biomédico, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rua Frei Caneca, 94, Rio de Janeiro, 20211040, Brasil.
Telephone/FAX: +55 21 25317998, e-mail: adfonseca@ig.com.br.

Running Title: Sucralose sweetener *in vivo* effects in rats.

Abstract

Effects of sucralose sweetener on blood constituents labeling with technetium-99m (^{99m}Tc) on red blood cell (RBC) morphology, sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) and diethylenetriaminepentaacetic acid labeled with ^{99m}Tc ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$) biodistribution in rats were evaluated. Radiolabeling on blood constituents from *Wistar* rats was undertaken for determining the activity percentage (%ATI) on blood constituents. RBC morphology was also evaluated. $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ and $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ biodistribution was used to determine %ATI/g in organs. There was no alteration on of RBC blood constituents and morphology %ATI. Sucralose sweetener was capable of altering %ATI/g of the radiopharmaceuticals in different organs. These findings are associated to the sucralose sweetener in specific organs.

Key words: biodistribution, blood, morphology, sweetener, $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, $^{99m}\text{Tc-DTPA}$.

1. Introduction

Sucralose is a non-caloric and non-nutritive sweetener halogenated sucrose derivative used in foods and beverages (Bello and Hajnal, 2005; Grotz and Munro, 2009). There is plenty evidence that sucralose and sucralose-mixture products are safe for use in food (Grice and Goldsmith, 2000; Grotz and Munro, 2009).

Absorption, distribution, metabolism and elimination studies in several different experimental models, including humans, have shown sucralose is not hydrolysed in the intestinal lumen, with limited absorption, rapid urinary excretion and unchanged faecal excretion. Also, these results show that the rate of sweetener elimination is similar to that in humans (Roberts et al., 2000; Sims et al., 2000).

Sucralose has been shown to be absorbed with a plasma peak concentration about 2 hours (1.0 to 3 hours) after oral dose in humans (1.0 mg/kg to 10.0 mg/kg) (Baird et al., 2000; Roberts et al., 2000). Following an oral dose of sucralose, approximately 10-35% is absorbed in laboratory animals contrasting with about 15% in humans (McNeil, 1987; Kille et al., 2000). The Food and Drug Administration (FDA, 1999) recommends exposure to sucralose remains below the previously established ADI (acceptable daily intake) of 5.0 mg/kg of body weight per day for sucralose, and exposure to hydrolysis products will stay far below the non-effective level of 30 mg/kg.

Blood constituents labeled *in vitro* with technetium-99m (^{99m}Tc) are used as radiopharmaceuticals in some nuclear medicine procedures, for evaluating cardiac function (Niemeyer et al., 1995), volemia (Harel et al., 2005) and detection of gastrointestinal bleeding sites (Olds et al., 2005). The labeling process of cellular and molecular structures with ^{99m}Tc depends on a reducing agent, such as stannous ion (Dewanjee et al., 1982). *In vitro* labeling of blood constituents (blood cells,

cellular and plasma proteins) with ^{99m}Tc has been used successfully to evaluate the influence of *in vitro* or *in vivo* treatment with synthetic or natural products with radiopharmaceuticals (Fonseca et al., 2007; Bustani et al., 2009).

Synthetic or natural products alter the radiolabeling of blood constituents acting on cellular membrane (Bernardo-Filho et al., 2005). These findings have stimulated the RBC qualitative and quantitative morphological analysis as a method for evaluating if drug effects on blood constituents labeling with ^{99m}Tc process are caused by alteration of RBC shape (Li et al., 1999; Benaroz et al., 2008).

Factors, such as synthetic drugs (Gomes et al., 2002), medicinal plants (Moreno et al., 2007) and dietary conditions (Passos et al., 2002) have been described as affecting the radiopharmaceutical biodistribution.

Sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) is distributed throughout the vasculature, being concentrated in the stomach, intestinal tract, thyroid and salivary glands after ocular plexus administration (Saha, 2004).

Diethylenetriaminepentaacetate labeled with ^{99m}Tc ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$) is distributed throughout the vasculature after ocular plexus administration, being concentrated in the kidney; therefore, this radiopharmaceutical is a useful renal imaging agent (Lee et al., 2007; Zhang et al., 2008).

Since there is no interaction data with radiopharmaceuticals and effects on RBC shape, as sweeteners are largely consumed by diabetics and patients for weight control, the aim of this study is to evaluate *in vivo* effects of a commercial sucralose sweetener on labeling of blood constituent with ^{99m}Tc , on the RBC morphology and on biodistribution of sodium pertechnetate and $^{99m}\text{Tc-DTPA}$.

2. Materials and Methods

2.1. Animals

Adult male *Wistar* naive rats (3-4 months, 250-350g) were caged in fives, in an environmentally controlled room. Animals had free access to water and food with ambient temperature kept at 25 ± 2 °C. Experiments were conducted in accordance with the Department Committee of Animal Care of the *Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes* (protocol number CEA/134/2006).

2.2. Sweetener

The commercial sweetener with sucralose (*Linea®*, lot 060908, validity September 2008) used was purchased from *Linea Nutrição e Ciência (Linea, Brasil)*.

2.3. Sweetener treatment

For radiolabeling and morphological evaluation of the RBC, the animals (n=10, for each dose) were differently treated with sweetener (0.5, 5 and 50 mg/kg) for 60 minutes. In other experiments, animals (n=10), were treated with sweetener at 50 mg/kg for varying periods (0, 15, 60 and 120 minutes).

For the biodistribution procedure, the animals (n=12, for each dose) were treated with sweetener (0.5 and 50 mg/kg) for 60 minutes to the radiopharmaceutical sodium pertechnetate, and dosed with a higher dose (50 mg/kg) to the radiopharmaceutical ^{99m}Tc -DTPA for 60 minutes. As control groups, animals (n=10) treated with saline solution (0.9% NaCl).

The sweetener solutions were prepared immediately before the experimental procedures.

2.4 Blood constituent labeling assay with ^{99m}Tc

Heparinized blood samples (500 µl) were taken after sweetener dosage and using the labeling assay as described elsewhere (Bernardo-Filho et al., 1983). Shortly after this, 500 µl of stannous chloride solution (1.20 µg/ml) (Sigma Chemical Co., St Louis, USA) was added and the incubation continued for 60 minutes at room temperature. Next, 100 µl of ^{99m}Tc (3.7 MBq), such as sodium pertechnetate ($Na^{99m}TcO_4$), recently milked from a $^{99}Mo/^{99m}Tc$ generator (*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Comissão Nacional de Energia Nuclear, Brasil*) was added, and the incubation was continued for 10 minutes. These samples were centrifuged (clinical centrifuge, 5 min) to separate plasma (P) and blood cells (BC). Aliquots of P and BC were also precipitated in 1.0 ml of trichloroacetic acid (5%) and centrifuged (clinical centrifuge, 5 min) to isolate soluble (SF) and the insoluble fractions (IF) which contain the proteins. The activity in each aliquot of 20 µl of P, BC, SF-P, IF-P, SF-BC and IF-BC was measured by a well gamma-counter (Packard, model C5002, Illinois, USA) and the percentage of incorporated radioactivity (%ATI) using a prior calculation (Bernardo-Filho et al., 1983).

2.5. Red blood cell morphological evaluation

Histological preparations were made with blood samples from animals *in vivo* dosed with sweetener or with saline solution for the control group (item 2.3). Blood smears were prepared, dried, fixed and stained by the May-Grünwald-Giensa method (Barcia, 2007). Five slides per blood sample were analyzed and five fields were evaluated per slide. Next, the RBC images were obtained (Optronics, USA) from slides for qualitative morphology analysis under optical microscopy (x1000, Olympus, BX model, Japan). Images using a specific program (Image ProPlus Software, USA)

were used for the RBC perimeter/area morphometric ratio analysis.

2.6. Biodistribution of sodium pertechnetate and ^{99m}Tc -DTPA

After *in vivo* dosage with sweetener or saline, 0.3 ml of a ^{99m}Tc solution, such as sodium pertechnetate (7.4 MBq, 28.24 MBq/kg), recently milked from a Molibdenium-99/Technetium-99m generator, or ^{99m}Tc -DTPA (0.3 ml), obtained from a commercial DTPA kit (*Comissão Nacional de Energia Nuclear - CNEN*) with a labeling yield greater than 95% (radiochemical control), were injected by ocular plexus. After 10 min the animals were sacrificed following the Ethical Committee of the Institution criteria. The organs were isolated and weighed (pancreas, testis, stomach, kidney, spleen, intestine, heart, lung, liver, thyroid, bone, muscle, brain and blood) and counted in a well counter (Automatic Gamma Counter Packard, USA). The per gram activity percentage of each organ (%ATI/g) was calculated.

2.7. Statistical analysis

Data was (means \pm SD) of radiolabeling assay (%ATI, n=10 for each sweetener dose), morphometric analysis (perimeter/area ratio, five slides for each sweetener dose and five fields for each slide) with sodium pertechnetate and ^{99m}Tc -DTPA biodistribution (%ATI/g, n=12 for each sweetener dose). Each treated group was compared with the control group by One way analysis of variance – ANOVA with a $p<0.05$ as significant level using Bonferroni post test. InStat Graphpad software was used for statistical analysis (GraphPad InStat version 3.00 for Windows 95, GraphPad Software, San Diego California, USA).

3. Results

The effect of *in vivo* dosage with sucralose at different doses for 60 minutes on the blood cell labeling of (BC), plasma insoluble fraction (IF-P) and blood cell insoluble fraction (IF-BC) with ^{99m}Tc is shown in Figure 1. The results show the sweetener was not capable of significantly altering ($p>0.05$) the BC radiolabeling, as well as the fixation of ^{99m}Tc on IF-P and IF-BC fractions.

To ascertain whether the period of treatment with sweetener could alter blood constituents radiolabeling, animals were given a sweetener solution at a higher dose (50mg/kg) for a longer time. Figure 2 shows the effect of *in vivo* dosage for a different period with sucralose on the labeling of BC, IF-P and IF-BC with ^{99m}Tc . Results show the sweetener, for different times at the higher dose used (50mg/kg) was not capable of significantly altering ($p>0.05$) the BC radiolabeling, as well as the fixation of ^{99m}Tc on IF-P and IF-BC fractions.

Photomicrographs of blood smears from animals treated with saline solution (control) and with an aqueous sweetener solution at the highest dose used (50mg/kg) for 60 minutes are shown in Figures 3 and 4. Qualitative morphological analysis by comparison between these figures shows the sweetener solution used did not induce important qualitative changes in the RBC shape when seen under optical microscopy.

RBC perimeter/area ratio from blood samples of animals treated with an aqueous sweetener solution at different doses for 60 minutes is shown in Figure 5, where there is no modification on RBC perimeter/area ratio.

To ascertain whether the time with sweetener treatment could alter the RBC morphology, animals were treated with a sweetener solution at a higher dose

(50mg/kg) for longer. Blood smear photomicrographs of blood taken from animals treated with sweetener solution at a higher dose (50mg/kg) are shown in figure 6, and figure 7, 120 minutes after the treatment. Similar to the result for the 60 minutes, there were no RBC modifications when the animals were treated with the sweetener solution for 120 minutes.

Figure 8 shows the RBC perimeter/area ratio from animals treated with sweetener solution for different periods. This data confirms the absence of effects of the sweetener solution at a higher dose (50mg/kg) on the RBC morphology with no modifications on the perimeter/area ratio.

The sweetener solution effect on the radiopharmaceutical sodium pertechnetate biodistribution is shown in table 1, indicating sweeteners could significantly increase ($p < 0.05$) the uptake of sodium pertechnetate on kidney in both concentrations used (0.5 and 50 mg/kg). Uptake of this radiopharmaceutical in other organs was not significant ($p > 0.05$).

Table 2 shows the effect of sweetener solution on the radiopharmaceutical ^{99m}Tc -DTPA biodistribution, where sweeteners significantly alter ($p < 0.05$) the radiopharmaceutical distribution in the pancreas, stomach, spleen, muscle and thyroid according to the concentration used (50 mg/kg).

4. Discussion

In vivo sweetener treatments at different doses and for different periods of time were evaluated on blood constituent radiolabeling and on the RBC qualitative and quantitative morphology. Sodium pertechnetate and ^{99m}Tc -DTPA biodistribution was evaluated in animals treated with sweetener at different doses. Sweetener concentrations were used based on studies showing the sucralose plasma peak

concentration in human beings is about 262 ng/ml (ranging 141 to 455 ng/ml) (Roberts et al., 2000) and the peak blood levels occurred between 1.0 to 3 hr after an oral dose in humans (Roberts et al., 2000; Baird et al., 2000).

Radiolabeling assay results show the sweetener solutions did not affect RBC labeling due to any significant modification of 99m Tc distribution between cellular and plasma compartments or 99m Tc fixation on soluble and insoluble of blood cells and plasma fractions (Figures 1 and 2). The cytoplasm membrane transport systems such as the band-3 and calcium channels are involved with the transport of the 99m TcO₄⁻ and Sn⁺² ions, respectively (Callahan and Rabito, 1990; Gutfilen et al., 1992; Sampson, 1996). Based on results of our study, the sucralose sweetener does not interfere with ion transport mechanisms (Sn⁺² and 99m TcO₄⁻).

In fact, there is no qualitative morphological alteration of RBC shape of *Wistar* rats treated with the sweetener (Figures 3 and 4). Absence of effects of the sweetener on RBC shape was confirmed by the quantitative analysis, at least when the perimeter/area ratio of these cells was considered (Figure 5 and 8). These results from qualitative and quantitative RBC morphology analysis are related to absence of effects of sweetener on the uptake or fixation of 99m Tc in these cells. These results are relevant for a better understanding of the actions of the commercial sweetener in blood cell physiology.

The influence on the plasma proteins labeling with 99m Tc is used as assay for evaluating the effects of drugs on these structures (Abreu et al., 2006). Sucralose treatment does not alter the glycated hemoglobin (Grotz et al., 2003; Reyna et al., 2003) and glycosylated hemoglobin or C-peptide levels (Mezitis et al., 1996), as well as the serum biochemistry (Baird et al., 2000), as has been pointed out. This data could be in agreement with the absence of effects of the sweetener solution studied

on the labeling of plasma and cellular proteins with ^{99m}Tc .

The results show that the commercial sweetener with sucralose can alter the uptake of radiopharmaceutical ^{99m}Tc -sodium pertechnetate in kidneys. There was also a significant increase of radioactivity in kidney, spleen and thyroid with *Mentha crispa*, possibly being the effects of the extract and/or by the generation of active metabolites (Santos-Filho et al., 2007).

In view of these findings, there was a necessity to study the effects of the sucralose sweetener on biodistribution of a radiopharmaceutical, such as ^{99m}Tc -DTPA, which is used for renal function evaluation. The results indicate the sweetener changed the uptake of this radiopharmaceutical in different tissues (pancreas, stomach, spleen, thyroid and muscle). However, sweetener with sucralose at higher doses was not able to alter the uptake of ^{99m}Tc -DTPA in the kidneys.

Many of the effects of sucralose sweetener were assumed to be secondary to a decrease in food consumption or the consumption of large amounts of sucralose, a non-nutritive, poorly absorbed and osmotically active substance (Goldsmith, 2000). Caecal enlargement in these cases is a physiological response to the increased osmolarity of the caecal contents. The increased body weight relative to kidney weight may be a physiological response to the altered water balance, which means that the increase in kidney weight may be related to increased water intake (Goldsmith, 2000).

Although this study was carried out with rats treated with sucralose sweetener, the results help to explain the biological sucralose effects, as well as the mechanisms of interaction with cells, transport, excretion and uptake by biological tissues.

In conclusion, a word of caution is necessary in interpreting these examinations in humans when the effect of these sweeteners on radiopharmaceuticals is

considered, since they can alter the Na^{99m}TcO₄ and ^{99m}Tc-DTPA biodistribution.

Acknowledgements

This study was supported by grants and financial support from CAPES, CNPq, FAPERJ, UERJ, INCa and UFRN.

References

- Abreu, P.R., Almeida, M.C., Bernardo, R.M., Bernardo, L.C., Brito, L.C., Garcia, E.A., Fonseca, A.S., Bernardo-Filho, M., 2006. Guava extract (*Psidium guajava*) alters the labelling of blood constituents with technetium-99m. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* (7), 429-435.
- Baird, I.M., Shephard, N.W., Merritt, R.J., Hildick-Smith, G., 2000. Repeated dose study of sucralose tolerance in human subjects. *Fd. Chem. Toxicol.* 38 (S2), 123-129.
- Barcia, J.J., 2007. The Giemsa stain: its history and applications. *Int. J. Surg. Pathol.* 15, 292-296.
- Bello, N.T., Hajnal, A., 2005. Male rats show an indifference-avoidance response for increasing concentrations of the artificial sweetener sucralose. *Nutr. Res.* 25 (7), 693–699.
- Benarroz, M.O., Fonseca, A.S., Rocha, G.S., Frydman, J.N., Rocha, V.C., Pereira, M.O., Bernardo-Filho, M., 2008. *Cinnamomum zeylanicum* extract on the radiolabelling of blood constituents and the morphometry of red blood cells: In vitro assay. *Appl. Radiat. Isot.* 66, 139-146.
- Bernardo-Filho, M., Moura, I.N.S., Boasquevisque, E.M., 1983. 99m Technetium-labeled red blood cells “in vitro”. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 26, 455-461.

Bernardo-Filho, M., Santos-Filho, S.D., Moura, E.G., Maiworm, A.I., Orlando, M.M.C., Penas, M.E., Cardoso, V.N., Bernardo, L.C., Brito, L.C., 2005. Drug interaction with radiopharmaceuticals: a Review. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48, 13-28.

Bustani, H., Colavolpe, C., Imbert-Joscht, I., Havlik, P., Pisano, P., Guillet, B.A., 2009. Chocolate intake associated with failed labeling of (99m)Tc red blood cells. *J. Nucl. Med. Technol.* 37, 107-110.

Callahan, R.J., Rabito, C.A., 1990. Radiolabeling of erythrocytes with technetium-99m: role of band-3 protein in the transport of pertechnetate across the cell membrane. *J. Nucl. Med.* 31, 2004-2010.

Dewanjee, M.K., Rao, S.A., Penniston, J.T., 1982. Mechanism of red blood cell labeling with ^{99m}Technetium-pertechnetate and the role of cation pumps at RBC membrane on distribution and binding of Sn⁺² and ^{99m} Technetium with membrane proteins and hemoglobin. *J. Labeled Compounds & Radiopharmaceuticals.* 11, 1464-1466.

Federal Register, Food and Drug Administration. Sucralose. 64:43908-43909 (1999).

Fonseca, A.S., Frydman, J.N.G., Rocha, V.C., Bernardo-Filho, M., 2007. Acetylsalicylic acid decreases the labeling of blood constituents with technetium-99m. *Acta Biol. Hung.* 58 (2), 187-98.

Goldsmith, L.A., 2000. Acute and Subchronic Toxicity of Sucralose. *Fd. Chem. Toxicol.* 38 (S2), 53-69.

Gomes, M.L., Oliveira, M.B.N., Bernardo-Filho, M., 2002. Drug interaction with radiopharmaceuticals: effect on the labeling of red blood cells with technetium-99m and on the bioavailability of radiopharmaceuticals. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 45, 143-149.

Grice, H.C., Goldsmith, L.A., 2000. Sucralose An Overview of the Toxicity Data. *Fd. Chem. Toxicol.* 38 (S2), 1-6.

Grotz, V.L., Henry, R.R., McGill, J.B., Prince, M.J., Shamoon, H., Trout, J.R., Pi-Sunyer, F.X., 2003. Lack of effect of sucralose on glucose homeostasis in subjects with type 2 diabetes. *J. Am. Dietetics Ass.* 103, 1607-1612.

Grotz, V.L., Munro, I.C., 2009. An overview of the safety of sucralose. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.* 55, 1–5.

Gutfilen, B., Boasquevisque, E.M., Bernardo-Filho, M., 1992. Calcium channel blockers: interference on red blood cells and plasma proteins labeling with Tc-99m. *Rev. Esp. Med. Nucl.* 11, 195-199.

Harel, F., Dupuis, J., Benelfassi, A., Ruel, N., Gregoire, J., 2005. Radionuclide plethysmography for non-invasive evaluation of peripheral arterial blood flow. *Am. J. Physiol. Heart Circulatory Physiol.* 289, H258-H262.

Kille, J.W., Tesh, J.M., McAnulty, P.A., Ross, F.W., Willoughby, C.R., Bailey, G.P., Wilby, O.K., Tesh, S.A., 2000. Sucralose: Assessment of teratogenic potential in the rat and the rabbit. *Fd. Chem. Toxicol.* 38 (S2), 43-52.

Lee, V.S., Rusinek, H., Bokacheva, L., Huang, A.J., Oesingmann, N., Chen, Q., Kaur, M., Prince, K., Song, T., Kramer, E.L., Leonard, E.F., 2007. Renal function measurements from MR renography and a simplified multicompartmental model. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 292, F1548–F1559.

Li, A., Seipelt, H., Muller, C., Shi, Y., Artmann, M., 1999. Effects of salicylic acid derivatives on red blood cell membranes. *Pharmacol. Toxicol.* 85, 206-211.

McNeil Specialty Products Food Additive Petition 7A3987 (1987 - Sucralose).

Mezitis, N.H., Maggio, C.A., Koch, P., Quddoos, A., Allison, D.B., Pi-Sunyer, F.X., 1996. Glycemic effect of a single high oral dose of the novel sweetener sucralose in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 19, 1004-1005.

Moreno, S.R.F., Silva, A.L.C., Diré, G., Honeycut, H., Carvalho, J.J., Nascimento, A.L., Pereira, M., Rocha, E.K., Oliveira-Timóteo, M., Arnobio, A., Olej, B., Bernardo-Filho, M., Caldas, L.Q.A., 2007. Effect of oral ingestion of an extract of the herb Uncaria tomentosa on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 40, 77-80.

Niemeyer, M.G., Van der Wall, E.E., Kuijper, A.F., Cleophas, A.T., Palwels, E.K., 1995. Nuclear cardiology, current applications in clinical practice. *Angiology* 46, 591-602.

Olds, G.D., Cooper, G.S., Chak, A., Sivak, M.V.Jr., Chitale, A.A., Wong, R.C., 2005. The yield of bleeding scans in acute lower gastrointestinal hemorrhage. *J. Clin. Gastroenterol.* 39, 273-277.

Passos, M.C.F., Ramos, C.F., Dutra, S.C.P., Bernardo-Filho, M., Moura, E.G., 2002. Biodistribution of Na^{99m}TcO₄ changes in adult rats whose mothers were malnourished during lactation. *J. Nucl. Med.* 43, 89-91.

Reyna, N.Y., Cano, C., Bermudez, V.J., Medina, M.T., Souki, A.J., Ambard, M., Nunez, M., Ferrer, M.A., Inglett, G.E., 2003. Sweeteners and beta-glucans improve metabolic and anthropometrics variables in well controlled type 2 diabetic patients. *Am. J. Therapeutics.* 10, 438-43.

Roberts, A., Renwick, A.G., Sims, J., Snodin, D.J., 2000. Sucralose Metabolism and Pharmacokinetics in Man. *Fd. Chem. Toxicol.* 38 (S2), 31-41.

Saha, G.B., 2004. Fundamentals of nuclear pharmacy. New York, Springer-Verlag.

Sampson, C.B., 1996. Complications and difficulties in radiolabeling blood cells: a review. *Nucl. Med. Commun.* 17, 648-658.

Santos-Filho, S.D., Maiworm, A.I., Presta, G.A., Paoli, S., Giani, T.S., Bernardo-Filho, M., 2007. Aqueous extract of the medicinal plant *Mentha crispa* alters the biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate in Wistar rats. *Med. Chem. Res.* 16, 230–237.

Sims, J., Roberts, A., Daniel, J.W., Renwick, A.G., 2000. The Metabolic Fate of Sucralose in rats. *Fd. Chem. Toxicol.* 38 (S2), 115-121.

Zhang, J.L., Rusinek, H., Bokacheva, L., Lerman, L.O., Chen, Q., Prince, C., Oesingmann, N., Song, T., Lee, V.S., 2008. Functional Assessment of the Kidney From Magnetic Resonance and Computed Tomography Renography: Impulse Retention Approach to a Multicompartment Model. *Magn. Reson. Med.* 59 (2), 278–288.

FIGURE CAPTIONS

FIGURE 1: Effect of *in vivo* treatment with sweetener on the blood constituent labeling with ^{99m}Tc . (□) Blood cells, (▨) insoluble fraction of plasma, (■) insoluble fraction of blood cells. The values are shown as averages \pm SD.

FIGURE 2: Effect of *in vivo* treatment with sweetener on the blood constituent labeling with ^{99m}Tc . (□) Blood cells, (▨) insoluble fraction of plasma, (■) insoluble fraction of blood cells. The values are shown as averages \pm SD.

FIGURE 3: Photomicrography of blood smear samples from animals treated with saline (control group). The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x1000) after image capture.

FIGURE 4: Photomicrography of blood smear samples from animals treated with the commercial sweetener at the highest dose (50mg/kg) for 60 minutes. The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x 1000) after image capture.

FIGURE 5: Effects of *in vivo* treatment with a commercial sweetener on the perimeter/area ratio of red blood cells. The values are shown as averages \pm SD.

FIGURE 6: Photomicrography of blood smear samples from animals treated with sweetener at 50 mg/kg, immediately after (control group). The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x1000) after image capture.

FIGURE 7: Photomicrography of blood smears from samples of blood from animals treated with the commercial sweetener at the higher dose (50mg/kg), 120 minutes after the treatment. The morphology of red blood cells was evaluated under optical microscopy (x 1000) after image capture.

FIGURE 8: Effects of *in vivo* treatment with a commercial sweetener on the perimeter/area ratio of red blood cells. The values are shown as averages \pm SD.

TABLE FOOTNOTES

TABLE 1: Effects of *in vivo* treatment with a commercial sweetener on the sodium pertechnetate biodistribution. The values are shown as averages \pm SD. (*) $p < 0.05$ when compared with control group.

TABLE 2: Effects of *in vivo* treatment with a commercial sweetener on the ^{99m}Tc -DTPA biodistribution. The values are shown as averages \pm SD. (*) $p < 0.05$ when compared with control group.

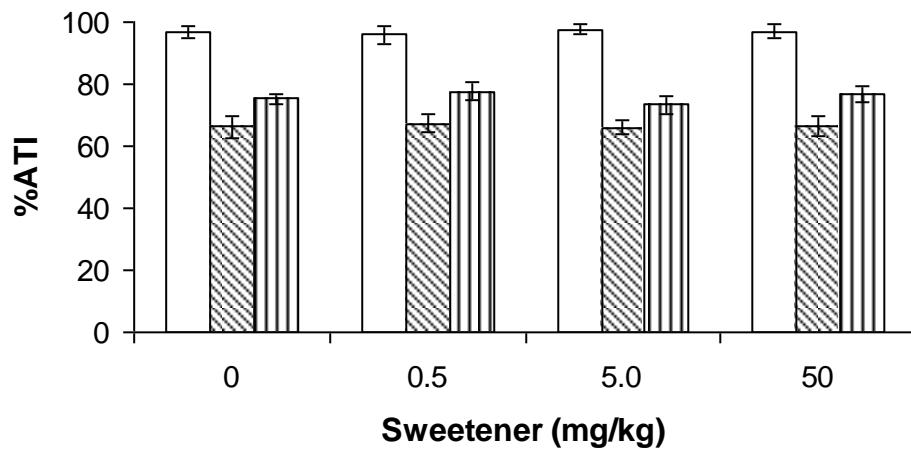
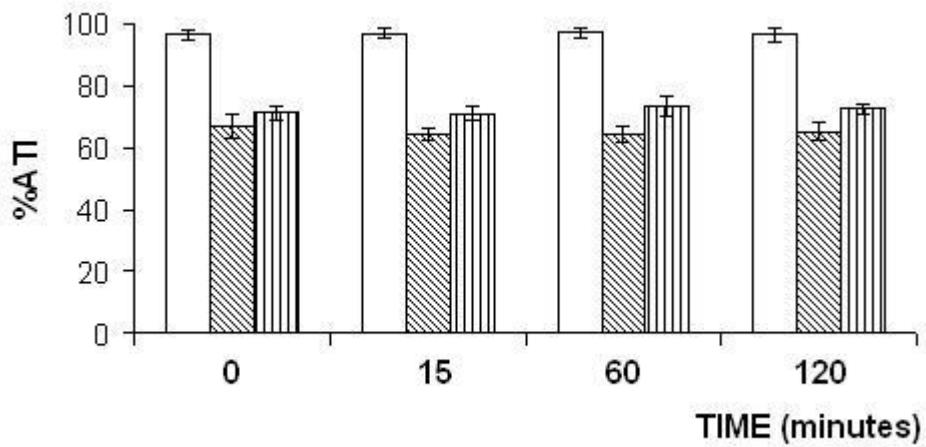
FIGURE 1**FIGURE 2**

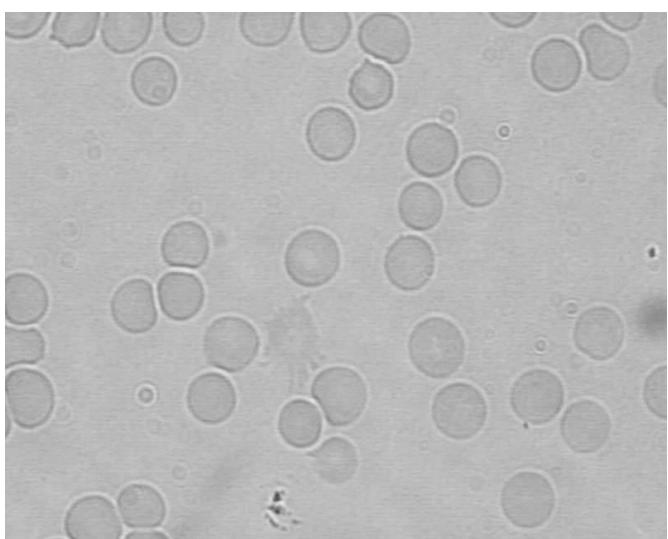
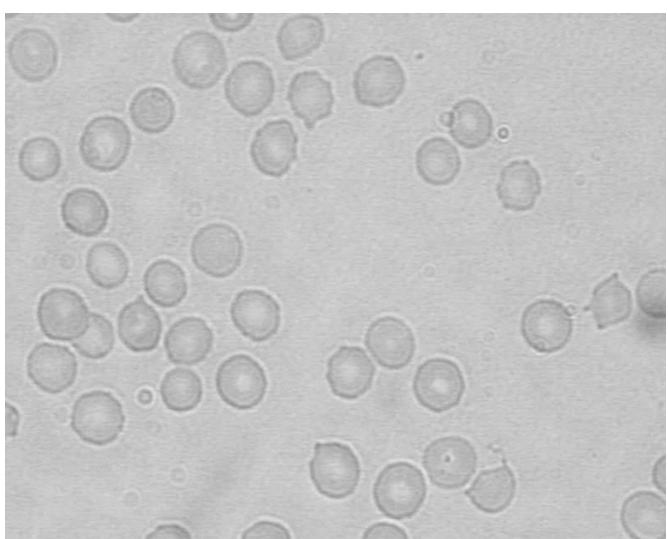
FIGURE 3**FIGURE 4**

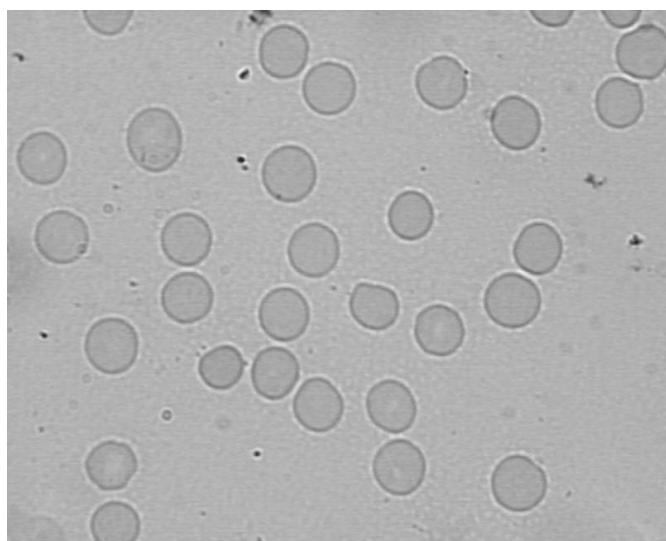
FIGURE 5**FIGURE 6**

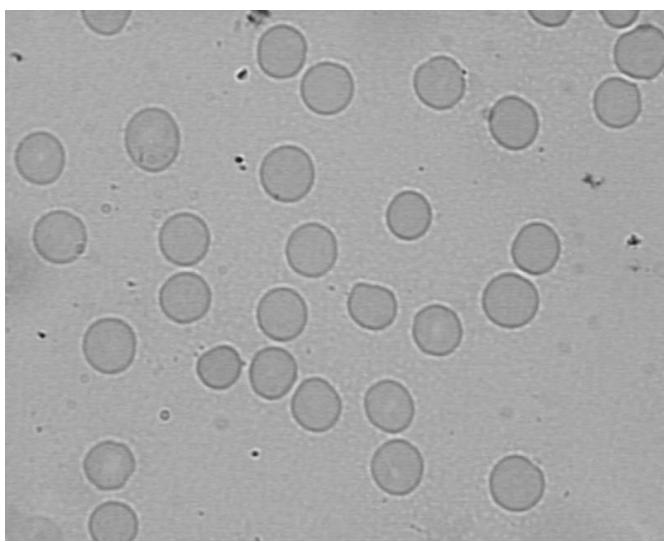
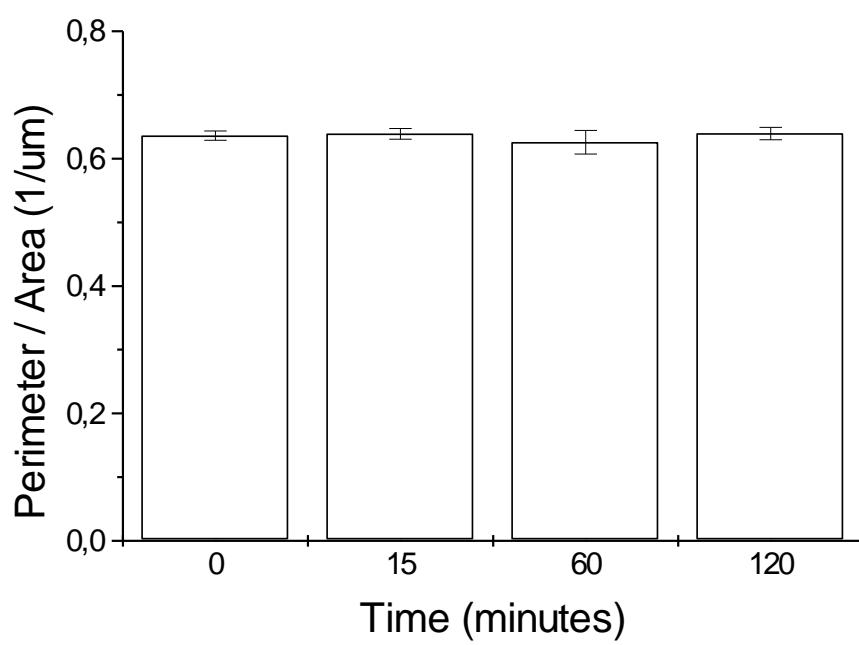
FIGURE 7**FIGURE 8**

TABLE 1: Effects of the sweetener on sodium pertechnetate biodistribution in *Wistar* rats.

Organs and tissues	%ATI/g		
	Sweetener (mg/kg)		
	0.00	0.50	50.00
Pancreas	0.41 ± 0.05	0.41 ± 0.08	0.56 ± 0.07
Testis	0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.01
Stomach	2.77 ± 0.50	1.81 ± 0.18	1.87 ± 0.22
Kidney	0.43 ± 0.04	0.65 ± 0.06 *	0.67 ± 0.05 *
Spleen	0.36 ± 0.02	0.39 ± 0.03	0.39 ± 0.04
Intestine	0.72 ± 0.11	0.76 ± 0.06	0.85 ± 0.06
Heart	0.50 ± 0.03	0.42 ± 0.06	0.50 ± 0.06
Lung	0.91 ± 0.09	1.06 ± 0.22	1.09 ± 0.10
Liver	0.75 ± 0.04	0.83 ± 0.10	0.84 ± 0.11
Thyroid	4.77 ± 0.57	5.61 ± 0.41	5.30 ± 0.59
Bone	0.23 ± 0.02	0.27 ± 0.03	0.26 ± 0.02
Muscle	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.01
Brain	0.04 ± 0.005	0.04 ± 0.004	0.04 ± 0.01
Blood	1.41 ± 0.09	1.39 ± 0.18	1.39 ± 0.11

TABLE 2: Effects of the sweetener on the ^{99m}Tc -DTPA biodistribution in *Wistar* rats.

Organ and tissues	%ATI/g	
	Sweetener (mg/kg)	
	0.00	50.00
Pancreas	0.32 ± 0.14	0.20 ± 0.03 *
Testis	0.13 ± 0.04	0.10 ± 0.03
Stomach	0.40 ± 0.16	0.24 ± 0.12 *
Kidney	2.13 ± 0.84	2.10 ± 0.94
Spleen	0.22 ± 0.09	0.14 ± 0.05 *
Intestine	0.27 ± 0.09	0.28 ± 0.11
Heart	0.33 ± 0.17	0.20 ± 0.07
Lung	0.49 ± 0.14	0.50 ± 0.18
Liver	0.20 ± 0.07	0.17 ± 0.06
Thyroid	0.34 ± 0.04	0.55 ± 0.12 *
Bone	0.19 ± 0.10	0.13 ± 0.02
Muscle	0.20 ± 0.07	0.12 ± 0.05 *
Brain	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
Blood	0.85 ± 0.25	0.56 ± 0.24

4 COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E CONCLUSÕES

A pesquisa experimental tem sido utilizada ao longo dos anos como um veículo para se conhecer e entender mais a respeito do funcionamento do corpo humano, à medida que pesquisas feitas em animais de laboratório, principalmente roedores, como no caso desta tese, servem como base para pesquisas em seres humanos.

Além disso, a tentativa de reproduzir os efeitos em animais de laboratório e relacioná-los a seres humanos é devido à descoberta de novos tratamentos e a prevenção de doenças.

Pesquisadores enfrentam desafios diariamente quando tentam colocar em prática situações complexas do dia a dia. Ao elucidar problemas relacionados à saúde do indivíduo, sem deixar de lado o trabalho ético e profissional, o pesquisador deve aprender com os resultados sejam eles satisfatórios ou não, desempenhando uma visão crítica e um pensamento amadurecido a respeito do objeto da pesquisa.

O Professor com título de doutor vislumbra ter seu próprio grupo de pesquisa, seu laboratório e suas linhas de pesquisa, contudo, depende do apoio de instituições de amparo a pesquisa, que estão cada vez mais atuantes.

O funcionamento de um laboratório também depende financeiramente do apoio de Instituições de Ensino Superior (IES) e pesquisa a fim de garantir o desempenho de seus trabalhos. Progressivamente, as IES estão se envolvendo cada vez mais no compromisso de fomentar projetos de pesquisa.

A participação em congressos científicos e a publicação de artigos em revistas indexadas também é fundamental para o crescimento de um grupo de pesquisa.

Após a obtenção do título, acredita-se que o profissional esteja apto a desenvolver atividades de pesquisa, publicações, projetos e que também seja capaz de ministrar aulas em suas áreas de concentração / especialização, abrindo o

caminho para o mercado de trabalho, fazendo com que o título seja um diferencial em meio a outros profissionais. Além disso, a formação de recursos humanos, orientando alunos, em diferentes níveis (iniciação científica, mestrado e doutorado) é fundamental para a implementação de conhecimentos e desenvolvimento de tecnologia.

Ingressar no Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) foi importante para dar continuidade a minha carreira profissional. Sendo assim, me foi possível aprender e observar mudanças e avanços nesta área de concentração, bem como agregar outros valores, como capacidade de investigação, crítica, aperfeiçoamento e criatividade.

O trabalho experimental foi todo realizado no LRE da UERJ, em uma excelente parceria desempenhada com a UFRN. Os créditos foram obtidos a partir das atividades científicas do LRE / UERJ, participação em congressos e atividades acadêmicas complementares em outros cursos de PG da UERJ.

O aprendizado adquirido com a convivência com alunos de iniciação científica, mestrandos e doutorandos, além de professores doutores e mestres de diferentes cursos e formações constituiu-se em um grande desafio e foi extremamente enriquecedor.

Entretanto, posso considerar que o trabalho desenvolvido com radiofármacos foi de fato difícil, porém, estimulante, bem como escrever artigos científicos e submetê-los para avaliação de revistas internacionais. O trabalho desenvolvido fez parte da linha de pesquisa do LRE do Departamento de Biofísica e Biometria (UERJ).

A escolha do adoçante com sucralose surgiu naturalmente devido a minha

formação acadêmica em Nutrição. A investigação de seus efeitos na marcação de hemácias com ^{99m}Tc , na morfologia das hemácias e na biodisponibilidade dos radiofármacos $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ foi pertinente, pois a sucralose tem sido indicada para consumo entre indivíduos diabéticos, obesos, em restrição calórica ou até mesmo indivíduos ou gestantes com intolerância a glicose.

No tratamento *in vitro* amostras de sangue isoladas de animais foram incubadas com sucralose em diferentes concentrações, após, foi realizada a marcação das hemácias e a análise qualitativa e quantitativa dessas células, modelos amplamente estudados e utilizados no LRE / UERJ. No tratamento *in vivo*, o animal foi tratado com diferentes doses de sucralose em diferentes períodos de tempo e após, realizada a marcação das hemácias e a análise qualitativa e quantitativa dessas células. Como controle, foi utilizada solução salina (NaCl 0,9%).

Para os experimentos de biodistribuição, os animais foram tratados *in vivo* com sucralose em diferentes doses e depois, foi realizada a aplicação do radiofármaco via plexo ocular. No estudo agudo, após 1h da administração do adoçante, o radiofármaco $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ foi injetado, aguardados 10 minutos os animais foram sacrificados em câmaras de gás carbônico, os órgãos foram removidos, pesados e levados ao contador de radioatividade (contador gama). Outros animais foram utilizados para o estudo agudo com o radiofármaco $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ e os mesmos procedimentos foram realizados. No estudo crônico, após 8 dias de tratamento com sucralose em diferentes doses, os animais foram anestesiados, receberam o radiofármaco $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ via plexo ocular e sacrificados após 10 minutos. Os órgãos foram removidos, pesados e a radiação contada em contador gama. O percentual de atividade incorporada por grama de tecido foi calculado nos estudos de biodistribuição. Como controle, foi utilizada solução salina (NaCl 0,9%).

Este trabalho, apesar de ser experimental, tem caráter multidisciplinar, pois foi realizado em colaboração com o Setor de Medicina Nuclear e o Laboratório de Endocrinologia do HUPE / UERJ e através do convênio entre duas Universidades públicas, a UERJ e a UFRN. Essas parcerias possibilitaram novas idéias e perspectivas, além de agregar conhecimentos de diferentes áreas.

Os resultados deste estudo viabilizaram a publicação do artigo científico: "Chronic sucralose sweetener on the labeling of blood constituents with technetium-99m, morphology of red blood cells and on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats" em revista internacional de índice de impacto 0,353 - Brazilian Archives of Biology and Technology publicado no ano de 2008 e classificado em Qualis B internacional.

Outros resultados geraram mais dois artigos: "Sucralose sweetener does not modify radiolabeling of blood constituents and morphology of red blood cells", aceito para publicação na revista internacional de índice de impacto 0,731 – Medicinal Chemistry Research e "In vivo effects of sucralose sweetener on blood constituents radiolabeling, on red blood cell morphology and on radiopharmaceutical biodistribution in rats" submetido para publicação na revista internacional de índice de impacto 1,114 - Applied Radiation and Isotopes.

Além destes, ainda participei da elaboração de outros trabalhos desenvolvidos no LRE / UERJ, que geraram outras publicações, que seguem:

i) Benarroz MO, Fonseca AS, Rocha GS, Frydman JNG, Rocha VC, Pereira MO, Bernardo Filho M. *Cinnamomum zeylanicum* Extract on the Radiolabelling of Blood Constituents and the Morphometry of Red Blood Cells: in vitro assay. Applied Radiation and Isotopes, v. 66, p. 139-146, 2008;

- ii) Benarroz MO, Rocha GS, Pereira MO, Presta GA, Geller M, Fonseca AS, Bernardo Filho M. Effects of *Cinnamomum zeylanicum* Treatment on Radiolabeling of Blood Constituents and Morphology of Red Blood Cells in Wistar Rats. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 51, p. 143-149, 2008;
- iii) Frydman JNG, Rocha VC, Benarroz MO, Rocha GS, Pereira MO, Fonseca AS, Bernardo Filho M. Assessment of effects a *Cordia salicifolia* extract on the radiolabeling of blood constituents and on the morphology of red blood cells. Journal of Medicinal Food, v. 11, 767-772, 2008;
- iv) Frydman JNG, Fonseca AS, Rocha VC, Benarroz MO, Rocha GS, Pereira MO, Pereira MJ, Bernardo Filho M. Acetylsalicylic acid and morphology of red blood cells. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2008 – *in press*;
- v) Pereira MO, Rocha GS, Pereira MJ, Fonseca AS, Bernardo Filho M. Fenoprofen effects on the labeling of blood constituents with technetium-99m on the morphology of red blood cells and on the plasmids. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 51, p. 135-141, 2008.

Verificou-se que a sucralose não altera a marcação de hemácias, isto é, não houve alteração na captação do ^{99m}Tc entre os compartimentos celular e plasmático e na sua fixação nas frações solúveis e insolúveis do plasma e da célula no estudo *in vitro* e nos tratamentos *in vivo* agudo e crônico ($p > 0,05$).

Os resultados obtidos para a análise qualitativa e quantitativa das hemácias nos estudos *in vitro* e nos tratamentos *in vivo* agudo e crônico sugerem que a sucralose não altera a forma nem a razão perímetro / área das hemácias ($p > 0,05$).

Nos estudos de biodistribuição realizados com os radiofármacos $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e $^{99m}\text{Tc-DTPA}$ em ratos tratados com sucralose em diferentes doses, foram observadas alterações significativas na captação do $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ nos rins nas diferentes doses

utilizadas ($p < 0,05$). Já com o radiofármaco ^{99m}Tc -DTPA foram observadas alterações significativas na captação nos seguintes órgãos: tireóide, estômago, baço, músculo e pâncreas ($p < 0,05$).

Não foram observadas alterações na captação do radiofármaco $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ nos órgãos dos animais tratados com sucralose em diferentes doses por um período de 8 dias ($p > 0,05$).

O adoçante com sucralose foi obtido em comércio local (supermercado) em duas versões: pó e líquido. A versão em pó foi utilizada no estudo *in vitro* e diluída imediatamente antes da sua utilização. Nos tratamentos *in vivo* foi utilizado adoçante líquido e diluído conforme as doses estabelecidas para cada estudo imediatamente antes da sua utilização.

Os dados obtidos neste trabalho são relevantes, pois descrevem algumas das interações entre a sucralose e os radiofármacos $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e ^{99m}Tc -DTPA. Além disso, até o momento, não foram encontrados relatos dos efeitos do uso da sucralose sobre radiofármacos, podendo auxiliar na explicação dos efeitos biológicos da sucralose, bem como os mecanismos de interações celulares, transporte, excreção e absorção por células e/ou tecidos.

Embora os resultados apresentados sejam experimentais, podem ser úteis para compreensão de problemas associados à interpretação inadequada de exames de medicina nuclear e/ou à necessidade de repetição deste tipo de procedimento clínico em pacientes que estejam fazendo uso deste adoçante.

A sucralose tem sido muito utilizada por indivíduos em diferentes estados de saúde e idades, tornando relevantes estudos a seu respeito. Portanto, colaborar com o meio científico com informações da pesquisa básica pode, em algum aspecto, trazer esclarecimentos sobre o uso agudo ou crônico de adoçantes artificiais.

Sendo assim, deixo meu sentimento de contribuição para o progresso da ciência e, por conseguinte, para o desenvolvimento da sociedade.

5 APÊNDICE

5.1 Trabalhos apresentados em congressos

- Santos-Filho, S.D.; Pereira, M. O.; Carmo, F.S.; Diniz, C.L; Rocha, G. S. ; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. INFLUENCIA DE UM EXTRATO AQUOSO DE JUGLANS REGIA NA MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUINEOS COM TECNECIO-99M. Publicado nos Anais da XXIV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2009, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Rocha, G. S.; Pereira, M. O.; Pinto, N.S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DE PARAMETROS BIOQUIMICOS DO SANGUE DE RATOS WISTAR TRATADOS COM SUCRALOSE. Publicado nos Anais da XXIV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2009, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Pinto, N.S.; Almeida, D.S.; Carmo, F.S.; Diniz, C.L.; Rocha, G. S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. CONSEQUENCIAS DO EXTRATO AQUOSO DE TRES BAILARINAS NA MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUINEOS COM TECNECIO-99M. Publicado nos Anais da XXIV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2009, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Pinto, N.S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. TRATAMENTO AGUDO COM SUCRALOSE NÃO ALTERA PARAMETROS HEMATOLOGICOS DE RATOS WISTAR. Publicado nos Anais da

XXIV Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2009,
ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Rocha, G.S.; Lombardi, S.S.; Diniz, C.L.; Carmo, F.S.; Pereira, M.O.; Souza, R.S.S.; Manoel, C.V.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. EFEITO DO ADOÇANTE COMERCIAL COM SUCRALOSE NA BIODISPONIBILIDADE DO RADIOFÁRMACO ÁCIDO DIETILENOTIAMINOPENTACÉTICO (DTPA) EM RATOS WISTAR. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Santos-Filho, S.D.; Bernardo, R.M.; Lombardi, S.S.; Pereira, M.O.; Carmo, F.S.; Diniz, C.L.; Rocha, G. S.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. INFLUÊNCIA DE UM EXTRATO AQUOSO DE HYPERICUM PERFORATUM NA SOBREVIVÊNCIA DE ESCHERICHIA COLI AB1157 E NA MOBILIDADE ELETROFORÉTICA DE DNA DE PLASMÍDEO pBSK. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Agostinho, R.T; Diniz, C.L.; Carmo, F.S.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Almeida, D.S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DE EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE GANODERMA LUCIDUM NA MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUÍNEOS COM 99M-TC E NA SOBREVIVÊNCIA DE CULTURAS DE E.COLI AB1157. Publicado nos Anais do VI CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCIÊNCIAS NUCLEARES, 2008, CABO FRIO - RJ. MN METABÓLICA - SUPLEMENTO SBBN 2008.

- Lombardi, S.S; Pereira, M.O.; Carmo, F.S.; Diniz, C.L.; Rocha, G.S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. EXTRATO AQUOSO DE SÁLVIA ALTERA A BIODISPONIBILIDADE DO RADIOFÁRMACO PERTECNETATO DE SÓDIO EM RATOS WISTAR. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Rocha, G.S.; Lombardi, S.S.; Carmo, F.S.; Diniz, C.L.; Pereira, M.O.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO E GENOTÓXICO DO ADOÇANTE COMERCIAL COM SUCRALOSE EM CULTURAS DE E. COLI. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Pereira, M.O.; Diniz, C.L.; Carmo, F.S.; Lombardi, S.S.; Rocha, G.S.; Fonseca, A.S.; Santos-Filho, S.D.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS GENOTÓXICO E CITOTÓXICO DO ANTIINFLAMATÓRIO CETOPROFENO EM PLASMÍDEOS E CULTURAS DE E. COLI. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Lombardi, S.S.; Pereira, M.O.; Carmo, F.S.; Diniz, C.L.; Rocha, G.S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE EXTRATO AQUOSO DE SALVIA OFFICINALIS EM CULTURAS DE E. COLI. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Pereira, M.O.; Lombardi, S.S.; Carmo, F.S.; Diniz, C.L.; Rocha, G.S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS GENOTÓXICO E CITOTÓXICO DO ANTIINFLAMATÓRIO NAPROXENO EM PLASMÍDEOS E CULTURAS DE *E. COLI*. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDÓIA, SP.

- Fonseca, A.S.; Pereira, M J ; Frydman, J. N. G. ; Lombardi, S.S.; Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DA INFLUENCIA DA PRIVAÇÃO DE SONO REM E DO NADO FORÇADO NA MORFOLOGIA DE HEMÁCIAS DE RATOS WISTAR. Publicado nos Anais do I CONGRESSO IBRO/LARC DE NEUROCIENCIAS DA AMÉRICA LATINA, CARIBE E PENINSULA IBERICA, 2008, BUZIOS, RJ. I IBRO/LARC CONGRESS OF NEUROSCIENCES OF LATIN AMERICA, THE CARIBBEAN AND IBERIAN PENINSULA, 2008.

- Diniz, C.L.; Carmo, F.S.; Manoel, C.V.; Rocha, G.S.; Almeida, D.S.; Santos-Filho, S.D.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. EFEITO DO TRATAMENTO AGUDO DA CENTELLA ASIATICA NA BIODISTRIBUIÇÃO DO RADIOFARMACO PERTECNETATO DE SODIO E NA MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUINEOS DE RATOS WISTAR. Publicado nos Anais do VI CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCIENCIAS NUCLEARES, 2008, CABO FRIO, RJ. MN METABOLICA, 2008. v. 10.

- Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Rocha, V.C.; Frydman, J.N.G.; Benarroz, M.O.; Lins, M.C.; Garcia-Pinto, A.B.G.; Ribeiro, C.G.; Pereira, M J ; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. TRATAMENTO CRONICO COM ADOÇANTE COM SUCRALOSE NÃO

ALTERA A BIODISPONIBILIDADE DO RADIOFARMACO PERTECNETATO DE SODIO, A MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUINEOS COM TECNÉCIO-99M E A MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS DE RATOS WISTAR. Publicado nos Anais do VI CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCIENCIAS NUCLEARES, 2008, CABO FRIO, RJ. MN METABOLICA, 2008. v. 10.

- Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Lombardi, S.S; Diniz, C.L.; Carmo, F.S.; Pereira, M.J.; Santos-Filho, S.D.; Geller, M.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DE EFEITOS BIOLOGICOS DO FENOPROFENO NA MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUINEOS COM TECNECIO-99M, NA MORFOLOGIA DE HEMÁCIAS E NA ELETROFORESE DE DNA PLASMIDIAL. Publicado nos Anais do VI CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCIENCIAS NUCLEARES, 2008, CABO FRIO, RJ. MN METABOLICA, 2008. v. 10.

- Benarroz, M.O.; Frydman, J.N.G.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Pereira, M.J.; Geller, M.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. RADIOMARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGUINEOS E MORFOLOGIA DE HEMÁCIAS DE RATOS WISTAR TRATADOS COM EXTRATO DE CINNAMOMUM ZEYLANICUM. Publicado nos Anais do VI CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOCIENCIAS NUCLEARES, 2008, CABO FRIO, RJ. MN METABOLICA, 2008. v. 10.

- Lombardi, S.S.; Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DE EFEITO GENOTÓXICO E ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSOS DE SÁLVIA (SALVIA OFFICINALIS). Publicado nos Anais do X

INTERNATIONAL CONGRESS OF ETHNOPHARMACOLOGY E XX SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2008, SÃO PAULO.

- Diniz, C.L.; Carmo, F.S.; Lombardi, S.S.; Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Fonseca, A.S.; Santos-Filho, S.D.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DO EFEITO CITOTÓXICO DE UM EXTRATO AQUOSO DE CENTELLA ASIATICA EM CULTURAS BACTERIANAS DE ESCHERICHIA COLI. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Benarroz, M.O.; Frydman, J.N.G.; Lins, M.C.; Garcia-Pinto, A.B.G.; Ribeiro, C.G.; Bernardo, R.M.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO DO ADOÇANTE COMERCIAL COM SUCRALOSE NA BIODISPONIBILIDADE DO RADIOFÁRMACO PERTECNETATO DE SÓDIO EM RATOS WISTAR. Publicado nos Anais da XXIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2008, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Benarroz, M.O.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. INFLUÊNCIA DE ANTIINFLAMATÓRIOS DERIVADOS DO ÁCIDO PROPRIÔNICO NA MARCAÇÃO DE CONSTITUINTES SANGÜÍNEOS COM TECNÉCIO-99m. Publicado nos Anais da XXII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2007, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Fonseca, A.S.; Rocha, G.S.; Benarroz, M.O.; Pereira, M.O.; Bernardo-Filho, M. Avaliação do efeito genotóxico e antioxidante de antipiréticos em plasmídeos bacterianos. Publicado nos Anais da XXII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2007, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Benarroz, M.O.; Fonseca, A.S.; Frydman, J.N.G.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Bernardo-Filho, M. ANÁLISE MORFOMÉTRICA COMPARATIVA DE ERITRÓCITOS DE RATOS WISTAR TRATADOS COM EXTRATO AQUOSO DE CANELA: UM ESTUDO IN VITRO E IN VIVO. Publicado nos Anais da XXII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2007, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Benarroz, M.O.; Frydman, J.N.G.; Lins, M.C.; Ribeiro, C.G.; Garcia-Pinto, A.B.G.; Bernardo, R.M.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO AGUDO E CRÔNICO DO ADOÇANTE COMERCIAL COM SUCRALOSE NA BIODISPONIBILIDADE DO RADIOFÁRMACO PERTECNETATO DE SÓDIO EM RATOS WISTAR. 2007. (Apresentação oral de Trabalho/Comunicação). Publicado nos Anais da XXII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2007, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Benarroz, M.O.; Rocha, V.C.; Frydman, J.N.G.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. Influência do tratamento crônico com sucralose na marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m. Publicado nos Anais da

XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006,
ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Benarroz, M.O.; Rocha, V.C.; Frydman, J.N.G.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. Influência do uso do adoçante com sucralose na marcação de constituintes sanguíneos com 99m-Tc. Publicado nos Anais da XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Benarroz, M.O.; Frydman, J.N.G.; Rocha, V.C.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. Avaliação morfométrica de hemácias de ratos wistar tratados com sucralose. Publicado nos Anais da XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Benarroz, M.O.; Frydman, J.N.G.; Rocha, V.C.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. Influência do tratamento agudo com sucralose na marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m. Publicado nos Anais da XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Fonseca, A.S.; Frydman, J.N.G.; Rocha, V.C.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Santos, R.; Bernardo-Filho, M. Influência do nado forçado na marcação de constituintes sanguíneos com Tc-99m. Publicado nos Anais da XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.

- Benarroz, M.O.; Rocha, V.C.; Frydman, J.N.G.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Fonseca, A.S.; Santos, R.; Bernardo-Filho, M. Um extrato aquoso de canela in vitro diminui a marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m. Publicado nos Anais da XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.
- Frydman, J.N.G.; Rocha, V.C.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Pereira, M.J.S.; Benarroz, M.O.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. Avaliação Morfométrica de hemárias de ratos wistar tratados com porangaba: estudo agudo e crônico. Publicado nos Anais da XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.
- Benarroz, M.O.; Rocha, V.C.; Frydman, J.N.G.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Fonseca, A.S.; Santos, R.; Bernardo-Filho, M. Avaliação do tratamento agudo de um extrato aquoso de canela na marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m. Publicado nos Anais da XXI Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006, ÁGUAS DE LINDOIA, SP.
- Lins, M.C.; Duarte, R.; Diré, G.F.; Rocha, G.S.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. The assessment of a Mushroom Extract (*Ganoderma Lucidum*) on the bioavailability of radiopharmaceutical sodium pertechnetate in wistar rats. Publicado nos Anais da revista HPQV: New trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach, 2006, Cabo Frio, RJ. HPQV: New trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach, 2006.

- Rocha, V.C.; Frydman, J.N.G.; Benarroz, M.O.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Pereira, M.J.S.; Fonseca, A.S.; Bernardo-Filho, M. Influência do Tratamento Agudo in vivo com chá verde chinês de *Camellia sinensis* (Banchá) na marcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m e na morfometria das hemácias. Publicado nos Anais da revista HPQV: New trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach, 2006, Cabo Frio, RJ. HPQV: New trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach, 2006.

- Fonseca, A.S.; Frydman, J.N.G.; Rocha, V.C.; Benarroz, M.O.; Rocha, G.S.; Pereira, M.O.; Pereira, M.J.S.; Bernardo-Filho, M. In vitro and in vivo effects of acetylsalicylic acid on morphology of red blood cells. Publicado nos Anais da revista HPQV: New trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach, 2006, Cabo Frio, RJ. HPQV: New trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach, 2006.

- Bernardo, R.M.; Fonseca, A.S.; Benarroz, M.O.; Pereira, M.O.; Rocha, G.S.; Frydman, J.N.G.; Rocha, V.C.; Bernardo-Filho, M. Estudo da Influência de um extrato aquoso de *Bu Yang Huan Wu Tang* na radiomarcação de constituintes sanguíneos com tecnécio-99m. Publicado nos Anais da revista HPQV: new trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach., 2006, Cabo Frio, RJ. HPQV: new trends in health, prevention and quality of life: a multi-professional approach., 2006.

6 REFERÊNCIAS

1. Hossain P, Kawar B, Nahas ME. Obesity and Diabetes in the Developing World – a Growing Challenge. *N Engl J Med* 2007;356:213-215.
2. James WPT. The epidemiology of obesity: the size of the problem. *J Intern Med* 2008;263:336-352.
3. Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the Metabolic Complications of Obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(11 Suppl 1):S64-S73.
4. Neto ANM, Simões MOS, Medeiros ACD, Portela AS, Souza CMP. Obesidade, Envelhecimento e risco cardiovascular no Brasil: possíveis soluções para problemas atuais. *Rev Saúde Com* 2008;4:57-63.
5. Ciampolini M, Lovell-Smith D, Sifone M. Sustained self-regulation of energy intake. Loss of weight in overweight subjects. Maintenance of weight in normal-weight subjects. *Nutr Metabolism* 2010;7:1-12.
6. Grice HC, Goldsmith LA. Sucralose an Overview of the Toxicity Data. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:1-6.
7. Early PJ, Soddee DB. Principles and Practice of Nuclear Medicine. 2nd ed. London: Mosby; 1995.

8. Schillaci O. Single-photon emission computed tomography/computed tomography in lung cancer and malignant lymphoma. *Semin Nucl Med* 2006;36:275-285.
9. Saha GB. Fundamentals of nuclear pharmacy. New York: Springer-Verlag; 2004.
10. Benarroz MO, Fonseca AS, Rocha GS, Frydman JNG, Rocha VC, Pereira MO, et al. *Cinnamomum zeylanicum* extract on the radiolabeling of blood constituents and the morphometry of red blood cells: in vitro assay. *Appl Radiat Isot* 2008;66:139-146.
11. Frydman JNG, Rocha VC, Benarroz MO, Rocha GS, Pereira MO, Fonseca AS, et al. Assessment of effects a *Cordia salicifolia* extract on the radiolabeling of blood constituents and on the morphology of red blood cells. *J Med Food* 2008;11:767-772.
12. Fonseca AS, Frydman JNG, Rocha VC, Bernardo-Filho M. Acetylsalicylic acid decreases the labeling of blood constituents with technetium-99m. *Acta Biol Hung* 2007;58:187-98.
13. Freitas RS, Moreno SRF, Lima Filho GL, Fonseca AS, Bernardo-Filho M. Effect of a commercial extract of *Paullinia cupana* (guarana) on the binding of 99mTc-DMSA on blood constituents: An *in vivo* study. *Appl Radiat Isot* 2007;65:528-533.
14. Oliveira JF, Avila AS, Braga ACS, Oliveira MBN, Boasquevisque EM, Jales RL, et al. Effect of extract of medicinal plants on the labeling of blood elements with technetium-99m and on the morphology of red blood cells: I - a study with *Paullinia cupana*. *Fitoterapia* 2002;73:305-312.

15. Santos-Filho SD, Bernardo-Filho M. Efeito de um extrato de Hipérico (*Hypericum perforatum*) na marcação in vitro de elementos sanguíneos com tecnécio-99m e na biodisponibilidade do radiofármaco pertecnetato de sódio em ratos *Wistar*. *Acta Cir Bras* 2005;20 Supl 1:76-80.
16. Moreno SRF, Silva ALC, Diré GL, Honeycut H, Carvalho JJ, Nascimento AL, et al. Effect of oral ingestion of an extract of the herb *Uncaria tomentosa* on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. *Braz J Med Biol Res* 2007;40:77-80.
17. Federal Register, Food and Drug Administration. Sucralose. 63:70411-70412 (1998).
18. PubMed: www.ncbi.nlm.nih.gov
19. Mezitis NH, Maggio CA, Koch P, Quddoos A, Allison DB, Pi-Sunyer FX. Glycemic effect of a single high oral dose of the novel sweetener sucralose in patients with diabetes. *Diabetes Care* 1996;19:1004-1005.
20. Sims J, Roberts A, Daniel JW, Renwick AG. The Metabolic Fate of Sucralose in rats. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:115-121.
21. Mann SW, Yuschak MM, Amyes SJG, Aughton P, Finn JP. A combined chronic toxicity/carcinogenicity study of sucralose in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:71-89.

22. Nikolelis DP, Pantoulias S. A minisensor for the rapid screening of sucralose based on surface-stabilized bilayer lipid membranes. *Biosensors Bioelectronics* 2000;15:439–444.
23. Federal Register, Food and Drug Administration. Sucralose. 71:15559-15564 (2006).
24. McNeil Specialty Products Food Additive Petition 7A3987. Sucralose. (1987).
25. Kille JW, Tesh JM, McAnulty PA, Ross FW, Willoughby CR, Bailey GP, et al. Sucralose: Assessment of teratogenic potential in the rat and the rabbit. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:43-52.
26. John BA, Wood SG, Hawkins DR. The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the rabbit. *Food Chem Toxicol* 2000a;38 Suppl 2:111-113.
27. John BA, Wood SG, Hawkins DR. The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the mouse. *Food Chem Toxicol* 2000b;38 Suppl 2:107-110.
28. Wood SG, John BA, Hawkins DR. The pharmacokinetics and metabolism of sucralose in the dog. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:99-106.
29. Roberts A, Renwick AG, Sims J, Snodin DJ. Sucralose Metabolism and Pharmacokinetics in Man. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:31-41.

30. Baird IM, Shephard NW, Merritt RJ, Hildick-Smith G. Repeated dose study of sucralose tolerance in human subjects. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:123-129.
31. Goldsmith LA. Acute and Subchronic Toxicity of Sucralose. *Food Chem Toxicol* 2000;38 Suppl 2:S53-S69.
32. Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, Hara A, Mogami H, Nikolaev VO, et al. Sweet Taste Receptor Expressed in Pancreatic b-Cells Activates the Calcium and Cyclic AMP Signaling Systems and Stimulates Insulin Secretion. *PLoS ONE* 2009;4:1-11.
33. Harbert JC, Eckelman WC, Neumann RD. Nuclear Medicine Diagnosis and therapy. New York: Thieme Medical Publishers; 1996.
34. Perkins A, Frier M. Nuclear Medicine in Pharmaceutical Research. London: Taylor & Francis; 1999.
35. Bernardo-Filho M, Santos-Filho SD, Moura EG, Maiworm AL, Orlando MMC, Penas ME, et al. Drug interaction with radiopharmaceuticals: a review. *Braz Arch Biol Technol* 2005;48:13-27.
36. Abreu PR, Almeida MC, Bernardo RM, Bernardo LC, Brito LC, Garcia EA, et al. Guava extract (*Psidium guajava*) alters the labelling of blood constituents with technetium-99m. *J Zhejiang Univ Sci* 2006;B7:429-435.

37. Freitas RS, Moreno SRF, Lima Filho GL, Fonseca AS, Bernardo-Filho M. Effect of a commercial extract of *Paullinia cupana* (guarana) on the binding of 99mTc-DMSA on blood constituents: An in vivo study. *Appl Radiat Isot* 2007;65:528-533.
38. Fonseca AS, Frydman JNG, Rocha VC, Bernardo-Filho M. Acetylsalicylic acid decreases the labeling of blood constituents with technetium-99m. *Acta Biol Hung* 2007;58:187-98.
39. Niemeyer MG, Van der Wall EE, Kuijper AF, Cleophas AT, Palwels EK. Nuclear cardiology, current applications in clinical practice. *Angiol* 1995;46:591-602.
40. Cortes J, Alonso JI, Ruiz-Oliva F, Alvarez S, Ormijana JS, Caton B, et al. Renal cell carcinoma detected on Tc-99m-labeled red blood cell imaging. *Clinical Nuclear Med* 2003;28:920-922.
41. Jin RB, Ma XL, Wen JL, Tang WJ. Application of radionuclide imaging to hepatic impact injury in rabbits. *Chinese J Traumatol* 2004;7:45-48.
42. Wong KT, Beauvais MM, Melchior WR, Snyder SP. Enhanced liver uptake of Tc-99m-labeled RBCs during gastrointestinal bleed scintigraphy using transfused RBCs compared with autologous RBCs. *Clinical Nuclear Med* 2004;29:522-523.
43. Harel F, Dupuis J, Benelfassi A, Ruel N, Gregoire J. Radionuclide plethysmography for non-invasive evaluation of peripheral arterial blood flow. *Am J Physiol Heart Circulatory Physiol* 2005;289:H258-H262.

44. Olds GD, Cooper GS, Chak A, Sivak MVJr, Chitale AA, Wong RC. The yield of bleeding scans in acute lower gastrointestinal hemorrhage. *J Clin Gastroenterol* 2005;39:273-277.
45. Verdu J, Martinez A, Anton MA, Munoz JM, Riera M, Jover R, et al. Increased thallium-201 uptake and Tc-99m red blood cell accumulation in hemangioma. *Clin Nuclear Med* 2005;30:25-26.
46. Zolle I. *Technetium-99m Pharmaceuticals: Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine*. Berlin: Springer; 2007.
47. Dewanjee MK, Rao SA, Penniston JT. Mechanism of red blood cell labeling with ^{99m}Technetium-pertechnetate and the role of cation pumps at RBC membrane on distribution and binding of Sn⁺² and ^{99m}Technetium with membrane proteins and hemoglobin. *J Label Compd Radiopharm* 1982;11:1464-1466.
48. Gutfilen B, Ribeiro BLAR, Mattos MF, Ribeiro CR, Bernardo Filho M. Labeling of thymine with technetium-99m: suggestion of a chemical model. *Braz Arq Biol Tecnol* 1996;39:69-74.
49. Oliveira JF, Oliveira MBN, Avila AS, Braga ACS, Catanho MTJ, Jales RL, et al. Assessment of the effect of *Fucus vesiculosus* extract on the labeling of blood constituents with technetium-99m and the histological modifications on the shape of the red blood cells. *Food Chem Toxicol* 2003;41:15-20.

50. Oliveira JF, Santos-Filho SD, Catanho MTJA, Srivastava SC, Lima-Filho GL, Bernardo-Filho M. Effect of extract of medicinal plants on the labeling of blood elements with technetium-99m and on the morphology of red blood cells (RBC): toxicological actions of roast Coffee Beans (*Coffea arabica*). *Ind J Nucl Med* 2003;18:52-56.
51. Moreno SRF, Rocha EK, Pereira M, Mandarim-Lacerda C, Freitas RS, Nascimento ALR, et al. *Ginkgo biloba* extract: experimental model to evaluate its action on the labeling of blood elements with Technetium-99m and on the morphometry of red blood cells. *Pakistan J Nutr* 2004;3:68-71.
52. Benarroz MO, Rocha GS, Pereira MO, Presta GA, Geller M, Fonseca AS, et al. Effects of *Cinnamomum zeylanicum* treatment on radiolabeling of blood constituents and morphology of red blood cells in Wistar rats. *Braz Arch Biol Technol* 2008;51:143-149.
53. Paoli S, Giani TS, Presta GA, Correa CG, Maiworm AI, Santos-Filho SD, et al. Zinc-oxide-eugenol alters labeling of blood constituents with technetium-99m and shape of red blood cells. *Med Chem Res* 2008;18:373–382.
54. Hardman JG, Molinoff PB, Gilman AG. Goodman & Gilman's: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 9th ed. New York: Mc Graw Hill; 1998.
55. Silveira CM, Castiglioni MLV, Torres ICG, Medeiros RB, Jardim JR. Evaluation of two ^{99m}Tc-DTPA radioaerosols with different characteristics in lung ventilation

studies. *Braz J Med Biol Res* 2003;36:1333-1340.

56. Watanabe N, Tanada S, Sasaki Y. Pulmonary clearance of aerosolized ^{99m}Tc -DTPA in sarcoidosis I patients. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2007;51:82-90.
57. Lee VS, Rusinek H, Bokacheva L, Huang AJ, Oesingmann N, Chen Q, et al. Renal function measurements from MR renography and a simplified multicompartmental model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292:F1548–F1559.
58. Zhang JL, Rusinek H, Bokacheva L, Lerman LO, Chen Q, Prince C, et al. Functional Assessment of the Kidney From Magnetic Resonance and Computed Tomography Renography: Impulse Retention Approach to a Multicompartment Model. *Magn Reson Med* 2008;59:278–288.
59. Hladik III WB, Saha GB, Study KT. Essentials of Nuclear Medicine Science. London: William and Wilkins; 1987.
60. Hesslewood S, Leung E. Drug interactions with radiopharmaceuticals. *Eur J Nucl Med* 1994;21:348-356.
61. Owunwanne A, Patel M, Sadek S. Preparation of radiopharmaceuticals. The handbook of radiopharmaceuticals. London: Chapman & Hall; 1995.
62. Sampson CB. Textbook of radiopharmacy theory and practice. Amsterdam: Gordon and Breach; 1999.

63. Passos MCF, Ramos CF, Bernardo-Filho M, Mattos DM, Moura EG. The effect of protein or energy restriction on the biodistribution of Na^{99m}TcO₄ in Wistar rats. Nucl Med Comm 2000;21:1059-1062.
64. Passos MCF, Ramos CF, Dutra SCP, Bernardo-Filho M, Moura EG. Biodistribution of Na^{99m}TcO₄ changes in adult rats whose mothers were malnourished during lactation. J Nucl Med 2002;43:89-91.
65. Gomes ML, Oliveira MBN, Bernardo-Filho M. Drug interaction with radiopharmaceuticals: effect on the labeling of red blood cells with technetium-99m and on the bioavailability of radiopharmaceuticals. Braz Arch Biol Technol 2002a;45:143-149.
66. Kumakura Y, Danielsen EH, Reilhac A, Gjedde A, Cumming P. Levodopa effect on [18F] fluorodopa influx to brain: normal volunteers and patients with Parkinson's disease. Acta Neurol Scand 2004;110:188-195.
67. Santos-Filho SD, Gomes ML, Diré GL, Lima E, Bernardo-Filho M. Evaluation of the effect of *Mentha crispa* (mint) extract on the bioavailability of the radiopharmaceutical 99mTc sodium pertechnetate in Wistar rats. World J Nucl Med 2004;3:235-239.
68. Moreno SRF, Silva ALC, Diré GL, Honeycut H, Carvalho JJ, Nascimento AL, et al. Effect of oral ingestion of an extract of the herb *Uncaria tomentosa* on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. Braz J Med Biol Res 2007;40:77-80.

ABSTRACT

Molecules and cells are labeled with technetium-99m (^{99m}Tc) and used to obtain images in nuclear medicine. Natural and synthetic drugs interfere with the labeling of blood constituents with ^{99m}Tc . Sucralose is a sweetener used in foods and beverages being indicated for individuals with energy-restricted diets. The aim of this study was to evaluate the effect of the sweetener sucralose on: (i) labeling of blood constituents with ^{99m}Tc ; (ii) morphology of red blood cells; (iii) biodistribution of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) and diethylenetriaminepentaacetic acid labeled with ^{99m}Tc ($^{99m}\text{Tc-DTPA}$) in rats. For *in vitro* study, blood samples from *Wistar* rats were withdrawn and incubated with sucralose at different concentrations. For *in vivo* study, animals were treated with sucralose at different doses and periods of time. After that, radiolabeling procedure was carried out. Blood cells and plasma were separated by centrifugation, soluble and insoluble fractions of blood cells and plasma were isolated by precipitation in trichloroacetic acid and centrifugation. Radioactivity in each fraction was counted and the percentage of incorporated radioactivity (% ATI) was calculated. Blood smears were prepared, fixed, stained and the qualitative and quantitative morphology of the red blood cells was evaluated under optical microscopy. In biodistribution experiments, animals were treated, acute (1 hour) and chronically (8 days), with sucralose at different doses and periods of time. As controls, blood samples and animals treated with 0.9% NaCl. Animals were anesthetized, radiopharmaceuticals were administared by via ocular plexus and, 10 minutes after, the animals were sacrificed, organs and tissues were isolated, radioactivity was counted and percentage of incorporated radioactivity per gram (%ATI/g) determined. *In vitro* and *in vivo* studies of labeling of blood constituents with ^{99m}Tc showed no significant ($p > 0.05\%$) alterations of the % ATI in plasma and blood cells as well as, in

the fixation of ^{99m}Tc on insoluble and soluble fractions of plasma and cells. There was no significant alterations in the morphology of red blood cells. Biodistribution assay showed a significant increase ($p<0.05$) of $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ uptake in kidneys in the acute study. In the chronic study, no significant ($p>0.05\%$) change in the uptake of $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$. Acute sweetener altered significantly ($p<0.05\%$) the % ATI/g of ^{99m}Tc -DTPA in: thyroid, stomach, pancreas, muscle and spleen. In summing up, acute sweetener with sucralose could interfere with the biodistribution of $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ and ^{99m}Tc -DTPA, but could not interfere with the labeling of blood constituents with ^{99m}Tc and morphology of red blood cells. The study was multidisciplinary involving the following areas of knowledge: Radiobiology, Physical Chemistry, Endocrinology, Morphology, Hematology and Nutrition.

Keywords: biodistribution, blood constituents, diethylenetriaminepentaacetic acid, morphology, radiolabeling, sodium pertechnetate, sweetener, *Wistar* rats.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)

[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)

[Baixar livros de Literatura Infantil](#)

[Baixar livros de Matemática](#)

[Baixar livros de Medicina](#)

[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)

[Baixar livros de Meio Ambiente](#)

[Baixar livros de Meteorologia](#)

[Baixar Monografias e TCC](#)

[Baixar livros Multidisciplinar](#)

[Baixar livros de Música](#)

[Baixar livros de Psicologia](#)

[Baixar livros de Química](#)

[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)

[Baixar livros de Serviço Social](#)

[Baixar livros de Sociologia](#)

[Baixar livros de Teologia](#)

[Baixar livros de Trabalho](#)

[Baixar livros de Turismo](#)