

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

**EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS NA PARASITEMIA DE *Trypanosoma cruzi* E
NA BIODISTRIBUIÇÃO DO PERTECNETATO DE SÓDIO ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$)**

ROSEANE PEREIRA DA SILVA

Natal, RN

2009

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

**EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS NA PARASITEMIA DE *Trypanosoma cruzi* E
NA BIODISTRIBUIÇÃO DO PERTECNETATO DE SÓDIO ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$)**

ROSEANE PEREIRA DA SILVA

Dissertação a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, para a obtenção do título de Mestre em Ciência da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Aldo da Cunha Medeiros

Natal, RN

2009

Serviços Técnicos
Catalogação da publicação na fonte.

S586e

Silva, Roseane Pereira.

Efeito de extratos vegetais na parasitemia do *Trypanosoma cruzi* e na biodistribuição do pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$)/Roseane Pereira Silva
____ Natal-RN, 2009.

67f. : il.

Orientador: Profº. Drº. Aldo da Cunha Medeiros.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde.

1. Doença de Chagas - dissertação. 2. *Trypanosoma cruzi* - dissertação. 3.
Aloe vera - dissertação. 4. *Artemisia vulgaris* – dissertação. 5. Tecnécio-99m -
dissertação. I. Medeiros, Aldo da Cunha. II. Título.

UFRN

CDU: 616.9.37(043.2)

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

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
PROF^a. DR^a. TÉCIA MARIA DE OLIVEIRA MARANHÃO**

Natal, RN
2009

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

**EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS NA PARASITEMIA DE *Trypanosoma cruzi*
E NA BIODISTRIBUIÇÃO DO PERTECNETATO DE SÓDIO ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$)**

ROSEANE PEREIRA DA SILVA

PRESIDENTE DA BANCA: Prof. Dr. Aldo da Cunha Medeiros (UFRN)

BANCA EXAMINADORA:

1. Profº. Dr. Irami Araújo Filho
2. Profº. Dr. Toshiyuki Nagashima Júnior

Aprovada em: 14/12/2009

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo Eliezer, aos meus filhos Mateus, Lucas, Tiago e Alice, aos meus pais Luiz e Sevi e a minha irmã Rosilene. Pelo amor e compreensão, dedico-lhes este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Aldo da Cunha Medeiros, meu orientador, agradeço com estima seu apoio e dedicação na orientação deste trabalho, abrindo as portas do Laboratório de Cirurgia Experimental.

À Professora Doutora Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda minha co-orientadora, pela sua confiança, paciência e estímulo constante, por seu exemplo de garra e determinação e por me receber no Laboratório de Ensaios Antiparasitários e de Radiobiologia Experimental para a realização de parte da prática deste trabalho.

Ao Professor Doutor José Brandão Neto, pela indicação de meu nome para orientação pelo Prof. Aldo Medeiros.

À colega bióloga Vanessa Santos de Arruda Barbosa, pela ajuda diária, amizade e ensinamentos profissionais e científicos durante todos estes anos de convívio.

À Professora Doutora Antônia Cláudia Jácome pela doação da cepa de *Trypanosoma cruzi*.

Ao Professor Doutor Cícero Flávio Soares Aragão pela elaboração dos extratos ministrados.

À Professora Doutora Maria Helena Constantino Spyrides pelo apoio nos estudos estatísticos.

À Professora Doutora Maria Iracema B. Loiola pela identificação e catalogação da *Aloe vera*, no Herbário do Centro de Biociências/UFRN.

Aos alunos de graduação: Elias Herculano de Oliveira, Daniel Pereira de Oliveira, Natália Alves Lima, Maurício Ferreira da Silva Júnior, Raphaella Cavalcante Alves, Monique Batista da Costa e Natália Chilinque Zambão da Silva, e também ao técnico de laboratório Ítalo Medeiros, pela colaboração na realização dos experimentos.

À LIGA Norteriograndense Contra o Câncer, nas pessoas de Kércia Regina Santos Gomes Pereira e Maria Kadja Meneses Torres Açucena, pela doação do tecnécio-99m.

Ao meu querido esposo, Eliezer, pelo seu companheirismo, paciência, amor e compreensão. Pelas renúncias pessoais feitas no intuito de me proporcionar a tranquilidade e dedicação necessárias para realização deste trabalho, e pelas tentativas de me substituir em casa diante de nossos filhos, principalmente dos menores.

Aos meus amados filhos: Mateus (pela ajuda nos gráficos e tabelas) e Lucas, Tiago e Alice, nascidos durante o desenvolvimento desta pós-graduação, que me serviram de incentivo para a conclusão desta etapa da minha vida acadêmica.

À minha irmã Rosilene que, mesmo distante geograficamente, se fez tão presente, sempre me incentivando e torcendo pelo meu sucesso.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde (UFRN) pela grande oportunidade de crescimento científico.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

E a Deus, por toda sua força tão necessária para as superações dos obstáculos surgidos no trilhar deste estudo.

Muito obrigada

Roseane Pereira

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 DOENÇA DE CHAGAS	4
2.2 BENZONIDAZOL	5
2.3 <i>Artemisia vulgaris</i>	5
2.4 CINTILOGRAFIA	5
2.5 TECNÉCIO	6
3. ANEXAÇÃO DO ARTIGO PUBLICADO	9
3.1 ARTIGO PUBLICADO	9
4. COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E CONCLUSÕES	16
5. APÊNDICE	20
5.1 OUTRAS PUBLICAÇÕES	20
5.2 RESULTADOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS	47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ABSTRACT.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

%ATI	percentagem de radioatividade ou da atividade total injetada
$\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$	perteconetato de sódio
$^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$	molibdênio marcado com o ^{99m}Tc
^{99m}Tc	isótopo metaestável do elemento tecnécio de número de massa 99
ANOVA	análise de varância
AV	<i>Artemisia vulgaris</i>
Anti – TC	anti <i>Trypanosoma cruzi</i>
Bq	bequerel (unidade de atividade de amostra radioativa no Sistema Internacional sendo que 1 Bq equivale a uma desintegração por segundo)
BZ	Benzonidazol
dL	decilitro
ELISA	Enzyme Linked Imuno Sorbent Assay
g	grama
IgG	imunoglobulina G
KeV	Kiloelectronvolt
MBq	Megabequerel
mL	mililitro
p	significância estatística
TC	<i>Trypanosoma cruzi</i>
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
U/L	unidade por litro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Forma tripomastigota sanguínea de <i>Trypanosoma cruzi</i>	1
Figura 2 - Triatomíneos, durante o ato de hematofagismo	1
Figuras 3a e 3b - Aspectos gerais das plantas <i>Artemisia vulgaris</i> e <i>Artemisia annua</i> , respectivamente, (folhas e flores)	2
Figura 4 - Aspectos gerais da planta <i>Aloe vera</i> (folhas e inflorescência)	3
Figura 5 - Foto de um gerador portátil de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$	6

RESUMO

Artemisia vulgaris (AV) é um vegetal com propriedades antihelmíntica e antimalária; *Aloe vera* (babosa) tem ação antidiabética, laxante e anti-inflamatória; *Benzonidazol* (BZ) é um tripanomicida. O tecnécio-99m (^{99m}Tc), na forma de perteconetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$), tem sido usado na medicina nuclear para obtenção de imagens diagnósticas. Este estudo avaliou o efeito de plantas na parasitemia do *T. cruzi* e na biodistribuição do ^{99m}Tc em camundongos. Vinte camundongos foram infectados por *T. cruzi*. No pico da parasitemia, 5 camundongos foram tratados com extrato aquoso de babosa, 5 AV e 5 BZ. A parasitemia foi determinada durante os tempos 0, 2, 4 e 6 horas após administração das drogas. Cinco camundongos infectados e que não receberam drogas, 5 camundongos não infectados e o grupo tratado com AV receberam $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$. O percentual de Atividade Total Injetada nos órgãos (%ATI), correspondente à energia gama emitida ou radioatividade, foi calculada no contador gama. Os camundongos infectados que receberam babosa reduziram significativamente ($p<0,05$) a parasitemia. A porcentagem da radiatividade total (%ATI) diminuiu significativamente no grupo tratado com AV. Estes resultados indicam que a babosa possivelmente é uma droga anti-*T. cruzi* e a AV reduz a %ATI provavelmente devido seus efeitos biológicos. Este trabalho teve a participação de pesquisadores das áreas de Parasitologia, Estatística, Cirurgia, Medicina Nuclear e Análises Clínicas, atestando seu caráter multidisciplinar.

1 INTRODUÇÃO

A tripanossomíase americana ou doença de Chagas (DC) é uma infecção parasitária causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (Figura 1) e transmitida ao homem pela deposição de tripomastigotas metacíclicos, eliminadas nas fezes ou urina de triatomíneos (Figura 2), durante o ato de hematofagismo¹.



Figura 1 – Forma tripomastigota sanguínea de *Trypanosoma cruzi*.

(Fonte: pt.wikipedia.org)



Figura 2 - triatomíneo, durante o ato de hematofagismo.

(Fonte: biojornal.blogspot.com.br)

Os principais processos patológicos induzidos pelo parasito nos vertebrados são: a resposta imunoinflamatória, as lesões celulares e a fibrose tecidual^{1,2}. Seu tratamento visa à erradicação do parasito e, assim, no Brasil, o fármaco usado desde a década de 1970 contra o *T. cruzi*, na doença de Chagas humana, é o benzonidazol (comercialmente, Rochagan[®])^{2,3}.

No tocante ao seu diagnóstico, vários exames podem ser solicitados tais como: raios x, o eletro e ecocardiogramas, endoscopias e cintilografias. Os métodos parasitológicos na prática são utilizados para o diagnóstico da fase aguda, quando a parasitemia é intensa, como o exame a fresco, gota espessa, esfregaço corado, creme leucocitário e xenodiagnóstico. Na fase crônica, utiliza-se mais freqüentemente os métodos de detecção de anticorpos circulantes (IgG) e dentre os conhecidos, os mais utilizados são o ELISA, a imunofluorescência e a hemaglutinação indireta^{3, 4}.

É milenar o uso de algumas plantas como fitoterápico, pela medicina popular, contra doenças humanas. Seu uso vem crescendo em todo o mundo, pois ainda muitas pessoas estão longe do alcance da medicina moderna. Alguns exemplos podem ser destacados, como o uso de antigas plantas da medicina chinesa, *Artemisia vulgaris* (Figura 3a) e *Artemisia annua* (Figura 3b), que têm se apresentado eficazes contra *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*, parasitos da malária humana^{5, 6, 7}.



3a



3b

Figuras 3a e b – Aspectos gerais da *Artemisia vulgaris* e *Artemisia annua*, respectivamente (folhas e flores). (Fonte: upload.wikimedia.org)

Outro exemplo de fitoterápico utilizado na medicina popular brasileira advém da planta *Aloe vera* (Figura 4), comumente conhecida por “babosa”.



Figura 4 – Aspectos gerais da *Aloe vera* (folhas e inflorescência). (Fonte: mmflp.com)

A medicina nuclear é uma especialidade médica que usa radioisótopos para diagnóstico por imagem ou terapia, permitindo observar o estado anátomo-morfológico dos órgãos e tecidos, de forma não invasiva, através da marcação de moléculas participantes nesses processos fisiológicos com marcadores radioativos⁸. Para realização de exames de cintilografias na medicina nuclear é utilizado o radiofármaco perteценato de sódio, marcado com tecnécio-99m, que após ser administrado se distribui pelos órgãos e tecidos do paciente. Entretanto, alguns fatores podem alterar a biodistribuição normal de um radiofármaco, dentre eles: cirurgias, dietas, uso de medicamento naturais e/ou sintéticos, radioterapias^{9, 10}.

A proposta deste estudo foi avaliar o efeito de extratos de plantas medicinais na parasitemia de *Trypanosoma cruzi* e na biodistribuição do Na^{99m}TcO₄ em camundongos suíços infectados com a cepa Y de *T. cruzi*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas é um problema médico-social grave em nosso país, extendendo-se por vários países da América-Latina, atingindo cerca de 10 milhões de indivíduos, com cerca de 300 mil novos casos por ano ¹¹. Era uma doença exclusivamente de animais roedores e triatomíneos silvestres. Posteriormente, passou para o homem na medida em que este modificou o ciclo silvestre ao construir sua moradia na zona rural. Os triatomíneos adaptaram-se e colonizaram estas moradias e aos poucos foram atingindo as zonas periurbanas e urbanas. Praticamente não há lesões na interação do *T. cruzi* com o inseto vetor, mas nos seres humanos essa interação constitui um problema preocupante pela quantidade do dano envolvido, ou seja, pela sua morbimortalidade ¹. É uma enfermidade de caráter endêmico com quadros clínicos variados, onde se destacam, por sua gravidade, a cardiopatia chagásica e a dilatação de órgãos cavitários como o megacôlon e o megaesôfago ^{1, 2}.

De um modo geral, reconhece-se a presença de três fases na doença de Chagas: aguda, crônica indeterminada e crônica determinada. Após o período de incubação de cerca de sete a dez dias, inicia-se a fase aguda, geralmente assintomática, sendo reconhecida em cerca de, apenas, um a dois por cento dos casos¹. É nas crianças, menores de dois anos, que a fase aguda é mais grave, nas quais, na ausência de tratamento, a letalidade pode chegar a 10%. Após quatro a dez semanas, inicia-se a fase crônica indeterminada, caracterizada pela ausência de manifestações clínicas, radiológicas e eletrocardiográficas. Alguns pacientes permanecem nessa fase indefinidamente, mas outros, geralmente após intervalo de 10 a 20 anos, evoluem para

alguma das fases crônicas determinadas da doença, com aparecimento de evidências de comprometimento cardíaco, digestivo ou neurológico ¹².

2.2 BENZONIDAZOL

O benzonidazol atua contra as formas sanguíneas e tissulares do protozoário, porém apresenta a desvantagem de ser administrado durante um longo período de tempo (30, 60 ou até 90 dias), além de não curar 100% dos casos (baixa eficácia) e de apresentar uma alta toxicidade ¹². Pode-se dizer, então, que a terapêutica da DC encontra-se ainda em fase experimental, visto que as drogas utilizadas não conseguem promover uma cura definitiva ^{2, 13}.

2.3 *Artemisia vulgaris*

Os derivados da *Artemisia vulgaris* (artemisina, artesunato, dihidroartemisina) são metabolizados e eliminados rapidamente do organismo humano e induzem a uma rápida redução dos plasmódios humanos ^{7, 14}. Entretanto, não há relatos na literatura científica sobre sua ação tripanosomicida (anti-*T. cruzi*).

Há relatos de vários estudos científicos sobre a utilização da *Aloe vera* como estimulante na cicatrização de feridas, no tratamento de queimados graves em hospitais, no combate a determinadas infecções gastrintestinais e urinárias, como analgésico e em muitos outros casos ^{15, 16}. Da mesma forma que a artemisina, não se conhece ainda sua ação tripanosomicida sendo, por isso, quase inexistentes os dados na literatura científica a esse respeito.

2.4 CINTILOGRAFIA

A cintilografia, um dos exames diagnósticos para a doença de Chagas, faz parte da grande variedade de exames realizados pela medicina nuclear, proporcionando uma análise anátomo-morfuncional de órgãos e tecidos através do uso de radiofármacos, tendo como radionuclídeo o tecnécio-99m ^{8, 9, 10}.

A energia gama é utilizada na grande maioria dos exames em medicina nuclear, sendo detectada por um equipamento apropriado, a gama Câmara. O principal radionuclídeo emissor de energia gama utilizado em medicina nuclear é o tecnécio-99m (^{99m}Tc), usado para a obtenção de imagens cintilográficas do tipo SPECT (*Single Photon Emission Computed Tomography*). O ^{99m}Tc é bastante utilizado no diagnóstico de imagens de tireóide, estômago, plexo coroide e glândulas salivares^{8, 9, 10}.

2.5 TECNÉCIO

O ^{99m}Tc é um elemento artificial obtido a partir do decaimento radioativo do molibdênio em geradores portáteis de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ (Figura 5) na forma de pertecnetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$). Pode ligar-se a diferentes substratos ou ligantes, por reação de complexação, originando fármacos radioativos com afinidade por diferentes órgãos, sistemas ou receptores no organismo. É um excelente radiotraçador, possuindo vantagens em relação a outros radionuclídeos, tais como: uma emissão gama fótica de 140 keV, com 89% abundância, perfeito para a obtenção de imagens em câmeras gamas usadas na medicina nuclear, uma meia-vida curta de 6 horas, baixo custo, baixo impacto ambiental e baixa absorção da dose de radiação para o paciente e para os profissionais envolvidos no exame^{8, 17}.



Figura 5 - Foto de um gerador portátil de $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$. (Fonte: fcf.usp.br)

Radiofármacos são fármacos radioativos utilizados no diagnóstico ou tratamento de doenças e disfunções do organismo humano. Um radiofármaco incorpora dois componentes, um radionuclídeo, ou seja, uma substância com propriedades físicas adequadas ao procedimento desejado (partícula emissora de radiação beta, para terapêutica; ou partícula emissora de radiação gama, para diagnóstico) e um vetor fisiológico, isto é, uma molécula orgânica com fixação preferencial em determinado tecido ou órgão. O radiofármaco deposita-se no órgão ou tecido alvo e imagens podem ser adquiridas a partir da detecção da radiação proveniente do paciente, utilizando-se equipamentos apropriados^{10, 17, 18}.

A biodistribuição de um radiofármaco pode ser alterada pela utilização de drogas, doenças, intervenções cirúrgicas e radioterapia. Ou seja, um paciente que esteja em tratamento com uma droga e venha a fazer um exame, como a cintilografia, pode ter essa biodistribuição alterada. Por isso, uma maior atenção tem sido dada aos diagnósticos com compostos farmacológicos marcados com isótopos radioativos, para que os resultados obtidos não sejam inadequados, o que acarretaria uma má interpretação dos exames, devido a um comportamento não esperado, apresentado pelo radiofármaco^{9, 19}.

É de grande importância as imagens obtidas em medicina nuclear, sendo fundamental o conhecimento da possibilidade da interação medicamentosa com radiofármacos. Caso esta interação seja desconhecida, pode acarretar diagnósticos equivocados de doenças, com graves consequências ao acompanhamento do paciente, além de ocasionar uma repetição do exame, levando a um aumento de dose de radiação para o paciente e para os profissionais envolvidos^{8, 9, 10, 18}. Uma das maneiras de se otimizar a condição de interação medicamentosa é a integração de vários profissionais no intuito de desenvolver modelos que permitam identificar a

possibilidade desse fenômeno e repassar o conhecimento adquirido, evitando erro em determinados tipos de diagnósticos.

3 ANEXAÇÃO DO ARTIGO PUBLICADO

3.1 Artigo publicado

Effect of medicinal plants on the parasitemia of *Trypanosoma cruzi* and on the biodistribution of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$)

Roseane Pereira da Silva, Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda, Vanessa Santos de Arruda Barbosa, Daniel Pereira de Oliveira, Natália Alves Lima, Antônia Cláudia Jácome da Câmara, Aldo da Cunha Medeiros e Maria Helena Spyrides Constantino

Brazilian Archives Biology and Technology

Vol. 51, Special Number: pp 209-214, 2008

Effect of Medicinal Plants on the Parasitemia of *Trypanosoma cruzi* and on the Biodistribution of Sodium Pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$)

Roseane Pereira da Silva^{1*}, Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda^{2,4}, Vanessa Santos de Arruda Barbosa¹, Daniel Pereira de Oliveira², Natália Alves Lima², Antônia Cláudia Jácome da Câmara², Aldo da Cunha Medeiros^{1,3} and Maria Helena Spyrides Constantino⁵

¹Centro de Ciências da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Nilo Peçanha, s/n; 59012300; roseanebiol@bol.com.br; Natal - RN - Brasil. ²Departamento de Microbiologia e Parasitologia; Centro de Biociências; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Salgado Filho, 3000; 59078970, Natal - RN - Brasil. ³Departamento de Cirurgia; Centro de Ciências da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. General Gustavo Cordeiro de Farias, s/n; 59010180; Natal - RN - Brasil. ⁴Hospital Universitário Onofre Lopes; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Nilo Peçanha, s/n; 59012300; Nata I- RN - Brasil.

⁵Departamento de Estatística; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Salgado Filho, 3000; 59078970; Natal - RN - Brasil

ABSTRACT

Artemisia vulgaris (AV) is an antihelmintic and antimarial drug; *Aloe vera*(babosa) acts as antidiabetic, laxative and anti-inflammatory; Benznidazole (BZ) is a trypanocidal of *Trypanosoma cruzi* (TC). Technetium-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) has been used in nuclear medicine to obtain diagnostic images. This study evaluated the plant effects in TC parasitemia and on the biodistribution of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ in mice. Twenty mice were infected by TC. At the peak of parasitemia, 5 mice received babosa; 5 received AV and 5 received BZ. The parasitemia was determined at 0, 2, 4 and 6 h of drugs administration. Five infected mice without drugs, 5 mice without TC and the group treated with AV, received $^{99\text{m}}\text{Tc}$. The radioactivity was calculated. Infected mice that received babosa reduced significantly ($p<0.05$) the TC parasitemia. The percentage of activity per gram (%ATI/g) decreased significantly on the AV group. These results indicate that babosa possibly is an anti-TC drug and AV reduces the %ATI/g probably due to its biological effects.

Keywords: *Aloe vera*, *Artemisia vulgaris*, technetium-99m, *Trypanosoma cruzi*, parasitemia, biodistribution

INTRODUCTION

The Chagas' disease is a protozoan infection caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* and transmitted by the depositing of metacyclic triatomastigotes, eliminated in the feces and urine

of the several species of triatomine bugs, during the hematophagism phase (Cançado, 2005; Coura and Castro, 2002). It is an endemic Latin America parasitosis which affects 18 million individuals, with 300 thousand new cases every year (WHO, 2003) and persists for the lifetime of the human/mammalian host. This disease is

* Author for correspondence

characterized by an acute phase with detectable parasitemia and a long-lasting asymptomatic phase, generating megacolon, megaesophagus and chagasic heart disease (Santos et al., 2005; Teixeira et al., 2006). Treatment includes eradicating the parasite with Benznidazole, commercially known as Rochagan®, a drug with specific anti-*T. cruzi* activity *in vivo* and *in vitro*, available in Brazil since the 1970's (Coura and Castro, 2002). The use of certain plants as phytotherapy has been a millennial practice in folk medicine. Its use has gained enormous popularity around the world, as modern medicine is beyond the reach of many people. The *Artemisia vulgaris* and *Artemisia annua* are examples of ancient plants in Chinese medicine that has shown to be very effective against *Plasmodium falciparum* and *P. vivax*, malaria parasites in humans (Meschinick and Dobson, 2001). *A. vulgaris* is metabolized and eliminated rapidly from the human organism and induce a rapid reduction of these species of *Plasmodium* (Meschinick, 1998; Meschinick and Dobson, 2001). However, there are no reports in the scientific literature about its tripanosomicidal action (anti-*T. cruzi*). Another example of phytotherapy, widely used in Brazilian folk medicine, is the *Aloe vera* plant, known as "babosa". It is a tropical or sub-tropical plant from North Africa and has been used over the years to treat various ailments and have been referred to as the "miracle" plant. It has been suggested that the extract of the plant promotes healing of diseases through the complex synergistic interaction of many substances, and some specially prepared *A. vera* extracts possess some biological activities such as antiinflammation, anti-cancer, anti-diabetes, macrophage activation, combat gastrointestinal infections and urinary infections, as an analgesic and more (Reynolds and Dweck, 1999). However, its effect anti-*T. cruzi* is not known until the moment. Studies are being developed to discover drugs that provoke the complete eradication of the *Trypanosoma cruzi*, not only through the elimination of tecidual forms (amastigotes) such as blood (tripomastigotes) and the 100% cure of cases in Brazil.

Nuclear medicine (NM) is the medical specialty that uses radioactive isotopes to diagnose through images or therapy. The role of radionuclide technetium-99m (^{99m}Tc) in the diagnostic field of MN is already well established. This is due to its chemical versatility and nuclear properties such as the emission of a single photon gamma (140 keV)

and with 89% abundance, perfect for obtaining the images in gamma cameras used in NM (Saha, 2004; Bernardo-Filho et al. 2005). Its short half-life (6 hours) is enough to acquire excellent studies of images, to prepare radiopharmaceuticals, to minimize the dose of radiation for the patient, to have an almost nonexistent environmental impact, besides being an ideal radiotracer. The rapid growth of this field in the last decades is attributed to its ideal physicochemical characteristics and to it being easy to obtain from a portable generator of $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ in the form of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) and can be lyophilized in kits to form labeled compounds with ^{99m}Tc in hospital or radiopharmacy clinic (Banerjee et al., 2001; Saha, 2004).

The aim of this study was to evaluate the effect of medicinal plant extracts on the parasitemia of *T. cruzi* and on the biodistribution of the $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ in mice infected with the *Y* strain of *T. cruzi*.

MATERIALS AND METHODS

Twenty-five male Swiss mice weighing 18-20g from Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal-RN, Brasil, were used. The protocol was conducted in accordance with Brazilian College of Animal Experimentation guidelines and was approved by the Research Ethics Committee of Onofre Lopes Hospital-UFRN (182/2008). The animals had free access to water and standard food for rodents (Labina Purina®) and were randomly allocated to 2 groups: control and treated. The animals were divided, randomly, in groups of 5 mice each. Twenty mice were infected intraperitoneally, with a suspension containing 1×10^5 tripomastigotes blood parasites /mL of the *Y* strain of *T. cruzi*. Group 1 was used as the control group, being infected experimentally with *T. cruzi* and not treated. Group 2 was also a control group, but neither infected nor treated with drugs. Groups 3, 4 and 5 were infected with *T. cruzi* and received orally (gavage), respectively, 0.25mL of an aqueous *A. vera* (5mg/mL/day), 0.25mL of Benznidazole (5mg/Kg/day), diluted in sorbitol, and 0.25mL of hydroalcoholic extract of *A. vulgaris* (5mg/mL/day). To evaluate the parasitemia of each animal, whole blood of the mice was used and the parasites were counted according to Brener (1962). The mice were infected with *Y* strain of *T. cruzi* provided by the

René Rachou Research Center (CPqRR), FIOCRUZ, Belo Horizonte-MG. The parasitemic curve of the animals was tracked daily, from the 4° to the 12° day of the parasite infection, with the purpose to observe its growth and, thus, determine the parasitemic peak, which occurred between the 7th and the 9th days. The parasitemia of each animal was determined after 3 measuring in three observations. The number of circulating triatomastigotes was counted according to Brener (1962), which consisted in examining 5 µL of peripheri blood, taken by incision in the tail of each animal, in 50 field microscopes and using lamina and laminula, with increase of 400 times. After the counting of the parasites, the number found was multiplied by a correction factor corresponding to 80 (Brener, 1962). In this study, the parasitemia was achieved during the measure of time: 0 (before administering the drugs) and 2, 4 and 6 hours after its use. The group treated with Benznidazole was considered as the control group owing to its trypanosomicide action, which has been recognized since the 1970's. The results obtained in the parasitemia study were analyzed statistically by the parametric ANOVA test and the level of significance to $p<0.05$. Before the administration of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$), heparinized blood was withdrawn from infected and treated animals with each drug, and from infected and untreated animals (control group 1), by cardiac puncture, under anesthesia. The biochemical dosages were performed in automated equipment TermoKoneLab 60i, Abbott and analyzed by Student's t-test, considering the level of statistical significance at $p<0.05$ in both tests. Statistica 6.0 software was used. Data were presented as mean \pm standard deviation.

After observation of the parasitemia and blood collection, a study of biodistribution of $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ was done. For this, 5 animals infected and treated with *A. vulgaris* were used, as well as, 5 infected and not treated (control group 1) and 5 not infected and not treated (control group 2). All of these animals received, by orbital plexus via, 0.1mL of $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (3.7MBq), recently eluted from the generator of $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ (*Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares*, São Paulo, Brasil). After 60 minutes, all animals were quickly killed under anesthesia. Samples were harvested from the brain, heart, intestines, spleen, liver, bladder, femur, lungs, kidneys and blood. The tissue samples were washed in 0.9% saline, weighed on a precision scale (Mark 160®, Bel equipment, Italy) and the percentage of radioactivity per gram of tissue (%ATI/g) was determined in an automatic gamma counter (Wizard 1470, Perkin-Elmer, Finland). The efficiency of the gamma counter was 86%, as specified by the manufacturer. The results of the study of the biodistribution were compared to their control groups and the statistical analysis was done using the non-parametric Mann-Whitney ($p<0.05$) test. Statistica 6.0 software was used.

RESULTS

Table 1 shows the parasitemia of the animals treated with *A. vera*, compared to those treated with benznidazole (control) and *A. vulgaris*. The analysis of the results shows a significant ($p<0.05$) decrease of counting of the parasites in all the times (0, 2, 4 e 6 hours). The values correspond to the mean \pm DP.

Table 1 - Parasitemia of mice infected with *Trypanosoma cruzi*, on times 0, 2, 4 and 6 hour, after administration of benznidazole, *A. vera* and *A. vulgaris*.

Hours	Benznidazole (control)	<i>Aloe vera</i> (babosa)*	<i>Artemisia vulgaris</i> (Artemisine)*
0	165.80 \pm 20.30	150.00 \pm 50.80	164.30 \pm 13.70
2	198.50 \pm 12.00	151.80 \pm 38.80	300.00 \pm 39.60
4	138.80 \pm 17.10	122.00 \pm 16.16	392.80 \pm 55.20
6	33.50 \pm 11.90	25.25 \pm 1.14	400.80 \pm 82.50

Mean \pm DP. *, $p<0.05$.

Table 2 shows the effect of the *A. vulgaris* extract on the biodistribution of Na^{99m}TcO₄ in infected mice, 60 minutes after administration of the radiopharmaceutical. The values correspond to the mean±DP. A significant increase was observed ($p<0.01$) of the %ATI/g in spleen, brain, femur, liver, lungs and blood and a significant decrease of

the %ATI/g ($p<0.01$) in heart, intestines, kidney and bladder, compared to the control groups 1 and 2.

In relation to biochemical dosages, there was a significant ($p<0.05$) decrease of blood levels of glucose and cholesterol in the group treated with

Table 2 – Effect of *A. vulgaris* on the biodistribution of Na^{99m}TcO₄ after 60 minutes of radiopharmaceutical administration.

Organs	% ATI/g		
	Control 1	Control 2	<i>A. vulgaris</i> *
Bladder	0.075	± 0.007	0.080
Blood	0.079	± 0.017	0.065
Brain	0.027	± 0.008	0.020
Femur	2.076	± 0.059	2.098
Heart	1.010	± 0.007	1.047
Intestine	2.013	± 0.034	2.036
Kidney	7.000	± 1.052	6.035
Liver	1.069	± 0.028	2.060
Lung	0.029	± 0.005	0.022
Spleen	0.035	± 0.010	0.000

Mean±DP. *, $p<0.05$.

Table 3 - Effect of *A. vulgaris* and *Aloe vera* extract on biochemical parameters of mice infected with *T. cruzi*.

Biochemical parameters	Control	<i>A. vulgaris</i>	<i>Aloe vera</i>
Cholesterol (mg/dL)	134.70±09.50	100.20±17.50*	68.75 ±4.35*
Glucose (mg/dL)	117.50±23.00	62.00 ±41.90*	113.00±10.58*
AST (U/L)	110.50±40.40	621.00±46.00*	955.00±90.00*
ALT (U/L)	74.70 ±10.40	423.80±10.63*	476.00±74.40*

Mean±DP. *, $p<0.05$.

A. vulgaris. A significant increase ($p<0.05$) was observed in the enzymes Aspartate amino transferase (AST) and Alanine amino transferase (ALT) in this group. The group treated with *A. vera* (babosa) also showed a significant decrease ($p<0.05$) in the dosages of glucose and cholesterol and a significant increase in the enzymes (AST and ALT). These results are observed in Table 3. The values correspond to the mean±DP.

DISCUSSION

For at least 30 years there has not been any new drug for the treatment of Chagas' disease, a fact that has instigated the search for new drugs for the treatment of this disease, envisioning alternatives with fewer side effects and greater effectiveness

(Camandaroba et al., 2003). *A. vulgaris* or "Mugwort", as it is known in traditional Chinese medicine, is a plant widely used to treat diabetes and menstruation disorders. The infusion of their leaves presents potent action against intestinal parasites (Teixeira da Silva, 2004). In natural medicine (herbal) its extract has been widely used as anti-helminthic, anti-malaric, antiseptic, antispasmodic, antireumatic and antibacterial agent (Duke et al., 2002). The active components of *A. vulgaris* include: flavonoids, cumarinics, terpenes, lactones, volatile oils, inulin and traces of alkaloids (Haider et al., 2003; Teixeira da Silva, 2004; Judzentiene and Buzelyte, 2006). However, this study showed that the extract of *A. vulgaris* was not able to reduce the trypomastigote forms of *T. cruzi* in Swiss mice infected with this parasite,

despite the proven action, both of *A. vulgaris* as well as the *A. annua*, in reducing the parasitemia of another protozoan, the *P. falciparum*, in malaric patients (Meshnick and Dobson, 2001).

It is important to assess the interaction of the extract of *A. vulgaris* with the normal metabolism. Our data showed a high decline in blood glucose in animals treated with *A. vulgaris* extract, and also revealed an increase in liver enzymes (AST and ALT), indicating a possible liver injury induced by this extract. Meanwhile, scientific findings on the liver toxicity of *A. vulgaris* are scarce.

The extract of the plant promotes healing of diseases through the complex synergistic interaction of many substances, and specially prepared *Aloe vera* extracts, possess some biological activities such as antiinflammation, anti-cancer, anti-diabetes and macrophage activation, combat gastrointestinal infections and urinary infections, as an analgesic and more (Reynolds and Dweck, 1999). The data obtained from the *A. vera* (babosa) treatment in this study showed that its extract possibly has higher activity in reducing the parasitemia of animals infected with *T. cruzi* than that of benzonidazole, a synthetic anti-*T. cruzi* drug used since the 1970's in Brazil.

The biochemical changes found in serum cholesterol and liver transaminases (AST and ALT) may be related to the biological, metabolic or toxic effects of "babosa".

According to Patel and Mengi (2008), the extract of *Aloe vera* possesses hipolipidemic, hipoglicemic and antitrombotic activities. This finding probably explains the low levels of cholesterol and glucose in mice infected and treated with *A. vera* in our study.

Several authors have demonstrated that the biodistribution of radiopharmaceuticals may be altered by natural and synthetic drugs, diets and surgery (Xavier Holanda et al., 2002; Bernardo et al., 2004; Santos-Filho et al., 2005; Holanda et al., 2006; Araújo-Filho et al., 2007). In this study, there was a significant increase in the %ATI/g of the Na^{99m}TcO₄ in the femur of mice treated with *A. vulgaris*, probably induced by the extract of this plant on the hydroxyapatite crystals, or the deposition of calcium phosphate in bone. We also observed a significant increase in the %ATI/g of the Na^{99m}TcO₄ in the liver, probably due to the metabolization of *A. vulgaris* in that organ.

Our data showed a significant decrease of %ATI/g of the radiopharmaceutical in the kidneys, bladder

and intestines, possibly because these organs are the main route for the excretion of metabolites from *A. vulgaris* extract (Meshnick and Dobson, 2001). The changes found in other organs and tissues probably are due to the biological and metabolic effects of *A. vulgaris*. Further studies are necessary to explain the mechanisms of these effects.

The human American trypanosomiasis, a disease of high morbidity and mortality has been treated with inefficient drugs, and requires much research about new drugs and new measures for prevention and cure. In conclusion, the data of this work suggest that the drugs studied had anti-*T. cruzi* effect and changed the metabolism and biodistribution of pertechnetate in mice.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Liga Norteriograndense contra o Câncer, Ítalo Medeiros Azevedo for the help during the experiments and Dr. Steve F. Howard (USA) for the revision of English language.

RESUMO

A *Artemisia vulgaris* (AV) é uma planta com atividades antihelmíntica e antimálarica. *Aloe vera* (babosa) tem ação antidiabética, laxante e anti-inflamatória. Benzonidazol (BZ) é uma droga tripanosomicida contra o *Trypanosoma cruzi* (TC), agente da doença de Chagas. Tecnécio-99m (^{99m}Tc) tem sido usado na medicina nuclear para obtenção de imagens diagnósticas. Este estudo avaliou o efeito de plantas na parasitemia do TC e na biodistribuição do ^{99m}Tc em camundongos. Vinte camundongos foram infectados por TC. No pico da parasitemia, 5 camundongos receberam babosa; 5 receberam AV e 5 receberam BZ. A parasitemia foi determinada durante os tempos 0, 2, 4 e 6 horas após administração das drogas. Cinco camundongos infectados e não tratados, 5 camundongos não infectados e o grupo tratado com AV receberam ^{99m}Tc, na forma de pertechnetato de sódio. A radioatividade foi calculada. Os animais infectados que receberam babosa reduziram significativamente ($p<0.05$) a parasitemia. A porcentagem da radioatividade por grama (%ATI/g) diminuiu significativamente no

grupo tratado com AV. Estes resultados indicam que a babosa possivelmente é uma droga anti-TC e a AV reduz a %ATI/g provavelmente devido seus efeitos biológicos e/ou metabólicos.

Palavras-chave: *Aloe vera*, *Artemisia vulgaris*, tecnécio-99m, *Trypanosoma cruzi*, parasitemia, biodistribuição

REFERENCES

- Araújo-Filho, I.; Rego A. C. M.; Brandão-Neto J.; Villarim-Neto A.; Egito E. S. T.; Azevedo I. M.; Medeiros A. C. (2007), Biodistribution of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate after Biliopancreatic Bypass with a Duodenal Switch. *Braz Arch Biol Technol.*, **50**, 189-197.
- Banerjee, S.; Raghavan M.; Pillai, A.; Ramamoorthy, N. (2001), Evolution of Tc-99m in Diagnostic Radiopharmaceuticals. *Sem Nucl Med.*, **31**, 266-277.
- Bernardo-Filho, M.; Santos-Filho, S. D.; Moura, E. G.; Maiworm, A. I.; Orlando, M. M. C.; Penas, M. E. (2005), Drug Interaction with Radiopharmaceuticals: a Review. *Braz Arch Biol Technol.*, **48**, 13-27.
- Bernardo, L. C.; Santos, A. E. O.; Mendes, D. C.; Ribeiro, C. K.; Gomes, M. L.; Diré, G.; Jesus, L. M.; Abreu, P. R. C.; Pereira, R.; Frydman, J. N. G.; Moura, R. S.; Bernardo-Filho, M. (2004), Biodistribution Study of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate in Wistar Rat Treated with Rutin. *Pak J Biol Sci.*, **7**, 518-520.
- Brener Z. (1962), Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop.*, **4**, 389-396
- Camandaroba, E. L. P.; Reis, E. A. G.; Gonçalves M. S.; Reis M. G.; Andrade S. G., (2003), *Trypanosoma cruzi*: susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the highly resistant Colombian strain. *Rev Soc Bras Med Trop.*, **36**, 201-209.
- Cançado J. R. (2002), Long term evalution of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. *Rev Inst Med Trop.*, **44**, 29-37
- Coura J. R.; Castro S. L. (2002), A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **97**, 3-24.
- Duke, J. A.; Godwin, M. J. B.; Du Cellier, J.; Duke, P. N. K. (2002), *Handbook of medicinal herbs*, 2nd ed. CRC Press, Washington, D.C.
- Haider, F.; Dwivedi, P. D.; Naqvi, A. A.; Bagchi, G. D. (2003), Essential oil composition of *Artemisia vulgaris* harvested at different growth periods under Indo-Gangetic plain conditions. *J Essen Oil Res.*, **15**, 376-378.
- Holanda, C. M. C. X.; Holanda-Leite, R. C.; Nunes, R. A. S. N.; Oliveira, H. A.; Catanho, M. T. J. A.; Souza, G. M. L.; Bernardo-Filho, M. (2006), Effect of antimarial drugs on the bioavailability of the methylenediphosphonic acid labeled with technetium99m (99mTc-MDP) in wistar rats. *Braz Arch Biol Technol.*, **49**, 207-214.
- Judzentiene, A.; Buzelyte, J. (2006), Chemical composition of essential oils of *Artemisia vulgaris* L. (mugwort) from plants grown in North Lithuania. *Chemija*, **17**, 12-114.
- Meshnick, S. R. (1998), From quinine to qinghaosu: historical perspectives. In *Malaria: Parasite Biology, Pathogenesis, Protection*. Sherman, I.W. (Ed.). ASM Press. Washington, pp. 341-53.
- Meshnick, S. R. and Dobson, M. J. (2001), The history of antimalarial drugs. In *Antimalarial chemotherapy. Mechanism of Action, Resistance and New Directions in Drug Discovery*. Totowa, New Jersey, pp.15-25.
- Patel, P. P.; Mengi, S. A. (2008), CU Shah College of Pharmacy, Mumbai, Maharashtra, India. Paper presented at 77th Congress of the European Atherosclerosis Society, 26-29 April, Istanbul, Turkey
- Reynolds, T.; Dweck, A. C. (1999), *Aloe vera* leaf gel: a review update. *J Ethnopharmacol.*, **68**, 3 -37.
- Saha, G. B. (2004), *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*, Springer-Verlag, New York.
- Santos, C. D.; Caldera, J. C.; Toldo, M. P. A.; Prado, J. C. (2005), *Trypanosoma cruzi*: effects of repetitive stress during the development of experimental infection. *Experim Parasitol.*, **110**, 96-101
- Santos-Filho, S. D.; Bernardo-Filho, M. (2005), Efeito de um extrato de Hipérico (*Hypericum perforatum*) na marcação in vitro de elementos sanguíneos com tecnécio-99m e na biodisponibilidade do radiofármaco perteconetato de sódio em ratos Wistar. *Acta Cir Bras.*, **20**, 76-80.
- Teixeira, A. R. L.; Nascimento, R. P. J.; Sturm, N. R. (2006), Evolution and pathology in Chagas' disease: A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **101**, 463-491.
- Teixeira da Silva, J. A. (2004), Mining the essential oils of the Anthemideae. *Afr J Biotechnol.*, **3**, 706-720
- World Health Organization. Division of Control of Tropical Diseases [on line]. Disponível em: (<http://www.who.int/tdr/diseases>), acessado em: 11/10/2003.
- Xavier-Holanda, C. M. C., Jales, R. L. C.; Catanho, M. T. J. A.; Holanda-Leite, R. C.; Brito, L. M. L.; Jales-Junior, L. H.; Brandão, K. C.; Amorim, L. F.; Brito, G. G. B.; Gomes, M. L.; Bernardo-Filho, M. (2002), Effects of the glucantime on the kinetic of biodistribution of radiopharmaceuticals in wistar rats. *Cell Mol Biol.*, **48**, 761-765.

Received: August 21, 2008;
Revised: September 01, 2008;
Accepted: September 03, 2008.

4 COMENTÁRIOS, CRÍTICAS E CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como base a busca experimental por novos medicamentos para a doença de Chagas e a verificação da alteração da biodistribuição do radiofármaco pertecnetato de sódio em camundongos suíços infectados e tratados com extrato natural.

Para o desenvolvimento deste estudo se fez necessária a integração de vários profissionais com o intuito de desenvolver modelos que permitissem identificar a possibilidade desse fenômeno e repassar o conhecimento adquirido, evitando erro em determinados tipos de diagnósticos cintilográficos.

Objetivando esse caráter de integração de vários tipos distintos de profissionais-pesquisadores foi desenvolvido esse trabalho multidisciplinar. A cepa Y de *Trypanosoma cruzi*, proveniente do Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR), FIOCRUZ/Belo Horizonte/MG, foi doada pela Professora Doutora Antônia Cláudia Jácome. O pertecnetato de sódio foi cedido pela Liga Norteriograndense Contra o Câncer. Os extratos vegetais ministrados aos animais foram elaborados pelo Professor Doutor Cícero Flávio Soares Aragão. Os procedimentos experimentais foram desenvolvidos no Laboratório de Ensaios Antiparasitários e de Radiobiologia Experimental e no Laboratório de Cirurgia Experimental Clóvis Sarinho. As amostras sanguíneas foram levadas ao Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Onofre Lopes/UFRN, para realização de dosagens bioquímicas por métodos automatizados. A Professora Doutora Maria Helena Constantino Spyrides deteve seu apoio nas análises estatísticas.

Para se verificar a viabilidade da cepa Y do *T. cruzi* e se conhecer o pico parasitêmico no camundongo suíço foi realizado um teste piloto de infecção do *T. cruzi*.

Para tal, era necessário o envolvimento de profissionais com excelente capacidade técnica para manipulação de camundongos infectados, tarefa desenvolvida por biólogos e farmacêuticos, em adequadas condições de proteção. Os tripomastigotas provenientes de culturas eram inoculados no camundongo, e no pico da parasitemia sanguínea, era feita a sangria desses animais para a obtenção de tripomastigotas sanguíneas que seriam, então, inoculadas nos camundongos do experimento. O comportamento biológico da cepa Y do *T. cruzi* foi analisado quanto à sua capacidade infectante e quanto ao dia exato do pico parasitêmico, que ocorreu entre o 7º e o 9º dia, elegendo-se o 8º dia da parasitemia para a realização deste experimento. Analisou-se também os parâmetros bioquímicos dos camundongos infectados. Nesse experimento foram envolvidos alunos de graduação sob a orientação da Profª. Dra Cecília Maria Holanda do DMP.

Foram utilizados 25 camundongos Swiss machos, com idade de 1 mês e massa corpórea entre 18-20g. Os animais foram obtidos do biotério do Centro de Ciências da Saúde da UFRN e criados com livre acesso à água e alimentação. Todas as normas de regulamentação local para experimentação com animais de laboratório foram seguidas e esse estudo teve sua aprovação pelo Comitê de Ética para uso de animais (CEUA)/UFRN sob número 182/2008.

Após observação da parasitemia e coleta sanguínea, foi feito o estudo da biodistribuição do $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ apenas dos camundongos tratados com o extrato de *Artemisia vulgaris*. No grupo dos tratados com o extrato de *Aloe vera*, dois animais morreram após a punção cardíaca, impossibilitando a exploração dos dados obtidos no exame da biodistribuição, pois o grupo ficou com um “n” reduzido. Este fato impulsiona a realização posterior de um novo trabalho que verifique novamente a interação do referido extrato com a biodistribuição do radiofármaco $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$.

A relevância dos resultados obtidos está no fato de que há pelo menos 30 anos não surgem novos medicamentos para a doença de Chagas humana, fato que estimula à busca por novas drogas para o tratamento desta doença, visando alternativas com menos efeitos colaterais e maior eficácia. Como já observado em outras doenças parasitárias, o aparecimento de cepas resistentes aos medicamentos em uso também se constitui em um problema²⁰, exigindo invariavelmente o aparecimento de novos fármacos.

Entretanto, o presente estudo demonstrou que o extrato de *A. vulgaris* não foi capaz de reduzir a parasitemia das formas tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*, em camundongos suíços experimentalmente infectados por esse parasito, apesar da ação comprovada em outros estudos, tanto da *Artemisia vulgaris* quanto da *Artemisia annua*, em reduzir a parasitemia do *P. falciparum*, em pacientes maláricos⁵⁻⁷. Os dados obtidos com a *babosa*, nesse estudo, demonstraram que o extrato aquoso de *Aloe vera* possivelmente apresenta uma maior atividade redutora da parasitemia de animais infectados pelo *T. cruzi* do que a normalmente encontrada pelo Rochagan®, medicamento sintético comprovadamente anti-*T.cruzi* usado desde a década de 1970 no Brasil. Porém, são necessários ainda estudos clínicos para confirmação desse fato.

Vários autores têm demonstrado que a biodistribuição de radiofármacos pode ser alterada por drogas sintéticas ou naturais, dietas e cirurgias^{19, 21-25}. Neste estudo, houve um aumento significativo da %ATI/g do Na^{99m}TcO₄ em alguns órgãos ou tecidos de camundongos tratados com *A. vulgaris*, e em outros houve um decréscimo significativo da %ATI/g do radiofármaco. Os resultados desta interação medicamentosa são de importância para alertar profissionais da área de saúde sobre a alteração da biodistribuição do radiofármaco Na^{99m}TcO₄ em pacientes que venham fazer exames da

medicina nuclear e que estejam utilizando medicamentos à base de *A. vulgaris*.

Estudos futuros são necessários para explicar os mecanismos desses efeitos.

A tripanossomíase americana, pelo seu grande impacto nas Américas, morbimortalidade e carência de medicamentos eficazes e seguros, deve ser continuamente fonte de interesse de pesquisa para elaboração de novos estudos que venham mudar essa realidade atual.

A vivência e a experiência adquiridas durante esses anos do Curso de Mestrado proporcionaram-me um grande amadurecimento científico e profissional, como educadora, principalmente na busca do conhecimento prático e teórico comprovado cientificamente. Conhecimentos estes relevantes para ações em projetos futuros junto a Bases de Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, na linha de pesquisa “radiobiologia e medicamentos antiparasitários”, levando a um futuro doutorado.

5 APÊNDICE

5.1 OUTRAS PUBLICAÇÕES

**Effect of Tripanosomicide Benznidazole (Rochagan®) on the Biodistribution of
Sodium Pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) in Wistar Rats**

Vanessa Santos de Arruda Barbosa, Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda,
Roseane Pereira da Silva, Daniel Pereira de Oliveira, Maurício Ferreira da Silva Júnior,
Elias Herculano de Oliveira, Maria Helena Constantino Spyrides, Aldo Cunha Medeiros

Brazilian Archives Biology and Technology

Vol. 51, Special Number: pp. 175-180, 2008.

Effect of Tripanosomicide Benznidazole (Rochagan®) on the Biodistribution of Sodium Pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) in Wistar Rats

Vanessa Santos de Arruda Barbosa^{1*}, Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda^{1,2}, Roseane Pereira da Silva¹, Daniel Pereira de Oliveira², Maurício Ferreira da Silva Júnior², Elias Herculano de Oliveira², Maria Helena Constantino Spyrides³ and Aldo Cunha Medeiros^{1,4}

¹Centro de Ciências da Saúde; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Nilo Peçanha, s/n; vambio@oi.com.br; 59012300; Natal - RN - Brasil. ²Departamento de Microbiologia e Parasitologia; Centro de Biociências; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Salgado Filho, 3000; 59078-970; Natal - RN - Brasil. ³Departamento de Estatística; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Salgado Filho, 3000; 59078970; Natal - RN - Brasil. ⁴Departamento de Cirurgia; Universidade Federal do Rio Grande do Norte; Av. Nilo Peçanha, s/n; 59012300; Natal - RN - Brasil

ABSTRACT

*Benznidazole, a drug with specific anti-*Trypanosoma cruzi* activity, is used in the treatment of Chagas' disease. The radiopharmaceutical sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) is used to obtain diagnostic images of the stomach, thyroid, parathyroids, salivary glands, brain and in the study of esophageal reflux and blood flow. This study aimed at evaluating in vivo the influence of benznidazole treatment on the sodium pertechnetate biodistribution in Wistar rats. The percentage of radioactivity per gram (%ATI/g) of various organs (brain, heart, esophagus, stomach, small intestine, large intestine, spleen, liver, muscle and blood) was determined. Comparing the treated rats with the controls, we observed that sodium pertechnetate biodistribution did not change when administered to rats treated for thirty days with benznidazole.*

Keywords: Antiparasite, Radiopharmaceutical, Technetium-99m, Benznidazole, Biodistribution, *Trypanosoma cruzi*

INTRODUCTION

Chagas' disease is an endemic disorder caused by the flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi*. It is a serious medical and social problem in Brazil and several Latin American countries, affecting 18 million individuals, with 300 thousand new cases every year (WHO, 2002). *T. cruzi* can invade

multiple host cells, generating megacolon, megaesophagus and chagasic heart disease (Santos et al., 2005; Texeira et al., 2006). Benznidazole (Bz), commercially known as Rochagan®, is a drug with specific anti-*T. cruzi* activity *in vivo* and *in vitro*, available in Brazil since the 1970s (Coura and Castro, 2002). It contains N-benzyl-2-nitro-1-imidazolacetamida, which acts directly on the

* Author for correspondence

macromolecule synthesis by a covalent link with cellular components. It has demonstrated low efficiency and high toxicity, especially in the chronic phase of the disease and its treatment can last for up to 60 days, depending on clinical manifestations and host tolerance (Cançado, 2005).

The most widely used treatment scheme is 10 mg/kg/day in adults and less than 5 mg/kg/day in children (Castro et al., 2000; Cançado, 2002; Urbina and Docampo, 2003; Dias, 2004). Following oral administration, Bz is absorbed by the intestine, and is bound to plasma proteins and red blood cells to be distributed throughout the body. Maximum plasma concentrations are achieved in two to four hours. The half-life of plasma elimination is approximately twelve hours (Morilla et al., 2005).

Among the many diagnostic tools that can be used in tropical diseases, scintigraphy is widely used in the anatomic and functional analyses of organs and systems (Braga, 2002). Technetium-99m (^{99m}Tc), in the form of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$), is a radionuclide that connects to a wide variety of molecules and cells (Thrall and Ziessman, 2003; Saha, 2004). When injected intravenously, it is distributed through the veins and interstitium and is used to obtain diagnostic images of the stomach, thyroid, parathyroids, salivary glands, brain and in the study of esophageal reflux and blood flow (Saha, 2004; Owunwanne et al., 1995; Thrall and Ziessman, 2003).

Several drugs can interfere with the biological behavior of radiopharmaceuticals used in scintigraphic examinations. They can change the biological effect of the radiopharmaceutical and their interaction can lead to hypo or hyper uptake of radiopharmaceuticals in a particular organ, causing incorrect diagnosis or misinterpretation of results. Repeated scintigraphy may result in unnecessary radiation for patients (Bernardo-Filho et al., 2005; Gomes et al., 2002). Although Bz is the drug currently recommended by the National Foundation of Health, Brazil, and is used by thousands of people, little is known about its action mechanism, its effects on host cells or its toxicity. Thus, it is important to study the effect of Bz on the biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate in laboratory animals subjected to chronic treatment with this drug. The aim of this work was to assess

in vivo the influence of Bz on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats.

MATERIALS AND METHODS

Twelve male *Wistar* rats weighing 200-250g from the Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal-RN, Brazil were used. The protocol was conducted in accordance with Brazilian College of Animal Experimentation guidelines and was approved by the Research Ethics Committee of Onofre Lopes Hospital-UFRN (08/2007). The animals had free access to water and standard food for rodents (Labina Purina ®) and were randomly allocated to 2 groups: control and treated. The treated group (n=6) received 5 mg/kg/day of Bz diluted with sorbitol, by gavage. The control rats (n=6) received only sorbitol. The animals were treated for 30 days. On the last day of treatment the rats received 0.1 mL of $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (3.7 MBq) via orbital plexus.

The $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ was eluted in a $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generator (Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, Brazil). After 60 minutes, all animals were quickly killed under anesthesia with xylazine (20 mg/kg) and ketamine (50 mg/kg), by intraperitoneal via. Samples were harvested from the brain, heart, esophagus, stomach, small intestine, large intestine, spleen, liver, muscle and blood. The tissue samples were washed in 0.9% saline, weighed on a precision scale (Mark 160®, Bel equipment, Italy) and the percentage of radioactivity per gram of tissue (%ATI/g) was determined in an automatic gamma counter (Wizard 1470, Perkin-Elmer, Finland). The efficiency of the gamma counter was 86%, as specified by the manufacturer. The biochemical and hematological dosages were performed in automated equipment TermoKoneLab 60i, Abbot and Cell-Dyn 3500R, Abbot, respectively. Data were presented as mean \pm standard deviation. The percentage of radioactivity per gram (%ATI/g) was determined by dividing the percentage of total radioactivity of each sample by its weight in grams. The ATI%/g was compared using the non-parametric Mann-Whitney test and the biochemical and hematological parameters by Student's t-test, considering the level of statistical significance at $p < 0.05$ in both tests. Statistica 6.0 software was used.

RESULTS

Table 1 shows the relationship between the controls and the Bz-treated rats. No statistically significant difference ($p>0.05$) in biodistribution of sodium pertechnetate was observed in any of the organs.

Table 2 shows significant differences in alanine aminotransferase (ALT) dosage and the percentage

of neutrophils and lymphocytes, when comparing the treated and control rats. All the other parameters such as iron, total protein, aminotransferase aspartate (AST), creatinine, glucose, red blood cells, hemoglobin, hematocrit, white blood cells and platelets showed no significant differences, when the two groups were compared ($p>0.05$).

Table 1 - Effect of benznidazole treatment on $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ biodistribution in *Wistar* rats.

Organs	% ATI	
	Controls	Treated
Spleen	0.00211 ± 0.00076	0.00199 ± 0.00039
Brain	0.00175 ± 0.00392	0.00020 ± 0.00007
Heart	0.00158 ± 0.00039	0.00192 ± 0.00053
Esophagus	0.00349 ± 0.00123	0.00330 ± 0.00084
Stomach	0.02576 ± 0.00761	0.02276 ± 0.01016
Liver	0.00379 ± 0.00105	0.00402 ± 0.00080
Small Intestine	0.00390 ± 0.00132	0.00299 ± 0.00169
Large Intestine	0.00149 ± 0.00071	0.00163 ± 0.00043
Muscle	0.00050 ± 0.00011	0.00063 ± 0.00014
Blood	0.00683 ± 0.00158	0.00811 ± 0.00165

Mean ± SD. No difference was observed between the two groups ($p>0.05$).

Table 2 - Effect of benznidazole treatment on biochemical and hematological parameters.

Biochemical and hematological dosages	Groups	
	Controls	Treated
Iron ($\mu\text{g/L}$)	363.0 ± 24.69	308.5 ± 65.56
Total proteins (g/dL)	6.50 ± 0.303	6.55 ± 0.327
ALT (UI/L)	116.0 ± 32.44	98.2 ± 23.60
AST (UI/L)	73.16 ± 8.495	56.66* ± 9.667
Creatinine (mg/dL)	0.375 ± 0.055	0.381 ± 0.040
Glucose (mg/dL)	122.000 ± 19.193	117.666 ± 10.557
Red blood cells (u/mm^3)	6653333 ± 372487.1	6578333 ± 526931.4
Neutrophils (%)	57.5 ± 2.949	34.0* ± 8.786
Lymphocytes (%)	34.5 ± 2.428	58.6* ± 7.890
Hemoglobin (g%)	12.183 ± 0.598	11.450 ± 0.831
Hematocrit (%)	52.133 ± 3.669	51.616 ± 3.023
Platelets (u/mm^3)	716833.3 ± 14770.47	718333.3 ± 00059.32
Leukocytes (u/mm^3)	3195.0 ± 1126.7	2206.6 ± 646.3

Mean±SD . * $, p<0.05$.

DISCUSSION

The biological behavior of radiopharmaceuticals used for diagnosis in nuclear medicine is well established in the scientific literature. The interaction between a drug and a radiopharmaceutical may alter its biodistribution

and result in an unexpected effect (Gomes et al., 2002, Bernardo-Filho et al., 2005).

It is of critical importance to know which drugs can interfere with the normal biodistribution of radiopharmaceuticals, to avoid the misinterpretation of scintigraphic images. Several authors have shown that radiopharmaceutical

biodistribution can be altered by natural and synthetic products, radiotherapy, surgery and diet (Gomes et al., 2002; Xavier-Holanda et al., 2002; Passos et al., 2002; Bernardo et al., 2004; Moreno et al., 2005; Santos-Filho and Bernardo-Filho, 2005; Holanda et al., 2006; Araújo-Filho et al., 2007).

Glucantime, an anti-*Leishmania* drug, increased the uptake of the radiopharmaceutical methylene disphosphonic acid, labeled with technetium-99m (^{99m}Tc -MDP) in the spleen, kidney, testicles, heart and liver of rats (Xavier-Holanda et al., 2002). The biodistribution of ^{99m}Tc -MDP was also changed in various organs of rats treated with the antimalarials artemisinin and mefloquine (Holanda et al., 2006). Araujo-Filho et al. (2007) reported changes in sodium pertechnetate biodistribution in the thyroid, lung, pancreas, spleen and muscle after biliopancreatic bypass surgery with duodenal switch in rats. Moreno et al. (2005) showed that *Ginkgo biloba* extract can change the sodium pertechnetate biodistribution in the kidneys, liver and duodenum. Santos-Filho and Bernardo-Filho. (2005) showed that *Hypericum perforatum* extract reduced the uptake of the radiopharmaceutical in bone, muscle and thyroid.

Some studies show that Bz can have adverse effects on adrenal cortex, esophagus and colon cells in rats and that it exerts a mutagenic and carcinogenic effect (Diaz, 2000, Castro et al., 2006, de Castro et al., 2003). Because of its antigenic and toxic effect, Bz can cause several undesirable reactions, mainly in the nervous system and gastrointestinal tract (Cançado, 2002). During benznidazole treatment (30 to 60 consecutive days), skin reactions, gastrointestinal disorders, nausea, paresthesia, or symptoms of peripheral polyneuritis may occur, especially after prolonged treatment or with excessive doses of Bz. The depression of the bone marrow with neutropenia, thrombocytopenic purple and hepatotoxicity are serious effects of Bz that demand caution when they are being used (Cançado, 2005). In our study, neutropenia was found in Bz-treated rats; but no hepatic and intestinal mucous membrane damage was observed. Although Bz can cause these several undesirable reactions, our results were shown positive in relation to interaction Bz-radiopharmaceutical. Both Bz and sodium pertechnetate are bound to plasma proteins, but it seems that there is no competition between them for the same connection sites (Coura and Castro,

2002; Owunwanne et al., 1995). Bz also, probably, does not interfere in the intestinal mobility and does not alter blood flow. The alteration of these factors could modify the biodistribution of the radiopharmaceutical (Owunwanne et al., 1995). Data from biochemical and hematological parameters also lead us to believe that Bz, administered in equivalent dose to treat Chagas' disease in humans, had no toxic effect on the organs studied, nor did it cause enough tissue damage to promote a change in the uptake of $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$.

In this study we demonstrated that the administration of benznidazole didn't alter sodium pertechnetate biodistribution to important target organs, what demonstrate that this result is satisfactory for its use in patients with Chagas' disease. In spite of, this experimental were performed in *Wistar* rats.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Liga Norteriograndense against Cancer for the support, Michael Germain from Canada, for the revision of English language and Italo Medeiros Azevedo for his help with the experiments.

RESUMO

O benzonidazol é um quimioterápico com atividade específica anti-*T. cruzi* utilizado por milhares de pessoas para tratamento da doença de Chagas. O radiofármaco pertechnetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) é utilizado na obtenção de imagens diagnósticas do estômago, tireóide, paratireóides, glândulas salivares, plexo coroíde, cérebro e de estudos de refluxo esofágico e de fluxo sanguíneo. Esse trabalho objetivou avaliar *in vivo* a influência do tratamento crônico com o benzonidazol na biodistribuição do radiofármaco pertechnetato de sódio em ratos *Wistar*. O percentual de radioatividade por grama (%ATI/g) de vários órgãos (cérebro, coração, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso, baço, fígado, músculo e sangue) foi determinado. Comparando-se o grupo controle e o tratado observou-se que o pertechnetato de sódio não possui sua biodistribuição alterada quando administrado em ratos tratados por trinta dias com a droga

benzonidazol, mostrando não prejudicar a interpretação de diagnósticos por imagem.

REFERENCES

- Araújo-Filho, I.; Rego A. C. M.; Brandão-Neto J.; Villarim-Neto A.; Egito E. S. T.; Azevedo I. M.; Medeiros A. C. (2007), Biodistribution of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate after Biliopancreatic Bypass with a Duodenal Switch. *Braz Arch Biol Technol.*, **50**, 189-197.
- Bernardo, L. C.; Santos, A. E. O.; Mendes, D. C.; Ribeiro, C. K.; Gomes, M. L.; Diré, G.; Jesus, L. M.; Abreu, P. R. C.; Pereira, R.; Frydman, J. N. G.; Moura, R. S.; Bernardo-Filho, M. (2004). Biodistribution Study of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate in Wistar Rat Treated with Rutin. *Pak J Biol Sci.*, **7**, 518-520.
- Bernardo-Filho, M.; Santos-Filho, S. D.; Moura, E. G.; Maiworm, A. I.; Orlando, M. M. C.; Penas, M. E. et al. (2005), Drug Interaction with Radiopharmaceuticals: a Review. *Braz Arch Biol Technol.*, **48**, 13-27.
- Braga, F. J. H. N. (2002), Nuclear Medicine in Tropical Diseases. *Braz Arch Biol Technol.*, **45**, 1-7.
- Cançado, J. R. (2002), Long term evalution of etiological treatment of chagas disease with benznidazole. *Rev Inst Med Trop S Paulo*, **44**, 29-37.
- Cançado, J. R. (2005), *Tratamento Específico da Doença de Chagas nas Fases Aguda e Crônica. In-Dinâmica das Doenças Infectuosas e Parasitárias*, ed. Guanabara koogan, Rio de Janeiro, pp.667-676.
- Castro, J. A.; de Mecca, M. M.; Bartel L. C. (2006), Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease (American trypanosomiasis). *Hum Exp Toxicol.*, **25**, 471-9.
- Castro, S. L.; Santa-Rita, R. M.; Einicker-Lamas, M. (2000), *In-Doença de Chagas: Manual de experimentação animal*. FIOCRUZ, Rio de Janeiro, pp. 111-121.
- Coura J. R.; Castro S. L. (2002), A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **97**, 3-24.
- de Castro, C. R.; Montalto de Mecca, M.; Fanelli, S. L.; de Ferrevra, E. C.; Diaz, E. G.; Castro, J. A. (2003), Benznidazole-induced ultrastructural and biochemical alterations in rat esophagus. *Toxicology*, **191**, 189-98.
- Dias J. C. P. (2004), *Doença de Chagas Aguda. Manual Prático de Subsídio à Notificação Obrigatória no SINAN*. Ministério da Saúde, Brasil, pp. 1-20.
- Diaz, E. G.; de Castro R. C.; Montalto de Mecca, M.; Castro, J. A. (2000), Benznidazole-induced ultrastructural and biochemical alterations in rat colon. *Acta Pharmacol Sin*, **21**, 961-6.
- Gomes ML, Oliveira MBN, 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
- Moreno, S. R. F.; Carvalho J. J.; Nascimento, A. L.; Pereira, M.; Rocha E. K.; Diré, G.; Arnobio1, A.; Caldas, L. Q. A.; Bernardo-Filho, M. (2005), Bioavailability of the Sodium Pertechnetate and Morphometry of Organs Isolated from Rats: Study of Possible Pharmacokinetic Interactions of a *Ginkgo biloba* Extract. *Braz Arch Biol Technol*, **48**, 73-78.
- Morilla, M. J.; Montanari, J. A.; Prieto, M. J.; Lopez, M. O.; Petray, P. B.; Romero, E. L. (2005), Intravenous liposomal benznidazole as trypanocidal agent: incresing drug delivery to liver is not enough. *Int J Pharm.*, **278**, 311-318.
- Owunwanne, A.; Patel, M.; Sadek, S. (1995), *The handbook of radiopharmaceuticals*. Chapman and Hall Medical, London.
- Passos, M. C.; Ramos, C. F.; Dutra, S. C.; bernardo-Filho, M.; Moura, E. G. (2002), Biodistribution of 99mTc-O4Na changes in adult rats whose mothers were malnourished during lactation. *J Nucl Med.*, **43**, 89-91.
- Saha, G. B. (2004), *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. Spring-Verlag, New York.
- Santos, C. D.; Caldeira, J. C.; Toldo, M. P. A.; Prado, J. C. (2005), *Trypanosoma cruzi*: Effects of repetitive stress during the development of experimental infection. *Experimental Parasitol.*, **110**, 96-101.
- Santos-Filho S. D.; Bernardo-Filho, M. (2005), Efeito de um extrato de Hipérico (*Hypericum perforatum*) na marcação *in vitro* de elementos sanguíneos com tecnécio-99m e na biodisponibilidade do radiofármaco pertechnetato de sódio em ratos Wistar. *Acta Cir Bras.*, **20**, 76-80.
- Teixeira, A. R. L.; Nascimento, R. J.; Sturm, N. R. (2006), Evolution and pathology in Chagas disease - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, **101**, 463-491.
- Thrall, J. H.; Ziessman, H. A. (2003), *Medicina Nuclear*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Urbina, J. A.; Docampo, R. (2003), Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends Parasitol.*, **19**, 495-501.
- Xavier-Holanda C. M. C.; Jales, R. L. C.; Catanho, M. T. J. A.; Holanda-Leite, R. C.; Brito L. M. L.; Jales-Junior, L. H.; Brandão, K. C.; Amorim, L. F.; Brito, G. G. B.; Gomes, M. L.; Bernardo-Filho, M. (2002), Effects of the glucantime on the kinetic of biodistribution of radiopharmaceuticals in wistar rats. *Cell Mol Biol.*, **48**, 761-765.

Holanda, C. M. C.; Holanda-Leite, R. C.; Nunes, R. A. S. N.; Oliveira, H. A.; Catanho, M. T. J. A.; Souza, G. M. L.; Bernardo-Filho, M. (2006). Effect of antimalarial drugs on the bioavailability of the methylene diphosphonic acid labeled with technetium99m (99mTc-MDP) in wistar rats. *Braz Arch Biol Technol.*, **49**, 207-214.

World Health Organization. (2002). *Control of Chagas Disease*. Technical Reports Serie, **905**, 1-109.

Received: August 12, 2008;

Revised: September 02, 2008;

Accepted: September 04, 2008

***Trypanosoma cruzi:* Biodistribution of Technetium-99m
Pertechnetate in Infected Rats**

Vanessa S. A. Barbosa, Cecília M. C. X. Holanda, Antônia C. J. Câmara, Roseane P. Silva, Daniel P. Oliveira, Jeanete A. Moreira, Aldo C. Medeiros.

Experimental Parasitology

Vol. 123: pp. 309-312, 2009

***Trypanosoma cruzi:* Biodistribution of Technetium-99m**

Pertechnetate in Infected Rats

Vanessa S. A. Barbosa^{*},¹ Cecília M. C. X. Holanda[†], Antônia C. J. Câmara[†], Roseane P. Silva^{*}, Daniel P. Oliveira[†], Jeanete A. Moreira[§], Aldo C. Medeiros^{*}

**Postgraduate Program of Health Sciences; †Department of Microbiology and Parasitology*

§Department of Statistics; Federal University of Rio Grande do Norte, Natal, Brazil.

ABSTRACT

With the aim of investigating the biodistribution of technetium-99m pertechnetate ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) in rats infected with Y strain of *Trypanosoma cruzi*, at the peak of parasitemia, (14th day of infection), Wistar rats were injected with 0.1 ml of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ (3.7MBq). After 60 minutes, the percentage of radioactivity per gram was counted in several isolated organs and blood, using the gamma counter 1470 Wizard-PerkinElmer, Finland. The uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ increased significantly in blood and decreased in colon of infected animals ($p<0.05$). Significant reduction in serum iron and red blood cells and significant increase in total proteins, leukocytes and lymphocytes in the infected rats were observed, comparing with controls ($p<0.05$). A reduction in thickness of the muscular layer of colon and mononuclear inflammation were observed. These results conclusively demonstrate that *T. cruzi* infection was associated with changes in the biodistribution of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ and in the morphology of colon, with potential clinical implications.

Index Descriptors: Technetium, Pertechnetate, Bioavailability, *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease.

INTRODUCTION

The Chagas disease is endemic and is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). It is a serious medical and social problem in Brazil and in Latin America, reaching approximately 10 million individuals, and 40 million of people are at risk of infection (Schofield et al. 2006). At least 300 thousand new cases occur each year (WHO, 2002). The *T. cruzi* can proliferate in different host cells, including the mononuclear phagocytes system, bone marrow, striated and smooth muscle, fibroblasts and cells of the central nervous system, causing various clinical conditions, including the megacolon, megaesophagus and chagasic cardiopathy (Santos et al. 2005; Texeira et al. 2006; Coura and Castro. 2002). The clinical diagnosis is performed by laboratory tests, radiological examination, electrocardiogram, echocardiogram, myocardial scintigraphy and endoscopy (Andrade 2005; Kamiji and Oliveira 2005). The scintigraphy is often used for anatomofuncional analysis of organs and systems in patients with tropical diseases, by using the radiopharmaceuticals which have the radionuclide technetium-99m (Braga 2002).

The technetium-99m pertechnetate ($^{99m}\text{TcO}_4^-$) is a radiopharmaceutical with the ability to connect to a variety of molecules and cells. When injected intravenously, it is distributed through the vascular and interstitial spaces, and is used to obtain diagnostic images of the stomach, salivary glands, thyroid and parathyroid glands, choroid plexus, brain, and studies of esophageal reflux and blood flow (Saha 2004; Thrall and Ziessman 2003). The distribution, elimination and fixation of radiopharmaceuticals in the body depend on several factors, such as blood flow, tissue metabolism and there binding to the blood elements. The biodistribution, defined as the concentration and distribution of radioactive elements in organs and tissues, follows a standard uptake that can mean normal or disease (Saha 2004).

Information is still scarce regarding changes in the biodistribution of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in an organism infected by *T. cruzi* in the acute phase of infection. It can detect early some organic changes by means of radiopharmaceuticals, and determine if the bloodstream parasites can influence the uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in plasma proteins. Therefore, the objective of this study was to evaluate, *in vivo*, the biodistribution of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in Wistar healthy rats and in rats infected with *T. cruzi* during the peak parasitemia.

MATERIAL AND METHODS

We used 12 male Wistar rats, weighing 200±23g, from the vivarium of the Center of Health Sciences, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal / RN, Brazil. The animals had free access to water and standard rodent food (Purina / Labina ®). The protocol was conducted according to international regulations for animal experimentation and approved by the Research Ethics Committee of Hospital Universitário Onofre Lopes - UFRN (08.2007).

The Y strain of *Trypanosoma cruzi* was from the Laboratory of Biology of *T. cruzi*, Department of Parasitology / Institute of Biological Sciences of the UFMG. The animals were randomly allocated into 2 groups. The infected group rats (n = 6) received intraperitoneally a suspension containing 2×10^5 blood trypomastigotes / mL of the Y strain of *T. cruzi*. The control rats (n = 6) received saline in the same way. The parasitemia of animals was monitored on alternate days and the count was determined by light microscopy. At the peak of parasitemia, (14th day of infection), all the rats were injected with 0.1 ml of

$^{99m}\text{TcO}_4^-$ (3.7 MBq) via ocular plexus. The $^{99m}\text{TcO}_4^-$ was eluted from a generator 99Mo/99mTc produced by the Institute of Energy and Nuclear Research, São Paulo / Brazil. After 60 minutes, all animals were quickly killed by overdose of anesthetic. Samples of blood and several organs (brain, heart, esophagus, stomach, small intestine, intestinal thick, spleen, liver, muscle) were isolated and radioactivity of each organ was determined by means of an automatic gama counter (1470 Wizard-PerkinElmer, Finland) with automatic correction for decay and efficiency of 86%. The percentage of radioactivity per gram (% ATI / g) was calculated dividing the percentage of total radioactivity of each organ, by its weight in grams. Frozen tissue samples were taken from all the organs studied. However, histological examination was performed only in colon, the organ in which the biodistribution of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in infected rats was significantly different, from that of non infected rats. The specimens were fixed in 10% formaline, cut as 5 μm tissue sections and stained with hematoxylin and eosin and dehydrated in ethanol and xylene. All specimens were examined by the same accredited pathologist who had no knowledge of the study groups. Morphometric measurements were made using light micrographs (100X) of the stained sections in which the mucosal villi were cut as close to their longitudinal axis as possible. In two pictures, villous height, crypt depth, mucosal thickness, and thickness of the muscularis were measured in two areas, and the mean values from two light micrographs were calculated for each parameter. Inflammation was examined as well. From blood, hematological parameters were measured by Automatic Analyzer Abbot Cell Dyn 3500; biochemical dosages were measured using the Spectrophotometer Konelab 60i, (assay kit from Weiner, São Paulo, Brazil). All data were presented as mean \pm standard deviation. The %ATI/g was compared by Mann-Whitney and haematological parameters by T-Student test, considering both $p<0.05$ statistically significant. The software used to obtain the results was the Statistica 6.0.

RESULTS

Figure 1 shows the presence of blood trypomastigotes forms at the peak of parasitemia in rat observed on the 14th day of infection. Table 1 shows the biodistribution of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in organs of control group rats and infected group rats. There was a statistically significant increase ($p<0.05$) in the uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in the blood and a significant decrease of its uptake in the colon of infected animals, when compared with controls. The $^{99m}\text{TcO}_4^-$ had not its biodistribution changed in the other organs. Table 2 shows a significant reduction in the levels of serum iron and a significant increase in total proteins in the infected rats, comparing with controls. There was a decrease in the number of red blood cells and increase of total leukocytes and lymphocytes in the infected group rats, and the difference was significant when compared to the control group rats ($p<0.05$). The histopathological analysis of the colon showed reduction in thickness of the muscular layer and an inflammatory process with intense nodular mononuclear infiltration in muscle layer, shown in Figure 2. The colon of the control group rats showed no histopathological changes (Fig. 3).

TABLE 1.

Biodistribution of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in control Wistar rats and in rats infected with *T. cruzi*.

Organs	% ATI/g	
	Control	Infected
Spleen	0.0029 ± 0.0026	0.0018 ± 0.0005
Brain	0.0004 ± 0.0004	0.0002 ± 0.0001
Heart	0.0043 ± 0.0068	0.0021 ± 0.0008
Esophagus	0.0036 ± 0.0020	0.0027 ± 0.0020
Stomach	0.0270 ± 0.0087	0.0189 ± 0.0181
Liver	0.0040 ± 0.0013	0.0043 ± 0.0012
Small bowel	0.0014 ± 0.0008	0.0009 ± 0.0002
Colon	0.0045 ± 0.0016	0.0023 ± 0.0014*
Muscle	0.0007 ± 0.0006	0.0006 ± 0.0002
Blood	0.0062 ± 0.0017	0.0106 ± 0.0050*

* $p<0.05$, compared with control.

TABLE 2

Biochemical and hematological measures in control Wistar rats and in rats infected with *T. cruzi*.

Biochemical and hematological parameters	Control		Infected	
Iron ($\mu\text{g/L}$)	216.7	± 46.1	138.5	± 21.6*
Red blood cells/ mm^3	7.373.333	± 389	5.933.333	± 618*
Hematocrit (%)	37.0	± 11	41.5	± 12
Hemoglobin (mg/dL)	11.4	± 1.5	11.7	± 1
Leukocytes / mm^3	2.676	± 1.625	7.798	± 1.253*
Lymphocytes (%)	53.2	± 16	80.7	± 8*
Monocytes (%)	2.8	± 2	3,3	± 2
Neutrophils (%)	34.2	± 17	34.5	± 30
Platelets / mm^3	543.000	± 153	561.000	± 107
Total proteins (g/dL)	5.8	± 0.37	6.29	± 0.48*

* $p<0.05$ compared with control.

FIGURAS

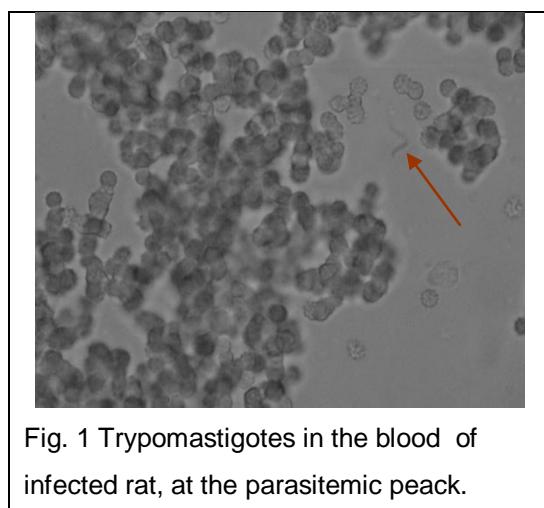
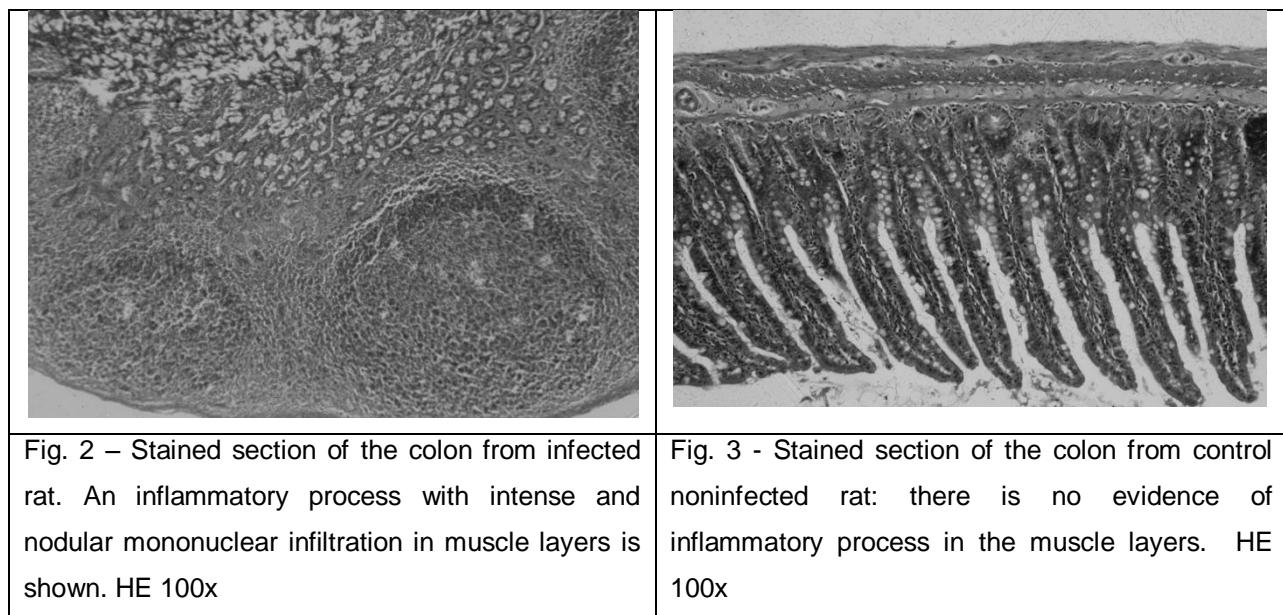


Fig. 1 Trypomastigotes in the blood of infected rat, at the parasitemic peak.



DISCUSSION

Several experimental models such as mice, wild rodents, rabbits, hamsters, dogs and monkeys, have been used in studies of Chagas' disease (Magalhães-Santos et al. 2004; Ramirez et al. 2000; Chapadeiro et al. 1999). In this study, rats were chosen because they develop lesions similar to those found in human Chagas' disease, including the reproduction of megas (Ramirez et al. 2000). Additionally, it has been successfully used in studies of biodistribution of radiopharmaceuticals for several authors

(Xavier Hollanda et al. 2006, Santos-Filho and Bernardo-Filho 2005; Araújo-Filho et al. 2007; Barbosa et al. 2008).

There are evidences in the literature that the biodistribution of radiopharmaceuticals may be altered by diseases, procedures, cigarette smoking, surgery, food or natural and synthetic drugs (Passos et al. 2002; Bernardo-Filho et al. 2005; Xavier-Hollanda et al. 2008; Valencia 2005; Araújo-Filho et al. 2007). In rats with protein restriction diet, the uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ was altered in stomach and thyroid (Passos et al. 2002). Rats treated with the antineoplastic drug paclitaxel had the biodistribution of pertechnetate altered in breast, liver, intestine, ovary, uterus and vagina (Xavier-Hollanda et al. 2008). Changing on biodistribution of pertechnetate associated to surgical procedure was demonstrated after the bariatric surgery named biliopancreatic bypass. The uptake of pertechnetate was altered in thyroid, lung, pancreas, spleen and muscle of rats. (Araújo-Filho et al. 2007). The treatment of rats with the extract of *Hypericum perforatum* decreased the uptake of the radiopharmaceutical in bone, muscle and thyroid and increased their attachment to the pancreas. (Santos-Filho and. Bernardo-Filho 2005).

The distribution of pertechnetate takes place due to its connection to proteins, erythrocytes and leukocytes. Its uptake may be altered in diseases like tumors, cysts, inflammation, bleeding, etc, where specific images are generated for diagnosis using scintigraphy (Saha 2004; Braga 2002). In this work we demonstrated the decrease in the uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in the colon of chagasic rats, probably due to the inflammatory process and destruction of some histological structures of the organ. The digestive tract is affected in Chagas disease, soon after two weeks of infection with *T. cruzi*, when has been demonstrated focal points of inflammation with necrosis in the organs (Texeira et al. 2006).

The lesions observed in the acute phase are characterized by inflammatory reaction with predominance of mononuclear cells after the rupture of amastigotes pseudocysts. As a result, granulomas usually appear in the muscle tissue, including the heart (Coura 2007). The platelet aggregation, eosinophil degranulation, microvascular disease, edema, thrombosis, ischemia and blood stasis are also shown in the acute phase of infection (Araújo-Jorge 2000). In this work, the granulomatous reaction and reduction in the thickness of the intestinal wall of the colon of infected rats (Fig.2), at least in part, may explain the decrease in uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in the colon. We suppose that the blood flow and vascular integrity of the colon may have been compromised, generating ischemia.

It is well demonstrated that hyperviscosity occurs in the blood of rats infected with *T. cruzi*, due to morphological changes in erythrocytes and increased plasma proteins, causing damage on microcirculation and reducing the blood flow in the organs affected by Chagas' disease (Berra et al. 2005). In fact, in this work the infected rats had serum total proteins significantly higher than in controls. Another explanation has been based on the life cycle of the Y strain of *T. cruzi* in mice. Parasites were found in the capillaries of some organs, and it was hypothesized that, as the parasites were larger in diameter than the blood vessels, they could cause blood stasis (Pinto et al. 1999),

Histopathological changes similar to granulomatous mononuclear inflammatory reaction was observed in an experimental model (Pernia-Guillen et al. 2001) and in humans (Silveira et al. 2007). Some studies on the behavior of several strains of *T. cruzi* in mice also found inflammatory infiltrates in organs such as heart, skeletal muscle and smooth muscle (Silva et al. 2006; Devera et al. 2002; Martins et al. 2003).

The acute-phase of Chagas disease is a set of metabolic changes that include leukocytosis, decreased serum zinc and iron, increase in protein catabolism and glycogenesis, increased total protein synthesis and fever (Araújo-Jorge 2000). The decrease of the iron dosage, the increase in total protein and leukocytosis in the infected rats of this work, happened during the intense inflammatory response observed during the analysis of the biodistribution of the $^{99m}\text{TcO}_4^-$. The lymphocytosis found in our results is usually found in the initial inflammatory process. The decrease in the number of red blood cells and serum iron in the infected rats of this study may explain the anemia, which is common in humans, and was demonstrated in experimental models in mice (Cardoso and Brener 1980; Marcondes et al. 2000). However, the mechanisms responsible for this change are not entirely clear. According to Malvezi et al. (2004), cytokines such as TNF- α produced by activated macrophages during the acute phase of infection, may decrease the erythropoiesis. Even with the decrease in red blood cells, we found that the uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in the blood of infected rats was higher than in controls, probably due to the fact that the $^{99m}\text{TcO}_4^-$ connects for the most part (80%) to plasma proteins (Saha 2004). The increase in the proteinemia and leukocytosis, as evidenced in the infected rats may at least in part, explain the increased uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ in blood of that animals. Rebello et al. (1994) have shown uptake of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ by *Schistosoma mansoni*, but there is no evidence whether the $^{99m}\text{TcO}_4^-$ is able to connect to the *T. cruzi*. Further studies about the binding of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ to the parasite are still needed.

In conclusion, at the peak of blood parasitemia, the Y strain of *T. cruzi* affected the biodistribution of $^{99m}\text{TcO}_4^-$, specially in the colon and blood of rats. Histopathologic and metabolic changes may have influenced the changing on biodistribution.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Norteriograndense League Against Cancer, the Laboratory of Biology of *T. cruzi*, Department of Parasitology / Institute of Biological Sciences Federal University of Minas Gerais, Brazil, and Ítalo Medeiros Azevedo from the Laboratory of Experimental Surgery, Federal University of Rio Grande do Norte, Brazil, for the technical support.

REFERENCES

- Andrade, S.G., 2005. Biodemas, Zimodemas e Esquizodemas: sua relação com a patologia da doença de Chagas. In: Coura JR. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Vol 1. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp.621-637.
- Araújo-Filho, I., Rego, A. C. M., Brandão-Neto, J., Villarim-Neto A.; Egito E. S. T.; Azevedo I. M.; Medeiros A. C. 2007. Biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate after biliopancreatic bypass with a duodenal switch. *Braz Arch Biol Technol* **50**, 189-197.
- Araújo-Jorge TC., 2000. Resposta imune inata, inflamatória e de fase aguda na doença de Chagas. In: Doença de Chagas: Manual de experimentação animal. Fiocruz, Rio de Janeiro, pp.39-47.

Barbosa, V.S.A., Xavier-Holanda, C.M.C., Silva, R.P., Oliveira, D.P., Silva-Júnior, M.F., Oliveira, E.H., Spyrides, M.H.C., Medeiros, A.C. 2008. Effect of tripanosomicide benznidazole (Rochagan®) on the biodistribution of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) in Wistar rats. *Braz Arch Biol Technol* **51** (Special Number):175-180.

Bernardo-Filho, M., Santos-Filho, S.D., Moura, E.G., Maiworm, A.I., Orlando, M.M.C., Penas, M.E. 2005. Drug Interaction with Radiopharmaceuticals: a Review. *Braz Arch Biol Technol* **48**: 13-27.

Berra, H.H., Piaggio, E., Revelli, S.S., Luquita, A. 2005. Blood viscosity changes in experimentally *Trypanosoma cruzi*-infected rats. *Clin Hemorheol Microcirc* **32**,175–182.

Braga, F.J.H.N. 2002. Nuclear Medicine in Tropical Diseases. *Braz Arch Biol Technol* **45**, 1-7.

Cardoso, J.E., Brener, Z. 1980. Hematological changes in mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **75**, 97-104.

Chapadeiro, E., Silva, E.L., Silva, A.C.M., Fernandes, P., Ramirez, L.E. 1999. Cardiac neuronal depopulation in hamsters (*Mesocricetus auratus*) chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* **32**, 35-39.

Coura, J.R. 2007. Chagas disease: what is known and what is needed – a background article. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **102** (Suppl.1), 113-122.

Coura, J.R., Castro, S.L. 2002. A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **97**, 3-24.

Devera, R., Illarramendi, X., Montoya-Araújo, R., Pirmez, C., Fernandes, O., Coura, J.R. 2002. Biodemes of *Trypanosoma cruzi* strains isolated from humans from three endemic áreas in Minas Gerais State. *Rev Soc Bras Med Trop* **35**, 323-330.

Gonçalves, R.P., Beyrodt, C.G.P., Castro, V.A.G. 2008. Possibilidade de transmissão do *Trypanosoma cruzi* através de transferência de tecido renal em modelo murino. *Rev Fac Cien Med Sorocaba* **10**,13-17.

Guillen-Pernia, B., Lugo-Yarbu, A., Moreno, E. 2001. Dilatación del tracto digestivo de ratones infectados con *Trypanosoma cruzi*. *Invest clín* **42**, 195-210.

Kamiji. M.M., Oliveira, R.B. 2005. Features of Chagas' disease patients with emphasis on digestive form, in a tertiary hospital of Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop* **38**,305-309.

Magalhães-Santos, I.F., Souza, M.M., Lima, C.S.C., Andrade, S.G. 2004. Infection of *Calomys callosus* (Rodentia Cricetidae) with strains of different *Trypanosoma cruzi* biotypes: pathogenicity, histotropism, and fibrosis induction. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **99**, 407-413.

Malvezi, A.D., Cecchini, R., Souza, F., Tadokoro, C.E., Rizzo, L.V., Pingue-Filho, P. 2004. Involvement of nitric oxide (NO) and TNF- α in the oxidative stress associated with anemia in experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *FEMS Immun Med Microbiol* **41**, 69-77.

Marcondes, M.G.C., Borelli, P., Yoshida, N., Russo, M. 2000. Acute *Trypanosoma cruzi* infection is associated with anemia, thrombocytopenia, leukopenia, and bone marrow hypoplasia: reversal by nifurtimox treatment. *Microbes Infect* **2**, 347-352.

Martins, L.P.A. , Castanho, R.E.P., Rosa, J.A., Silva, L.C., Godoy, C.A.P., Rosa, R.M. 2003. Biological and histopathological characterization together with nucleic acids analysis of a *Trypanosoma cruzi* strain from Marília, São Paulo State. *Rev Soc Bras Med Trop* **36**, 35-39.

Passos, M.C.F., Ramos, C.F., Dutra, S.C.P., Bernardo-Filho, M., Moura. E.G. 2002. Biodistribution of 99m Tc-O₄Na Changes in Adult Rats Whose Mothers Were Malnourished During Lactation. *J Nucl Med* **43**, 89-91

Pinto, P.L.S., Takami, R., Nunes, E.V., Guilherme, C.S., Oliveira-Jr. O.C., Gama-Rodrigues, J., Okumura, M. 1999. Life cycle of *Trypanosoma cruzi* (Y strain) in mice. *Rev Hosp Clin Fac Med S.Paulo* **54**, 141-146.

Ramirez, L.E., Silva, V.D., Lages-Silva, E., Chapadeiro, E. 2000. Modelos animais para o estudo *in vivo* da doença de Chagas e de seus aspectos histopatológicos – Rato. In: Doença de Chagas: Manual de experimentação animal. Fiocruz, Rio de Janeiro, pp.140-142.

Rebelo, L.H., Da Silva, J.R., Gutfilen, B., Bernardo-Filho, M. 1994. Oxamniquine: a labeling procedure with technetium-99m and a bidistribution study in mice. *J Nucl Biol Med* **38**, 109-12.

Saha GB. Fundamentals of Nuclear Pharmacy. 2004. Springer-Verlag, New York.

Santos, C.D., Caldeira, J.C., Toldo, M.P.A., Prado, J.C. 2005. *Trypanosoma cruzi*: Effects of repetitive stress during the development of experimental infection. *Exp Parasitol* **110**, 96-101.

Santos-Filho, S.D., Bernardo-Filho, M. 2005. Efeito de um extrato de Hipérico (*Hypericum perforatum*) na marcação *in vitro* de elementos sanguíneos com tecnécio-99m e na biodisponibilidade do radiofármaco perteconetato de sódio em ratos Wistar. *Acta Cir Bras* **20**, 76-80.

Schofield, C.J., Jannin, J., Salvatella, R. 2006. The future of Chagas disease control. *Trends Parasitol* **22**, 583-588.

Silva, M.A., Nai, G.A., Rosa, J.A. 2006. Caracterização biológica e molecular de quatro cepas de *Trypanosoma cruzi* isoladas de pacientes na fase crônica, forma cardíaca da doença de chagas. *Rev Patol Trop* **35**, 213-226.

Silveira, A.B., Lemos, E.M., Adad, S.J., Correa-Oliveira, R., Furness, J.B., D'Avila Reis, D. 2007. Megacolon in Chagas disease: a study of inflammatory cells, enteric nerves, and glial cells. *Hum Pathol* **38**, 1256-1264.

Teixeira, A.R.L., Nascimento, R.J., Sturm, N.R. 2006. Evolution and pathology in Chagas disease - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **101**, 463-491.

Thrall, J.H., Ziessman, H.A. 2003. Medicina Nuclear. 2nd ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

Valença, S.S., Lima, E.A.C., Dire, G.F., Bernardo-Filho, M., Porto, L.C. 2005. Sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) biodistribution in mice exposed to cigarette smoke. *BMC Nucl Med* **5**, 109- 123.

World Health Organization. 2002. Control of Chagas disease. Geneva: World Health Organization. (Technical Report Series, 905).

Xavier-Holanda, C.M.C., Holanda-Leite, R.C., Nunes, R.A.S.N., Oliveira, H.A., Catanho, M.T.J.A., Souza, G.M.L., Bernardo-Filho, M. 2006. Effect of antimalarial drugs on the bioavailability of the methylenediphosphonic acid labeled with technetium99m (99mTc-MDP) in wistar rats. *Braz Arch Biol Technol* **49**, 207-214.

Xavier-Holanda, C.M.C., Oliveira, E.H., Rocha, L.G., Barbosa, V.S.A., Spyrides, M.H.C., Aragão, C.F.S., Medeiros, A.C. 2008. Effect of paclitaxel (Taxol®) on the biodistribution of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) in female Wistar rats. *Braz Arch Biol Technol* **51**, (Special Number), 191-196.

**Effect of an extract of *Aloe vera* on the biodistribution of sodium pertechnetate
($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) in rats**

Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda, Monique Batista da Costa, Natália Chilinque Zambão da Silva, Maurício Ferreira da Silva Júnior, Vanessa Santos de Arruda Barbosa, Roseane Pereira da Silva, Aldo da Cunha Medeiros

Acta Cirurgica Brasileira

Vol. 24: pp. 383-386, 2009

**Effect of an extract of *Aloe vera* on the biodistribution of sodium pertechnetate
($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) in rats¹**

Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda^I; Monique Batista da Costa^{II}; Natália Chilinque Zambão da Silva^{II}; Maurício Ferreira da Silva Júnior^{II}; Vanessa Santos de Arruda Barbosa^{III}; Roseane Pereira da Silva^{IV}; Aldo da Cunha Medeiros^V

^IPhD, Associate Professor, Head of Experimental Radiobiology and Antiparasitic Assays Laboratory, Department of Microbiology and Parasitology, UFRN, Brazil

^{II}Graduate Student, Scientific Initiation Program, UFRN, Brazil

^{III}Fellow PhD degree, Postgraduate Program in Health Sciences, UFRN, Brazil

^{IV}Fellow Master degree, Postgraduate Program in Health Sciences, UFRN, Brazil

^VPhD, Full Professor, Head Nucleus of Experimental Surgery, UFRN, Brazil

ABSTRACT

PURPOSE: *Aloe vera* is a tropical plant popularly known in Brazil as *babosa*. We have investigated the effect of aqueous extract of *Aloe vera* on the biodistribution of Na^{99m}TcO₄ and laboratorial parameters in *Wistar* rats.

METHODS: Twelve animals were divided into treated and control groups. In the treated group, *Aloe vera* was given by gavage (5mg/mL/day) during 10 days. The control group received sorbitol by the same way and period. One hour after the last dose, we injected 0.1mL of Na^{99m}TcO₄ by orbital plexus. After 60 min, all the animals were killed. Samples were harvested from the brain, liver, heart, muscle, pancreas, stomach, femur, kidneys, blood, testis and thyroid and the percentage of radioactivity (%ATI/g) was determined. Biochemical dosages were performed.

RESULTS: There was a significant increase of %ATI/g in blood, femur, kidneys, liver, stomach, testis and thyroid and also in blood levels of AST and ALT. A significant decrease in levels of glucose, cholesterol, triglycerides, creatinine and urea occurred. The statistical analyses were performed by Mann-Whitney test and T-Student test ($p<0.05$).

CONCLUSION: The aqueous extract of *Aloe vera* facilitated the uptake of Na^{99m}TcO₄ in organs of rats and it was responsible to a high increase of levels of AST and ALT.

Key words: *Aloe*. Plants, Medicinal. Radioisotopes. Sodium Pertechnetate Tc 99m. Technetium. Rats.

RESUMO

OBJETIVO: *Aloe vera* é uma planta tropical popularmente conhecida no Brasil por "babosa". Investigou-se o efeito de extrato aquoso do *A. vera* na biodistribuição do perteconetato de sódio ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) e em parâmetros laboratoriais de ratos *Wistar*.

MÉTODOS: Doze animais foram divididos em 2 grupos: tratado e controle. No grupo tratado, o extrato de *A. vera* foi administrado via oral (5mg/mL/dia) por 10 dias. O grupo controle recebeu sorbitol do mesmo modo. Uma hora após a última dose, ambos receberam 0,1mL de $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ via plexo orbital. Após 60 minutos, os animais foram sacrificados. Foram retiradas amostras do cérebro, fígado, coração, músculo, pâncreas, estômago, fêmur, rins, sangue, testículos e tireoide e determinou-se o percentual de radioatividade por grama (%ATI/g) de cada uma. Dosagens bioquímicas foram realizadas.

RESULTADOS: Houve um aumento significativo do %ATI/g no sangue, fêmur, rins, fígado, estômago, testículos e tireoide e nos níveis sanguíneos das enzimas AST e ALT. Ocorreu uma diminuição significativa dos níveis de glicose, colesterol, triglicérides, creatinina e uréia. Análises estatísticas foram feitas pelos testes de Mann-Whitney e T-student ($p<0,05$).

CONCLUSÃO: O extrato aquoso de *A. vera* facilitou a captação do $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ em órgãos de ratos e foi responsável pelo aumento dos níveis de AST e ALT.

Descritores: Aloe. Plantas Medicinais. Radioisótopos. Pertecnetato Tc 99m de Sódio. Tecnécio. Ratos.

Introduction

There is currently particular interest of people on medications that either are or contain components of natural origin. The use of certain plants as phytotherapy has been a millennial practice in folk medicine. Its use has gained enormous popularity around the world, as modern medicine is beyond the reach of many people. *Aloe vera* is a tropical plant easily grown in hot and dry climates and popularly known in Brazil as *babosa*. Referred to as a 'miracle' plant, *Aloe vera* possesses confirmed curative or healing actions. A total of 360 *Aloe* species (commonly accepted as *Aloe vera*) are growing in the dry regions of North American, Europe and Asia. These plants were demonstrated to contain a yellow exudate (composed mainly of anthraquinone derivatives) that has been used for centuries as a purging agent. It has a clear mucilaginous gel (consisting principally of polysaccharides) that has been used since ancient times to treat burns and other wounds where it is thought to be able to enhance the healing rate and to reduce the infection risk^{1,2,3,4}. This plant is also used for various medicinal (useful in X-ray burns, dermatitis, cutaneous leishmaniasis, antiviral and anti-inflammatory activities, anti-cancer, antidiabetic, macrophage activation, cardiac stimulatory activity and others)^{1,3,4}, cosmetic and nutraceutical purposes⁵. It has been suggested that the extract of this plant promotes healing of diseases through the complex synergistic interaction of many substances, including alkaloids, saponins, fatty acid materials, glycoproteins, resins, sterols, gelonins, minerals, vitamins (A, C, and E) amino acids,

enzymes and other small constituent molecules⁵. In spite of its wide pharmaceutical use, there are few data on *Aloe* toxicity.

Nuclear medicine is the medical specialty that uses radioactive isotopes to diagnose through images or therapy. Among the many diagnostic tools that can be used in tropical diseases, scintigraphy images are widely used in the anatomic and functional analyses of organs and systems⁶. For most applications in diagnostic nuclear medicine the use of the isotope technetium-99m (^{99m}Tc), is preferred. Technetium-99m is a short-lived isotope, present in chemically microscopic amounts and has minimally damaging radioactive emission that is close to optimal for use with today's imaging instruments. Thus a great deal of the chemistry done in the design of diagnostic radiopharmaceuticals has been technetium chemistry⁶.

Several natural or synthetic drugs can interfere with the biological behavior of radiopharmaceuticals, used in scintigraphy examinations, or on the labeling of blood constituents with technetium-99m^{6,7,8}. They can change the biological effect of the radiopharmaceutical and their interaction can lead to hypo or hyper uptake of radiopharmaceuticals in a particular organ, causing incorrect diagnosis or misinterpretation of results. Repeated scintigraphy may result in unnecessary radiation for patients^{6,7,8}.

Although *Aloe vera* is a natural product used by many people, orally or topically, little is known about its action mechanism, its effects on host cells and toxicity. Thus, it is important to study the effect of this natural product on the biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate in laboratory animals subjected to chronic treatment with this product. In the present study, we investigated the effect of aqueous extract of *Aloe vera* on the biochemical analyses and biodistribution of the sodium pertechnetate in *Wistar* rats.

Methods

The animals were obtained from Center of Health Sciences of the Federal University of Rio Grande do Norte (UFRN), Brazil, and they were housed in groups with free access to food and water, maintained under constant environmental conditions (23±2°C; 12h/12h of light/dark cycle). Studies were performed in healthy male *Wistar* rats (weight range: 180-250 g). Twelve animals were randomly divided into two groups (treated and control groups) of 6 animals each one. These experiments were performed according to local regulations for animal experimentation (approved by the Ethical Committee for Using Animals of UFRN, with the number CEUA/213/2008).

Fresh *Aloe vera* (L.) Burm. F. (Liliaceae) leaves were collected and processed from a single garden plant. The identification of the plant, voucher no. 3479, was done by the herbarium of the Department of Botanic, Ecology and Zoology of UFRN to obtain a fresh extract for experiment during this work. The extract was obtained from leaves of this plant (300g) by using 2500 mL of distilled water at 70-80 °C for 2 h. The mixture was agitated over the mechanical shaker for 12 h. The resulting mixture was filtered and the filtrate concentrated from the extract was redissolved in sorbitol solution to obtain a

concentration of 30 mg/mL for use in the study. In the treated group, a single dose (5mg/mL/day) of aqueous extract of *Aloe vera* was administered to each rat by gavage during 10 days. The control group received sorbitol solution by the same way and period. One hour after the last dose, we injected 0.1 mL of Na^{99m}TcO₄ (3.7 MBq) via orbital plexus. The Na^{99m}TcO₄ was eluted in a ⁹⁹Mo/^{99m}Tc generator (Institute of Energy and Nuclear Research, National Commission of Nuclear Energy, São Paulo, Brazil). After 60 minutes, all the animals were quickly killed under anesthesia with xylazine (20 mg/kg) and ketamine (50 mg/kg), by intraperitoneal via. Samples were harvested from the brain, liver, heart, muscle, pancreas, stomach, femur, kidneys, blood, testis and thyroid. The tissue samples were washed in 0.9% saline, weighed on a precision scale and the percentage of radioactivity per gram of tissue (%ATI/g) was determined in an automatic gamma counter. The efficiency of the gamma counter was 86%, as specified by the manufacturer. Before the administration of Na^{99m}TcO₄, it was withdrawn 2 mL of whole blood from each animal and the biochemical dosages were performed in automated equipment. Data were presented as mean \pm standard deviation. The percentage of radioactivity per gram (%ATI/g) was determined by dividing the percentage of total radioactivity of each sample by its weight in grams. The ATI%/g was compared using the non-parametric Mann-Whitney test and the biochemical parameters by T-Student test, considering the level of statistical significance at p<0.05 in both tests.

Results

Table 1 shows the relationship between the uptake (%ATI/g) of the Na^{99m}TcO₄ on the *Aloe vera*-treated group (n=6) and on the sorbitol-control group (n=6), 60 min after administered of the Na^{99m}TcO₄. The analysis of the results shows a significant (p<0.01) increase of the uptake of radioactivity in blood, femur, kidneys, liver, stomach, testis and thyroid. The results also reveal no significant alteration of the %ATI/g in brain, heart, muscle and pancreas.

TABLE 1 - Effect of aqueous extract of *Aloe vera* on the %ATI/g in organs of *Wistar* rats after 60 min injection of radiopharmaceutical ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$)

Organs	ATI/g		p-value
	Control	<i>Aloe vera</i>	
Blood	0.0010±0.0004	0.0060±0.0009	0.0001**
Brain	0.0018±0.0005	0.0020±0.0000	0.0001
Femur	0.0003±0.0001	0.0013±0.0003	0.0001**
Heart	0.0053±0.0006	0.0054±0.0001	0.0002
Kidneys	0.0002±0.0001	0.0034±0.0006	0.0001**
Liver	0.0004±0.0000	0.0040±0.0007	0.0004**
Muscle	0.0059±0.0023	0.0063±0.0001	0.0001
Pancreas	0.0225±0.0153	0.0313±0.0005	0.0001
Stomach	0.0012±0.0007	0.0207±0.0038	0.0001**
Testis	0.0001±0.0001	0.0012±0.0001	0.0004**
Thyroid	0.0003±0.0002	0.0251±0.0127	0.0001**

Mean±DP. **, p<0.01

Table 2 shows the effect of the *Aloe vera* on the laboratorial parameters of *Wistar* rats (n=6) and on the control group (n=6), before the administration of the $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$. The analysis of the results shows a significant (p<0.05) increase of blood levels of the hepatic enzymes alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) and a significant decrease (p<0.05) of blood levels of glucose, cholesterol, triglycerides, creatinine and urea.

TABLE 2 - Effect of aqueous extract of *Aloe vera* on biochemical parameters from *Wistar* rats

Biochemical parameters	Control	<i>Aloe vera</i>	p-value
ALT(U/L)	48.83±7.10	82.50±29.99	0.038*
AST(U/L)	85.70±14.50	101.00±38.40	0.029*
Cholesterol (mg/dL)	3.12±0.25	2.10±0.29	0.043*
Creatinine (mg/dL)	0.48±0.01	0.37±0.04	0.045*
Glucose (mg/dL)	122.67±17.92	24.67±6.69	0.005*
Tryglicerides (mg/dL)	74.83±11.43	40.00±15.39	0.014*
Urea (mg/dL)	43.83±8.16	34.66±5.71	0.048*

Mean±DP. *, p<0.05

Discussion

The extract of the plants promotes successful treatment of diseases through the complex synergistic interaction of many substances. *Aloe vera* extracts, possess some

biological activities as analgesic, antiinflammatory, anti-cancer, anti-diabetes, macrophage activation, antimicrobial effect on gastrointestinal infections and urinary infections^{1,4}.

There are over 300 species of *Aloe* known, but *Aloe vera* L. is recognized as the "true *Aloe vera*" for its widespread use and purported healing powers. It has been demonstrated that a large part of the pharmacological activity of this plant is due to polysaccharides, which makes up the majority of the mucilaginous *Aloe vera* gel^{3,4,5}. The popularity and use of herbal medicine products are gradually increasing. Yet, hepatic toxicity is a potential complication of these compounds that may lead to hepatic insufficiency^{9,10}. On the other hand, studies of *Aloe vera* evaluating its clinical effectiveness for a variety of indications were undertaken. They found that oral *Aloe vera* might be valuable for reducing cholesterol or glucose levels^{2,3,11}.

We observed in our work that the aqueous extract of *Aloe vera* probably was responsible to a high increase of the levels of AST and ALT, demonstrating its hepatotoxicity. Our study also demonstrated low levels of cholesterol, triglycerides and glucose in *Wistar* rats treated orally with aqueous extract of this plant. These biochemical changes may be related to the biological and/or metabolic effects of *A. vera*. According to Patel & Mengi (2008)¹¹, the *Aloe vera* extract has hipolipidemic, hipoglicemic and antitrombotic activities. This fact probably explains the reduced levels of these biochemical dosages (cholesterol, triglycerides and glucose) in the treated rats.

The use of phytotherapeutic products by the world population has greatly increased in the last decades. Vegetal extracts and synthetic drugs can generate metabolites capable to promote morphological and/or physiological modifications in treated animals. Several authors have demonstrated that the biodistribution of radiopharmaceuticals may be altered by natural and/or synthetic drugs, diets and surgery^{6,8,12,13,14,15}. We have previously shown that the antiparasitic drugs glucantime and mefloquine can alter the biodistribution *in vivo* of ^{99m}Tc-methylenediphosphonic acid (^{99m}Tc-MDP) in *Wistar* rats^{8,12}. Besides these studies, changes on the biodistribution of the Na^{99m}TcO₄ in organs of the *Wistar* rats were observed after treatment with natural products such as *Artemisia vulgaris* and *Punica granatum*^{8,15}. In our experiment, we demonstrated that the aqueous extract of *Aloe vera* facilitated the uptake of the Na^{99m}TcO₄ in organs, increasing their uptake in blood, femur, kidneys, liver, stomach, testis and thyroid of *Wistar* rats. Probably, clinical implications can be observed in cases of patients using this plant extract.

Conclusions

The results of the present study indicated that the aqueous extract of *Aloe vera* in rats has hypolipemic and hypoglycemic effects and demonstrated to be toxic to the liver. In addition, it facilitated the uptake of Na^{99m}TcO₄ in some organs, with possible clinical implications in nuclear medicine imaging.

References

1. Choi S, Chung, MH. A review on the relationship between *Aloe vera* components and their biological effects. *Semin Integr Med.* 2003;1:53-62.
2. Chithra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. Influence of *Aloe vera* on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *J Ethnopharm.* 1998;59:195-201.
3. Capasso F, Borrelli F, Capasso R, Di Carlo G, Izzo AA, Pinto L, Mascolo N, Castaldo S, Longo R. *Aloe* and its therapeutic use. *Phytother Res.* 1998;12:124-7.
4. Reynolds T, Dweck AC. *Aloe vera* leaf gel: a review update. *J Ethnopharm.* 1999;68: 3-37.
5. Ni Y, Turner D, Yates KM, Tizard I. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *Int Immunopharm.* 2004;4:1745-55.
6. Bernardo-Filho M, Santos-Filho SD, Moura EG, Maiworm AI, Orlando MMC, Penas ME, Cardoso VN, Bernardo LC, Brito LC. Drug interaction with radiopharmaceuticals: a review. *Braz Arc Biol Technol.* 2005; 48:13-27.
7. Holanda CMCX, Leite RCH, Catanho MTJA, Souza GML, Bernardo-Filho M. The effect of glucantimeTM on the labeling of blood constituents with technetium99m. *Acta Cir Bras.* 2005;20(suppl.1):126-30.
8. Holanda CMCX, Leite RCH, Nunes RAS, Oliveira HA, Catanho MTJA, Souza GML, Bernardo-Filho M. Effect of antimalarial drugs on the bioavailability of the methylenediphosphonic acid labeled with technetium99m (^{99m}Tc-MDP) in *Wistar* rats. *Braz Arch Biol Technol.* 2006;49:207-14.
9. Stickel F, Patsenker E, Schuppan D. Herbal hepatotoxicity. *J Hepatol.* 2005;43:901-10.
10. Rabe C, Musch A, Schirmacher P, Kruis W, Hoffmann R. Acute hepatitis induced by an *Aloe vera* preparation:a case report. *J Gastroenterol.* 2005;11:303-4.
11. Patel PP, Mengi SA. Efficacy studies of *Aloe vera* gel in atherosclerosis. *Atherosclerosis Supp.* 2008;9:210-11.
12. Xavier-Holanda CMC, Jales RLC, Catanho MTJA, Leite RCH, Brito LML, Jales-Jr LH, Brandão KC, Amorim LF, Brito GGB, Gomes ML, Bernardo-Filho M. Effects of the glucantime on the kinetic of biodistribution of radiopharmaceuticals in *Wistar* rats. *Cell Mol Biol.* 2002;48:761-5.
13. 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(Suppl 1):76-80.

14. Araújo-Filho I, Rego ACM, Brandão-Neto J, Villarim-Neto A, Egito EST, Azevedo IM, Medeiros A C. Biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate after biliopancreatic bypass with a duodenal switch. *Braz Arch Biol Technol.* 2007;50:189-97.
15. Amorim LF, Xavier-Holanda CMC, Catanho MTA, Terra DA, Brandão KC, Jales-Jr LH, Britto LML, Gomes ML, Melo VG, Bernardo-Filho M, Jales RLC. Assessment of the effect of *Punica granatum* (pomegranata) on the bioavailability of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate (^{99m}Tc) in *Wistar* rats. *Cell Mol Biol.* 2003;49:501-7.

5.2 RESULTADOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

5.2.1 II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE

ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM RATAS WISTAR SUBMETIDAS CRONICAMENTE AO TRATAMENTO COM PACLITAXEL (*Taxus baccata*). Oliveira, E. H.*; Costa, M. B.*; Silva, N. C. Z.*; Oliveira, D. P.*; Silva-Jr., M. F.*; Lima, N. A.*; Alves, R. C.*; Cunha, E. Q.*; Silva, R. P.**; Barbosa, V. S. A.**; Spyrides M. H. C.; Holanda, C. M. C. X. Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Departamento de Estatística e Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, UFRN.

Objetivos: O paclitaxel[®] ou taxol (*Taxus baccata*) é um quimioterápico semi-sintético amplamente utilizado no tratamento de cânceres de ovário, útero e mamas e, ainda, possui uma considerável atividade tripanossomicida *in vitro*. Seu mecanismo de ação é distinto de outros agentes antimicrotubulares, como a vincristina ou a colchicina: protege a despolimerização dos túbulos resultando no bloqueio da multiplicação celular. Esse trabalho objetivou estudar as alterações bioquímicas e hematológicas provocadas pelo tratamento crônico com taxol em ratas *Wistar* após falência ovariana.

Métodos e Resultados: Foram utilizados 12 ratas *Wistar*, com 7 meses de idade, divididas em 2 grupos: um tratado (n=6) e outro controle (n=6). O tratado recebeu dose única de taxol, via intraperitoneal, durante 3 semanas com intervalo de uma semana entre elas; o controle recebeu dose única de solução salina pela mesma via e período. Após o tratamento, foram coletados 5 mL de sangue total para dosagens bioquímicas e hemogramas por método automatizado. As análises estatísticas demonstraram um aumento significativo ($p<0,05$), do tratado em relação ao controle, respectivamente em: número global de leucócitos ($3291,66 \pm 684,11$ e $860 \pm 338,23$); percentual de neutrófilos ($65 \pm 5,36$ e $34,83 \pm 7,05$); dosagens de glicose ($154,66 \pm 33,60$ e $97,83 \pm 14,95$), TGP ($158,33 \pm 16,90$ e $110,16 \pm 25,18$) e potássio ($5,66 \pm 1,00$ e $4,56 \pm 0,78$). Ocorreu uma diminuição significativa ($p<0,05$) nos valores relativos de linfócitos e eosinófilos, do controle em relação ao tratado, respectivamente, de ($53,33 \pm 9,37$ para $29,83 \pm 5,07$) e ($7,33 \pm 3,66$ para $3,33 \pm 1,36$).

Conclusão: De acordo com os resultados parciais obtidos, pode-se inferir que o taxol, provavelmente, causou uma leve hepatotoxicidade, diminuiu a produção ou aumentou a resistência periférica à insulina, justificando, assim, o aumento das taxas da TGP e glicose observada, respectivamente.

Apoio Financeiro: PROPESQ/PPgCSa/UFRN

5.2.2 II Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE

INFLUÊNCIA DO *Aloe vera* NOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM RATOS *WISTAR*

Costa*, Monique Batista da; Oliveira*, Elias Herculano da; Silva*, Natália Chilinque Zambão da; Oliveira*, Daniel Pereira de; Júnior*, Maurício Ferreira da Silva; Lima*, Natália Alves; Alves*, Raphaela Cavalcante; Silva**, Roseane Pereira da; Barbosa**, Vanessa Santos de Arruda; Holanda, Cecília Maria de Carvalho Xavier. Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, UFRN.

Objetivos: O uso de medicamentos à base de produtos naturais vem crescendo enormemente nos últimos anos. O extrato aquoso de *Aloe vera* é muito usado como estimulante de cicatrização de feridas, no tratamento de queimados graves em hospitais, no combate de determinadas infecções gastrintestinais e urinárias, como analgésico e em muitos outros casos. Esse estudo objetivou avaliar *in vivo* a influência do extrato aquoso de *Aloe vera* no hemograma e dosagens bioquímicas de ratos *Wistar*.

Métodos e Resultados: Foram utilizados 12 ratos *Wistar* machos, com idade média de 3 meses e massa corpórea média de 200 gramas. Os animais foram divididos em 02 grupos: um controle e um tratado. O grupo tratado recebeu doses diárias do extrato de *Aloe vera* (5mg/mL/dia), dissolvido em sorbitol, via oral, durante 10 dias, e o controle recebeu 1 mL de solução de sorbitol pelo mesmo período e via. Após o tratamento, foram coletados 5mL de sangue total para dosagens bioquímicas e hemogramas por método automatizado. As análises estatísticas demonstraram uma diminuição estatisticamente significativa ($p<0,05$), no grupo tratado em relação ao controle, respectivamente, nas seguintes dosagens bioquímicas: creatinina ($0,37\pm0,04$ mg/dL e $0,48\pm0,11$ mg/dL), uréia ($34,66\pm5,71$ mg/dL e $43,83\pm8,15$ mg/dL) e TGP ($48,83\pm17,10$ U/L e $82,50\pm29,99$ U/L). Não houve alterações estatisticamente significativas nos dados hematológicos de ambos os grupos.

Conclusão: De acordo com os resultados parciais obtidos, pode-se inferir que o *Aloe vera*, conhecido popularmente por “babosa”, provavelmente, não altera parâmetros hematológicos e bioquímicos de ratos *Wistar* tratados cronicamente com esse produto natural.

Apoio Financeiro: PROPESQ/PPgCSa/UFRN.

5.2.3 XXII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE

EFEITO DO EXTRATO DE ALOE VERA (BABOSA) NA BIODISPONIBILIDADE DO PERTECNETATO DE SÓDIO ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) EM RATOS WISTAR

Silva*, Natália C. Z. da; Costa*, Monique B. da; Oliveira*, Elias H. de; Oliveira*, Daniel P. de; Silva-Júnior*, Maurício F. da; Lima*, Natália A.; Alves*, Raphaela C.; Silva**, Roseane P. da; Barbosa**, Vanessa S. de A.; Spyrides, M^a Helena C.; Medeiros, Aldo C.; Bernardo-Filho, Mário e Holanda, Cecília M^a de C. X. Departamento de Estatística/UFRN, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/UFRN, Departamento de Biofísica e Biometria/UERJ e Departamento de Microbiologia e Parasitologia/UFRN.

Objetivos: O uso de medicamentos à base de produtos naturais vem crescendo enormemente nos últimos anos. O extrato aquoso de *Aloe vera*, popularmente conhecido por “babosa”, é muito usado como estimulante de cicatrização de feridas, no tratamento de queimados graves em hospitais, no combate de determinadas infecções gastrintestinais e urinárias, como analgésico e em muitos outros casos. Objetivou-se avaliar *in vivo* a influência do extrato da “babosa” na biodisponibilidade do radiofármaco pertecnetato de sódio em ratos *Wistar*.

Métodos e Resultados: Foram utilizados 12 ratos *Wistar* machos, da mesma linhagem, idade de 3 meses e massa corpórea de ± 200 gramas. Aleatoriamente, foram divididos em 2 grupos: um controle e um tratado. O grupo tratado recebeu doses diárias (5mg/mL/dia) do extrato de *Aloe vera*, pelo método de gavagem, durante 10 dias e o controle recebeu solução de sorbitol pelo mesmo período e via. No 10º dia, cada rato de ambos os grupos recebeu, via plexo orbital, uma dose de 0,1ml (3,7MBq) de tecnécio-99m. Após 60 minutos, os animais foram sacrificados, 20 órgãos foram retirados, pesados e levados ao contador de radiação gama para contagem do percentual de radioatividade por grama de órgão (%ATI/g). Houve uma diminuição muito significativa ($p<0,005$) no % ATI/g, do tratado em relação ao controle, respectivamente, nos seguintes órgãos: coração ($0,0014 \pm 0,0001$ e $0,0053 \pm 0,0006$), cérebro ($0,0001 \pm 0,0000$ e $0,0018 \pm 0,0005$), músculo ($0,0003 \pm 0,0001$ e $0,0059 \pm 0,0023$) e pâncreas ($0,0013 \pm 0,0005$ e $0,0225 \pm 0,0153$) e um aumento bastante significativo ($p<0,001$) do %ATI/g, do tratado em relação ao controle, respectivamente, nos órgãos: estômago ($0,0207 \pm 0,0038$ e $0,0012 \pm 0,0007$), fêmur ($0,0012 \pm 0,0003$ e $0,0002 \pm 0,0001$), rins ($0,0034 \pm 0,0006$ e $0,0002 \pm 0,0001$), sangue ($0,0060 \pm 0,0009$ e $0,0010 \pm 0,0004$), testículos ($0,0012 \pm 0,0001$ e $0,0001 \pm 0,0001$) e tireóide ($0,0251 \pm 0,0127$ e $0,0003 \pm 0,0002$).

Conclusão: Tendo em vista o grande uso desse produto natural na medicina popular no Brasil em outros países, e que os resultados parciais obtidos revelaram alterações consideráveis nos %ATI/g de órgãos de animais tratados cronicamente com a “babosa” é importante o conhecimento e divulgação desse estudo para a comunidade científica visando uma melhor interpretação dos resultados de exames de imagem em pacientes que fazem uso de *Aloe vera*.

Apoio Financeiro: PROPESQ/PPgCSa/UFRN.

5.2.4 6th International Congress of Pharmaceutical Sciences – CIFARP 2007

EFFECT OF THE EXTRACT OF *Artemisia vulgaris* ON BIOCHEMICAL PARAMETERS IN MICE EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Trypanosoma cruzi*

DANIEL PEREIRA DE OLIVEIRA(IC)⁽¹⁾; ROSEANE PEREIRA DA SILVA(PG)^(1,5); VANESSA SANTOS DE ARRUDA BARBOSA(PG)^(2,5); NATÁLIA ALVES LIMA(IC)⁽¹⁾; MARIA DAS GRAÇAS ARAÚJO DO NASCIMENTO(PG)^(1,3); LOUSIANNY GUERRA DA ROCHA(PQ)⁽¹⁾; CÍCERO FLÁVIO SOARES ARAGÃO(PQ)⁽¹⁾; ALDO CUNHA DE MEDEIROS(PQ)^(1,5); CECÍLIA MARIA DE CARVALHO XAVIER HOLANDA(PQ)^(1,4,5).

⁽¹⁾Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN); ⁽²⁾Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte; ⁽³⁾Núcleo de Hematologia e Hemoterapia da UFRN; ⁽⁴⁾Hospital Universitário Onofre Lopes/UFRN; ⁽⁵⁾Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/UFRN.

Introduction: Artemisinin, an ancient chinese herbal remedy, has been used for chills and fevers for more than 2000 years. The drug is present in the leaves and flowers of the plant *Artemisia vulgaris L.* **Objective:** The aim of this study was to evaluate the effect of the hydroalcoholic extract of *Artemisia vulgaris* on some biochemical parameters in mice infected with Y strain of *Trypanosoma cruzi*. **Methodology:** Swiss mice were inoculated intraperitoneally with 1×10^5 blood tripomastigotes. At the peak of parasitemia (7-9 days) a single dose of 250mg/kg of the extract was given by oral via. Untreated mice similarly inoculated were used as controls and received sorbitol by the same dosage and via. Six hours after drug administration, it was collected 5mL of blood per animal in all the groups. It was used automated methods for biochemical dosages. **Results and Conclusions:** There was a significant ($p<0.05$) decrease of biochemical dosages, after treatment with the extract, from control to treated groups, respectively in: glucose ($117.5 \pm 23\text{mg/dL}$ to $62 \pm 41.9\text{mg/dL}$), albumin ($3.0 \pm 0.3\text{g/dL}$ to $2.6 \pm 0.2\text{g/dL}$), cholesterol ($134.7 \pm 9.5\text{mg/dL}$ to $100.2 \pm 17.5\text{mg/dL}$) and white blood cells ($2615 \pm 461/\text{mm}^3$ to $681 \pm 36/\text{mm}^3$). It was observed a significant increase ($p<0.05$), from control to treated groups, respectively, in: triglycerides ($159.5 \pm 3.4\text{mg/dL}$ to $163.8 \pm 73\text{mg/dL}$); glutamic-oxaloacetic transaminase ($110.5 \pm 40.4\text{U/L}$ to $621 \pm 462\text{U/L}$) and glutamic-pyruvic transaminase ($74.7 \pm 10.4\text{U/L}$ to $423.8 \pm 103.6\text{U/L}$). Various plant extracts are traditionally used for their therapeutic effects. The hydroalcoholic extract of *Artemisia vulgaris* has active constituents with hypoglycemic activity. Then, the decrease on blood glucose levels in the treated group could be associated with the effect of this plant.

Financial Support: HUOL/UFRN.

5.2.5 XX Congresso Brasileiro de Parasitologia

SUSCEPTIBILIDADE IN VIVO DA CEPA Y DE TRYPANOSOSMA CRUZI AO EXTRATO AQUOSO DE *Aloe vera*

Área: Protozoologia

Roseane Pereira da Silva (*UFRN*); Vanessa Santos de Arruda Barbosa (*FARM*); Daniel Pereira de Oliveira (*UFRN*); Natália Alves Lima (*UFRN*); Antônia Cláudia Jácome da Câmara (*UFRN*); Maria Helena Constantino Spyrides (*UFRN*); Maria Iracema Bezerra Loiola (*UFRN*); Aldo Cunha Medeiros (*UFRN*); Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda (*UFRN*)

Introdução: É crescente o uso de medicamentos à base de produtos naturais pela população humana nos últimos anos. O extrato aquoso de *Aloe vera* (babosa) é muito usado como analgésico, cicatrizante de feridas, tratamento de queimaduras, infecções gastrintestinais e urinárias, dentre outros. Entretanto, é quase inexistente na literatura dados sobre sua ação antiparasitária. O medicamento sintético padrão utilizado na doença de Chagas humana é o Rochagan®.

Objetivos: Objetivou-se avaliar in vivo a influência do *Aloe vera* no índice parasitário sanguíneo de camundongos infectados com a cepa Y de *T. cruzi*.

Metodologia: 18 camundongos machos (20g) foram divididos em 3 grupos (1 controle e 2 tratados). Todos receberam, intraperitonealmente, uma suspensão de 1×10^5 triatomastigotas sanguíneos/mL da cepa Y de *T. cruzi*. No pico da parasitemia (7-9 dias) uma única dose de 250mg/Kg do extrato foi administrado, via oral, no grupo tratado 1. Igual processo, com rochagan, no grupo tratado 2 e, com sorbitol, no controle. O número de triatomastigotas foi determinado contando-se 50 campos. A parasitemia foi realizada antes da administração das drogas e após 2, 4 e 6 horas. Utilizou-se o teste ANOVA com $p < 0,05\%$.

Resultado: Houve uma diminuição significativa da parasitemia ($p < 0,05$) no grupo 1, tratado com *A. vera* (de 150 ± 50 para 33 ± 21) e também no do grupo 2 (de 165 ± 20 para 25 ± 10), mas não no grupo controle (de 162 ± 14 para 76 ± 6).

Conclusão: Diante desses dados, conclui-se que o extrato aquoso de *Aloe vera* provavelmente foi capaz de reduzir a parasitemia de camundongos infectados com a cepa Y de *T. cruzi*.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, *Aloe vera*, Parasitemia

5.2.6 XX Congresso Brasileiro de Parasitologia

PARASITOSES HUMANAS: CONHECER, EDUCAR E PREVENIR

Área: Educação em Parasitologia

Rodrigo CH Leite¹, Harina A Oliveira¹, Daniel P Oliveira¹, Natália CZ Silva¹, Natália A Lima¹, Monique B Costa¹, Raphaella C Alves¹, Maurício FS Júnior¹, Renata AB Ferreira¹, Vanessa SA Barbosa¹, Roseane P Silva¹, Louisianny G Rocha¹ e Cecília MCX Holanda¹.

1.Universidade Federal do Rio Grande do Norte-RN

INTRODUÇÃO Parasitologia é a ciência que estuda os aspectos morfológicos dos parasitos, as doenças por eles causadas, seus vetores biológicos/mecânicos e a relação parasito-hospedeiro. **OBJETIVOS** Esse trabalho visou maximizar o ensino da parasitologia, com práticas ilustrativas e demonstrativas, possibilitando um maior aprendizado da morfologia dos parasitos e uma memorização mais fácil do conhecimento teórico adquirido em sala de aula. Além disso, objetivou principalmente estender esse conhecimento a populações carentes e desinformadas sobre os mecanismos de transmissão e prevenção das doenças parasitárias. **MATERIAIS E MÉTODOS** Monitores de Parasitologia se dispuseram a ensinar como conhecer, diagnosticar e prevenir doenças parasitárias, por meio áudio-visuais para além da sala de aula, ou seja, levando essas informações a bairros carentes de nossa cidade através do projeto “Prevenção de doenças parasitárias e infecciosas em populações carentes da cidade do Natal”. Foram ministradas palestras com distribuição de cartilhas educativas aos adultos, além da apresentação de peça teatral para crianças dessas comunidades. **RESULTADOS E CONCLUSÕES** Os monitores da disciplina tiveram a oportunidade de exercitar a docência em sala de aula a alunos de graduação de diversos cursos da área biomédica, adquirir mais conhecimentos teórico-práticos, ter contato com a comunidade, permitindo que esta conheça, eduque-se e aprenda a se prevenir, de forma clara e acessível, contra diversas enfermidades comuns em nosso meio.

Palavras-Chaves: Parasitologia, Prevenção, Educação.

5.2.7 IV Fórum Natalense dos Estudantes de Medicina

EFEITO DO EXTRATO DE *Artemisia vulgaris* NA BIOQUÍMICA DO SANGUE DE CAMUNDONGOS COM INFECÇÃO CHAGÁSICA.

NATÁLIA ALVES LIMA^{1,2}; ROSEANE PEREIRA DA SILVA³; MAURÍCIO FERREIRA DA SILVA JÚNIOR^{1,2}; RAPHAELLA CAVALCANTE ALVES^{1,2}; VANESSA SANTOS DE ARRUDA BARBOSA^{3,4}; CECÍLIA MARIA DE CARVALHO XAVIER HOLANDA^{1,2,3}.

¹Departamento de Microbiologia e Parasitologia; ²Hospital Universitário Onofre Lopes;

³Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde; ⁴Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte.

Introdução: Artemisinina é um produto medicinal derivado das folhas e flores da *Artemisia vulgaris L.* e usado para calafrios e febres há mais de 2000 anos. **Objetivo:** Este estudo avaliou o efeito do extrato hidroalcoólico da artemisinina em alguns parâmetros bioquímicos de camundongos infectados com *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*).

Métodos: Cinco camundongos suíços foram infectados intraperitonealmente com 1×10^6 tripomastigotas sanguíneas da cepa Y de *T. cruzi*. No pico parasitêmico (7-9 dias) uma única dose de 250mg/kg do extrato foi administrado por via oral. Outros 5 animais, similarmente infectados, foram tratados com sorbitol do mesmo modo (grupo controle). Seis horas após a administração das drogas, coletou-se 5 mL de sangue total de todos os animais e foram procedidas as dosagens bioquímicas por método automatizado (Konelab 60i). **Resultados:** Houve uma diminuição significativa ($p < 0,05$), do controle para o tratado, respectivamente, nas seguintes dosagens: glicose ($117,5 \pm 23,0$ mg/dL para $62,0 \pm 21,9$ mg/dL), albumina ($3,0 \pm 0,3$ g/dL para $2,6 \pm 0,2$ g/dL) e colesterol ($134,7 \pm 9,5$ mg/dL para $100,2 \pm 17,5$ mg/dL). Observou-se um significante aumento ($p < 0,05$), do controle para o tratado, respectivamente, em: triglicerídeos ($159,5 \pm 3,4$ mg/dL para $163,8 \pm 33,0$ mg/dL); transaminase glutâmico-oxalacética ($110,5 \pm 10,4$ U/L para $621,0 \pm 162,0$ U/L) e transaminase glutâmico-pirúvica ($74,7 \pm 10,4$ U/L para $423,8 \pm 103,6$ U/L). **Conclusões:** Vários extratos de plantas são tradicionalmente usados por seus efeitos terapêuticos. O extrato hidroalcoólico da *Artemisia vulgaris* possui substâncias ativas com atividade hipoglicemiante já estabelecida na literatura. Assim, o decréscimo dos níveis de glicose sanguínea observado nos animais tratados, provavelmente, pode estar relacionado com a atividade anti-diabética da *Artemisia vulgaris*.

Apoio financeiro: HUOL/UFRN.

5.2.8 I Simpósio de Dosimetria Interna Aplicada à Medicina Nuclear

AN IN VITRO STUDY OF THE EFFECT OF ROCHAGAN® ON THE RADIOLABELING OF BLOOD CONSTITUENTS WITH SODIUM PERTECHNETATE

Maurício Ferreira da Silva Júnior¹, Raphaella Cavalcante Alves¹, Louisianny Guerra da Rocha¹, Vanessa Santos de Arruda Barbosa³, Roseane Pereira da Silva³, Cecília Maria de Carvalho Xavier Holanda^{1, 2, 3}.

1Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Centro de Biociências, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Av. Salgado Filho, 3000 – 59078-970, Natal/RN, Brasil.

2Hospital Universitário Onofre Lopes, Centro de Ciências da Saúde - UFRN, Av. Nilo Peçanha, s/n – 620-59012-300, Natal/RN, Brasil.

3Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde - UFRN, Av. Nilo Peçanha, s/n – 620-59012-300, Natal/RN, Brasil.

The labeling of red blood cells (C) with sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) is employed in clinical nuclear medicine for a variety of diagnostic procedures. Drugs can alter this labeling method and modify the disposition of the radiopharmaceuticals. In this work, the influence of rochagan® on the labeling of blood constituents with $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ was reported. Heparinized whole blood was withdrawn from three healthy men. Samples of 500 μL of the blood were gently mixed and incubated with 100 μL of different concentrations (6.25%; 12.5%; 25.0%; 50.0%; 100.0%) of rochagan solution. Stannous chloride (500 μL ; 1.2 $\mu\text{g/mL}$) and $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ (100 μL ; 3.7MBq/mL) were added. After centrifugation, plasma (P) and (C) were isolated. Samples of P and C were precipitated with TCA 5% (1.0 mL) and insoluble (IF) and soluble fractions (SF) were separated. The control samples were prepared using 100 μL of 0.9% NaCl. The percentages of total activity injected (%ATI) in C, IF-P and IF-C were calculated ($p<0.05$). The %ATI on C decreased from control to following concentrations of rochagan (6.25%; 12.5%; 25%; 50%; 100%), respectively: 90.15 ± 0.14 (control) to 70.80 ± 4.21 ; to 64.36 ± 0.33 ; to 57.30 ± 1.56 ; to 50.28 ± 2.71 ; to 42.41 ± 2.24 . On IF-C the %ATI decreased from control to all the concentrations of rochagan (6.25%; 12.5%; 25%; 50%; 100%), respectively: 84.70 ± 0.87 (control) to 67.16 ± 4.38 ; to 63.63 ± 2.92 ; to 59.02 ± 3.17 ; to 43.75 ± 1.00 ; to 24.15 ± 0.94 and also observed a significant ($p<0.05$) reduction in radioactivity fixation in IF-P from control to all the concentrations of rochagan (6.25%, 12.5%, 25%, 50% and 100%), respectively: 83.46 ± 1.09 (control) to 50.90 ± 3.36 ; to 35.46 ± 4.13 ; to 35.78 ± 2.31 ; to 28.74 ± 3.09 ; to 19.66 ± 1.34 . This effect was probably due to products present in this drug that may complex with ions (Sn^{+2} and $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4^-$) or have a direct or indirect effect on intracellular stannous ion concentration.

KEY WORDS: *Radiolabeling; Sodium pertechnetate; Rochagan; Blood constituents, Technetium-99*

5.2.9 | International Symposium in Pharmaceutical Sciences of Northeast Brazil

EFFECT OF BENZNIDAZOLE (ROCHAGAN®) ON BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN WISTAR RATS

(1, 2, 3) HOLANDA, C. M. C. X.; (1) BARBOSA, V. S. A.; (1) SILVA, R. P.; (3) OLIVEIRA, D. P.; (3) OLIVEIRA, E. H.; (3) SILVA-JÚNIOR, M. F.; (1, 2) MEDEIROS, A. C.

(1) Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) - Avenida Nilo Peçanha, s/n – CEP 59012-300, Natal/RN, Brasil.

(2) Hospital Universitário Onofre Lopes, Centro de Ciências da Saúde - UFRN, Avenida Nilo Peçanha, 620 – CEP 59012-300, Natal-RN, Brasil.

(3) Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Biociências - UFRN, Avenida Salgado Filho, 3000 – CEP 59078-970, Natal/RN, Brasil.

E-mail: cechol@ufrnet.br

Benznidazole (Rochagan®) or N-benzyl-2-nitroimidazole-1-acetamide is a chemotherapeutic agent anti-*Trypanosoma cruzi* *in vivo* e *in vitro*, which seems to act via a different mechanism (reductive stress), which involves covalent modification of macromolecules, such as DNA, proteins and lipids by nitroreduction intermediates. This compound can eliminate acute phase symptoms and cure at least 50% of recent infections. In the chronic phase its efficacy is limited to only 8% of cure. Besides its restricted efficacy, it has been also reported that benznidazole may cause severe side effects in patients and resistance in the parasite, probably due to heterogeneity of *T. cruzi* populations. The aim of this study was to evaluate the chronic effect of the benznidazole on the biochemical and hematological parameters in *Wistar* rats. Twelve *Wistar* male rats (3 months, 200g) were divided into 2 groups (control and treated). The treated group received 5mg/Kg/day of rochagan by oral via, during 30 days, and the control group received sorbitol solution by the same via and period. In the last day, it was collected 5mL of blood, by intracardiac via, per animal in the both groups. It was used automated methods for the accomplishment of the laboratorial parameters. The data were performed by Mann-Whitney test ($p<0.05\%$). The results showed significant alterations from treated to control groups, respectively in: alanine aminotransferase (UI/L) (56.66 ± 9.67 and 73.16 ± 8.49), segmented leukocytes (%) (34.00 ± 8.78 and 57.50 ± 2.95) and lymphocytes (%) (58.60 ± 7.89 and 34.50 ± 2.43). There was no significant alteration in the other parameters (iron, total and fraction proteins, aspartate aminotransferase, creatinine, glucose, hemoglobin, hematocrite, white blood cells, red blood cells, monocytes, eosinophylus and plaques). These results could be associated with the biological effects and/or metabolization of the studied drug in liver and bone marrow and probably are secondary effects due to prolonged treatment in Chagas'disease.

Apoio financeiro: HUOL, PPgCSa, PROPESQ – UFRN.

5.2.10 20th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, XXXV Brazilian Congress of Clinical Analysis and VIII Brazilian Congress of Clinical Cytology

THE EFFECT OF EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS IN THE PARASITEMIA OF THE *Trypanosoma cruzi*

Silva R.P.¹, Barbosa V.S.A.¹, Oliveira D.P.³, Silva Júnior M.F.³, Lima N.A.³, Alves R.C.³, Costa M.B.³, Oliveira E.H.³, Rocha L.G.³ and Holanda C.M.C.X.^{1, 2, 3}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) - Avenida Nilo Peçanha, s/n – CEP 620-59012-300, Natal/RN, Brasil.

² Hospital Universitário Onofre Lopes, Centro de Ciências da Saúde - UFRN, Avenida Nilo Peçanha, s/n – CEP 620-59012-300, Natal-RN, Brasil.

³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Biociências - UFRN, Avenida Salgado Filho, 3000 – CEP 59078-970, Natal/RN, Brasil.

E-mail: roseanebiol@bol.com.br

INTRODUCTION. The popularity and use of herbal medicine products are gradually increasing among healthy individuals. Many of these plants can be outstanding, as for instance, the old plant chinese medicinal *Artemisia vulgaris L.* (artemisinin) which has been used for chills and fevers for more than 2000 years. In the present time, the artemisinin represents a new class of antimalarials which is effective against drug-resistant *P. falciparum* strains. On the other hand, *Aloe vera L.*, a tropical or subtropical plant from North Africa, popularly known in Brazil as “babosa”, possess biological activities such as antiinflammation, anti-cancer, anti-diabetes, macrophage activation, laxative effect and topical treatment of skin burns and wounds. Benznidazole (Rochagan, Roche) is a trypanocidal to all forms of the intracellular flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas'disease. However, it can cause systemic toxicity and adverse effects that include anorexia, nausea, vomiting, headache, central nervous system depression or maniacal symptoms, seizures, vertigo, paresthesias, peripheral polyneuropathies, and dermatitis. Then, the efficacy of this drug in treating the chronic phase of the disease is very low. There is no report in the scientific literature about the trypanocidal activity of the artemisinin and/or babosa. The aim of this study was to evaluate the susceptibility *in vivo* of Y strain of *Trypanosoma cruzi* to active natural products (*Artemisia vulgaris* and *Aloe vera*).

MATERIAL AND METHODS. Twenty Swiss male mice (18-20g) were divided into four groups (two control and two treated groups). All the groups were inoculated intraperitoneally with 1×10^5 blood tripomastigotes forms of *T. cruzi*. At the peak of parasitemia (7-9 days) a single dose of 250mg/kg/day of the hydroalcoholic extract of *Aloe vera* was given by oral via in the first treated group (n=5); the second treated group (n=5) received 250mg/kg/day of the hydroalcoholic extract of *Artemisia vulgaris* by the same via. The first control group (n=5) received 250mg/kg/day of the rochagan solution also orally. Untreated mice (n=5), similarly inoculated, were used as the second control group and received sorbitol solution by the same dosage and via. The number of circulating bloodstream forms was determined according to Brener (1962), before and 2, 4 and 6 hours after drug administration.

RESULTS. The results are shown in the table below:

Table 1 – Number of circulating bloodstream forms of the *T.cruzi* after the treatment with rochagan, *Aloe vera* and artemisinin.

Period (hs)	Sorbitol Solution	Rochagan Solution	<i>Aloe vera</i> extract	Artemisinin extract
0	162.00±14.72	165.80±20.30	150.00±50.80	164.30±13.70
2	165.50±17.48	198.50±12.00	151.80±38.80	300.00±139.60
4	122.00±16.16	46.50±4.70	138.80±17.10	392.80±55.20
6	76.25±6.85	25.25±1.14	33.50±11.90	400.80±82.50

CONCLUSIONS. In conclusion, the according to these data the hydroalcoholic extract of *Aloe vera* possibly it was capable to reduce the parasitemia of the infected animals by *T. cruzi*. On the other hand, the hydroalcoholic extract of *Artemisia vulgaris* it was not capable to reduce the parasitemia of the chagasic mice.

5.2.11 20th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, XXXV Brazilian Congress of Clinical Analysis and VIII Brazilian Congress of Clinical Cytology

EFFECT OF THE EXTRACT OF *Aloe vera* (babosa) ON BIOCHEMICAL PARAMETERS IN MICE EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Trypanosoma cruzi*

Holanda C.M.C.X.^{1,2,3}, Silva R.P.¹, Barbosa V.S.A.¹, Oliveira D.P.², Lima N.A.², Silva-Júnior M.F.², Alves R.C.², Costa M.B.², Oliveira E.H.² and Medeiros A.C.^{1,2}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) - Avenida Nilo Peçanha, s/n – CEP 620-59012-300, Natal/RN, Brasil.

² Hospital Universitário Onofre Lopes, Centro de Ciências da Saúde - UFRN, Avenida Nilo Peçanha, s/n – CEP -59012-300, Nata/-RN, Brasil.

³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Biociências - UFRN, Avenida Salgado Filho, 3000 – CEP 59078-970, Natal/RN, Brasil.

E-mail: cechol@ufrnet.br

INTRODUCTION. The intracellular flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi* is the etiological agent of Chagas'disease, an endemic Latin America parasitosis which has infected 16–18 million infected people and persists for the lifetime of the human/mammalian host. This disease is characterized by an acute phase with detectable parasitemia and a long-lasting asymptomatic phase. American trypanosomiasis or Chagas' disease is a major public health concern in Latin America. It takes second place after malaria in prevalence and mortality due to vector associated diseases. The most important mode of transmission of this disease is associated with the feces of several species of triatomine bugs that are strictly hematophagous. Chagas' disease is controlled at present through the elimination of the vectors with insecticides; better housing and educational campaigns are also fruitful approaches. Chagas' disease, as well as other parasitic diseases, is associated with poverty and low educational levels. Nifurtimox and benznidazole are trypanocidal to all forms of the parasite. However, they can cause systemic toxicity and adverse effects that include anorexia, nausea, vomiting, headache, central nervous system depression, seizures, vertigo, paresthesias and dermatitis. Then, the efficacy of these drugs in treating the chronic phase of the disease is very low. The use of natural products with therapeutic properties is as ancient as human civilization and, for a long time, mineral, plant and animal products were the main sources of drugs. The use of phytotherapeutic products by the world population has greatly increased in the last decades The *Aloe vera*, popularly known in Brazil as "babosa", is a tropical or sub-tropical plant from North Africa and have been used over the years to treat various ailments and have been referred to as the miracle plant . It has been suggested that the extract of the plant promotes healing of diseases through the complex synergistic interaction of many substances, and some specially prepared *A. vera* extracts possess some biological activities such as antiinflammation, anti-cancer, anti-diabetes and macrophage activation. However, the effect t anti-*T. cruzi* is not known until the moment. The aim of this study was to evaluate the effect of the hydroalcoholic extract of *Aloe vera* on some biochemical parameters in mice infected with Y strain of *Trypanosoma cruzi*.

MATERIAL AND METHODS. Swiss male mice (n=10, 18-20g) were inoculated intraperitoneally with 1×10^5 blood tripomastigotes. At the peak of parasitemia (7-9 days)

a single dose of 250mg/kg/day of the hydroalcoholic extract of *Aloe vera* was given by oral via (n=5). Untreated mice (n=5), similarly inoculated, were used as controls and received sorbitol solution by the same dosage and via. Six hours after drugs administration, it was collected 5mL of blood per animal in all the groups. It was used automated methods for biochemical dosages.

RESULTS. There was a significant ($p<0.05$) decrease of biochemical dosages, after treatment with the extract, from control to treated groups, respectively in: glucose (117.50 ± 23.00 mg/dL to 113.00 ± 10.58 mg/dL), cholesterol (134.70 ± 9.50 mg/dL to 68.75 ± 4.35 mg/dL) and triglycerides (159.50 ± 3.40 mg/dL to 67.50 ± 3.79 mg/dL). It was observed a significant increase ($p<0.05$), from control to treated groups, respectively, in: aspartate aminotransferase (AST or TGO) (110.50 UI/L ±40.40 UI/L to 955.00 UI/L ±201.00 UI/L) and alanine aminotransferase (ALT or TGP) (74.70 UI/L ±10.40 UI/L to 476.00 UI/L ±74.40 UI/L).

CONCLUSIONS. The results of the present study indicated that the *Aloe vera* probably possess antihyperlipidaemic, hypoglycemic and antithrombotic activity. However, the hydroalcoholic extract of *Aloe vera* possibly induced liver damage.

5.2.12 20th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, XXXV Brazilian Congress of Clinical Analysis and VIII Brazilian Congress of Clinical Cytology

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF TRYPANOCIDAL ACTIVITY OF BENZNIDAZOLE (ROCHAGAN[®]) ON THE BIODISTRIBUTION OF THE SODIUM PERTECHNETATE ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) IN *Wistar* RATS

Barbosa¹ V.S.A., Silva¹ R.P., Oliveira³ D.P., Oliveira³, E.H., Silva-Júnior³ M.F., Lima³ N.A., Alves³ R.C., Costa³ M.B., Medeiros^{1, 2} A.C. and Holanda^{1, 2, 3} C.M.C.X.

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) - Avenida Nilo Peçanha, 620 – CEP 59012-300, Natal/RN, Brasil.

² Hospital Universitário Onofre Lopes, Centro de Ciências da Saúde - UFRN, Avenida Nilo Peçanha, s/n – CEP 620-59012-300, Nata/-RN, Brasil.

³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Biociências - UFRN, Avenida Salgado Filho, 3000 – CEP 59078-970, Natal/RN, Brasil.

E-mail: vambio@oi.com.br

INTRODUCTION. Chagas' disease, caused by the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*, affects about 15 million people in the Americas, and is a serious public-health problem in many Latin American countries. The drugs most frequently used for specific treatment of Chagas' disease are nitroheterocyclic compounds such as nifurtimox, nitrofuran and nitroimidazole benznidazole (Rochagan, Roche); their activity was discovered empirically more than three decades ago. Both chemotherapeutic agents, when administered during the acute phase of the disease, cure 50 - 70% of the patients. However, both have limited efficacy in treating the chronic phase of the infection. The biodistribution of a radiopharmaceutical, such as sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$), is based on regional blood flows and mainly on organ specificity. Due to these factors a radiopharmaceutical is very used for scintigraphic imaging studies of the stomach, esophagus, blood flow, brain, salivary glands, thyroid and parathyroids glands and choroid plexus. Some effects of drugs can mimic disease symptoms or, in certain instances, induce disease. Such induced disease due to direct toxicity may produce an unexpected biodistribution of radiopharmaceuticals. If unknown, the drug interaction with the radiopharmaceutical may lead to a misvisualization in the scintigraphic procedures in nuclear medicine, leading to misdiagnosis and a requirement to repeat the procedures resulting in unnecessary irradiation of organs of the patients. The aim of this study was available the influence *in vivo* of the benznidazole on the biodistribution of sodium pertechnetate in *Wistar* rats.

MATERIAL AND METHODS. Twelve male *Wistar* rats (3 months old; 200g) were divided into two groups (treated and control) of six animals each one. In the treated group, benznidazole (5 mg/Kg/day) solution, diluted in sorbitol, was administered by oral via into each rat, in single dose during 30 days. In the control group, benznidazole was not administered and sorbitol was administered by the same way (oral via) e period. One hour after the last dose, all the animals received 0.1 ml of $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ (3,7 MBq) by ocular plexus way. Sixty minutes after administered the $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$, ten organs from the all the animals were isolated (brain, stomach, liver, spleen, heart, thin bowel, stout bowel, abdominal muscle, esophagus and blood samples) and the percentage of radioactivity for gram (%ATI/g) of the $^{99\text{m}}\text{Tc}$ was counted in a well Automatic Gamma

Counter. All the data were presented in mean \pm standard deviation and compared by Mann-Whitney test ($p<0.05$).

RESULTS. The results revealed no significant alteration of the %ATI/g in the treated and control groups respectively, in the following organs: brain (0.00020 \pm 0.00007 and 0.00175 \pm 0.00392), stomach (0.02276 \pm 0.01016 and 0.02576 \pm 0.00761), liver (0.00402 \pm 0.00080 and 0.00379 \pm 0.00105), spleen (0.00199 \pm 0.00039 and 0.00211 \pm 0.00076), heart (0.00192 \pm 0.00053 and 0.00158 \pm 0.00039), thin bowel (0.00299 \pm 0.00169 and 0.00390 \pm 0.00132), stout bowel (0.00163 \pm 0.00043 and 0.00149 \pm 0.00071), esophagus (0.00330 \pm 0.00084 and 0.00349 \pm 0.00123), abdominal muscle (0.00063 \pm 0.00014 and 0.00050 \pm 0.00011) and blood samples (0.00811 \pm 0.00165 and 0.00683 \pm 0.00158).

CONCLUSION. The radiopharmaceutical sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) not has your biodistribution altered in rats treated with the drug benznidazole, showing not to harm the interpretation of diagnoses for image.

PIN:U8CMC

5.2.13 VI Congresso da Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares – SBBN 2008

EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DA BABOSA (*Aloe vera*) NA BIODISTRIBUIÇÃO DO PERTECNETATO DE SÓDIO ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) E NOS PARÂMETROS LABORATORIAIS DE RATOS *WISTAR*.

¹MONIQUE BATISTA DA COSTA; ¹NATÁLIA CHILINQUE ZAMBÃO DA SILVA; ²ROSEANE PEREIRA DA SILVA; ³CÍCERO FLÁVIO SOARES ARAGÃO; ⁴MARIA HELENA CONSTANTINO SPYRIDES; ⁵ALDO DA CUNHA MEDEIROS; ⁶CECÍLIA MARIA DE CARVALHO XAVIER HOLANDA.

¹Graduandos do Curso de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN; ²Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFRN; ³Professor Doutor do Depto. de Farmácia–Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos-UFRN; ⁴Professora Doutora do Depto. de Estatística-UFRN; ⁵Professor Doutor do Depto. de Cirurgia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde UFRN; ⁶Professora Doutora do Depto. de Microbiologia e Parasitologia–Laboratório de Ensaios Antiparasitários e de Radiobiologia Experimental da UFRN.

Tópico de interesse: Interação de drogas com radiofármacos.

O extrato aquoso de *Aloe vera*, conhecido popularmente por “babosa”, é usado como analgésico, fungicida, estimulante da cicatrização de feridas, tratamento de queimados graves, infecções gastrintestinais e urinárias, e ainda possui atividade antitumoral. Objetivou-se avaliar *in vivo* a influência da babosa na biodistribuição do radiofármaco $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e nos parâmetros laboratoriais de ratos *Wistar*. Doze animais machos (3 meses de idade) foram divididos em 2 grupos: controle e tratado. O tratado recebeu, por gavagem, dose única de 5mg/mL/dia de babosa durante 10 dias. O controle recebeu sorbitol do mesmo modo e período. No 10º dia pós tratamento todos os animais receberam 0,1mL (3,7MBq) de $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, via plexo orbital. Após 1 hora foram sacrificados, seus órgãos isolados e o percentual de radioatividade por grama de órgão (%ATI/g) foi determinado no contador gama. Antes da injeção do radiofármaco, retiraram-se 3mL de sangue total de ambos os grupos para exames laboratoriais, realizados por métodos automatizados. As análises estatísticas demonstraram uma diminuição, estatisticamente significante ($p<0,05$), das dosagens bioquímicas, do tratado em relação ao controle, respectivamente em: creatinina ($0,3\pm0,0$ e $0,4\pm0,1\text{mg/dL}$), uréia ($34,6\pm5,7$ e $43,8\pm8,1\text{mg/dL}$) e transaminase glutâmico-pirúvica ($48,8\pm17,1$ e $82,5\pm29,9\text{U/L}$). Houve também uma diminuição estatisticamente muito significativa ($p<0,005$) no %ATI/g, do tratado em relação ao controle, respectivamente, nos seguintes órgãos: coração ($0,001\pm0,000$ e $0,005\pm0,000$), músculo ($0,000\pm0,000$ e $0,009\pm0,001$) e pâncreas ($0,001\pm0,000$ e $0,022\pm0,005$). Tendo em vista o grande uso da babosa na medicina popular e que os dados obtidos revelaram alterações nos %ATI/g de alguns órgãos dos animais tratados, é importante o conhecimento e divulgação desse estudo para a comunidade científica, embora feito em animais de experimentação, visando uma melhor interpretação de imagens de pacientes que fazem uso do extrato aquoso de *Aloe vera*.

Palavras-chaves: *Aloe vera*, babosa, $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, interação medicamentosa.

Apoio Financeiro: HUOL, PROPESQ, PPgCSa-UFRN.

5.2.14 VI Congresso da Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares – SBBN 2008

EFFECT OF EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS IN THE PARASITEMIA OF *Trypanosoma cruzi* AND IN THE BIODISTRIBUTION OF THE TECHNETIUM-99m

¹ROSEANE PEREIRA DA SILVA; ²CECÍLIA MARIA DE CARVALHO XAVIER HOLANDA; ³VANESSA SANTOS DE ARRUDA BARBOSA; ⁴DANIEL PEREIRA DE OLIVEIRA; ⁵NATÁLIA ALVES LIMA; ⁵ANTÔNIA CLÁUDIA JÁCOME DA CÂMARA; ⁶ALDO DA CUNHA MEDEIROS.

¹Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFRN;

²Professora Doutora do Depto. de Microbiologia e Parasitologia–Laboratório de Ensaios Antiparasitários e de Radiobiologia Experimental da UFRN;

³Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFRN;

⁴Graduandos do Curso de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN;

⁵Professora Doutora do Depto. de Microbiologia e Parasitologia da UFRN;

⁶Professor Doutor do Depto. de Cirurgia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFRN.

Tópico de interesse: modelos experimentais.

The use of medical plants has increased in all over the world. *Artemisia vulgaris*(Av) is an anthelminthic and antimalarial agent for thousands of years. *Aloe vera*, popularly *babosa*(Bb) possesses biological activities such as antiinflammation, laxative effect and topical treatment of skin burns. Benznidazole(Bz) is a trypanocidal to all forms of *T. cruzi*(Tc), etiological agent of Chagas'disease. However, it can cause systemic toxicity and serious adverse effects; therefore its efficacy is very low. The aim of this study was to evaluate the effect of extracts of plants in the parasitemia of Tc and in the biodistribution of ^{99m}Tc in chagasic mice. 25 mice were divided into 5 groups. All the groups received intraperitoneally 1×10^5 forms of Tc. At the peak of parasitemia (7thday), 5 mice received Bb by oral via; 10 mice received Av orally; 5 animals received Bz also orally and other 5 received sorbitol(Sb) by oral via. The number of circulating forms was determined according to Brener(1962), before, 2, 4 and 6 h after drugs administration. Five mice which were treated with Av received 0.1mL of ^{99m}Tc, by ocular via, and after 60min, they were sacrificed, the organs were isolated and percentage of radioactivity (%ATI) determined. The other 5 mice not received ^{99m}Tc and, after the parasitemia, the %ATI was determined. There was a significant reduction in the parasitemia of Bb group when compared with the Bz and Sb groups, respectively, in all periods: zero (150.0 ± 50.8 ; 165.8 ± 20.3 ; 162.0 ± 14.7); 2h (151.8 ± 38.8 ; 198.5 ± 12.0 ; 165.5 ± 17.4); 4h (138.8 ± 17.1 ; 146.5 ± 4.7 ; 122.0 ± 16.1) and 6h (33.5 ± 11.9 ; 25.2 ± 1.1 ; 76.2 ± 6.8). The %ATI in the ^{99m}Tc-Av group showed a significant reduction (control to treated group), respectively: brain (0.27 ± 0.07 to 0.05 ± 0.01), stomach (6.98 ± 0.91 to 3.88 ± 0.79), intestines (2.13 ± 0.31 to 0.66 ± 0.18) and kidneys (7.00 ± 1.42 to 3.46 ± 0.58). Then, *babosa* possibly could be considered an anti-Tc drug. Probably Av reduced the %ATI in some organs due to its biological effects.

Palavras-chaves: *Aloe vera*, *Artemisia vulgaris*; Tecnécio-99m; *Trypanosoma cruzi*.

Apoio Financeiro: HUOL, PROPESQ, PPgCSa-UFRN.

5.2.15 VI Congresso da Sociedade Brasileira de Biociências Nucleares – SBBN 2008

EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO DA DROGA TRIPANOSOMICIDA BENZONIDAZOL (ROCHAGAN®) NA BIODISTRIBUIÇÃO DO PERTECNETATO DE SÓDIO ($\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$) EM RATOS WISTAR

¹VANESSA SANTOS DE ARRUDA BARBOSA, ²CECÍLIA MARIA DE CARVALHO XAVIER HOLANDA, ³ROSEANE PEREIRA DA SILVA, ⁴DANIEL PEREIRA DE OLIVEIRA, ⁴MAURÍCIO FERREIRA DA SILVA JÚNIOR, ⁴RAPHAELLA CAVALCANTE ALVES, ⁵ALDO DA CUNHA MEDEIROS.

¹Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN.

²Professora Doutora do Depto. de Microbiologia e Parasitologia–Laboratório de Ensaios Antiparasitários e de Radiobiologia Experimental da UFRN.

³Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da UFRN.

⁴Graduandos do Curso de Medicina da UFRN;

⁵Professor Doutor do Depto. de Cirurgia e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UFRN;

Tópico de interesse: interação de drogas com radiofármacos

Benzonidazol (Bz) é um anti-*T. cruzi* que atua sobre a síntese de macromoléculas por ligação covalente dos intermediários de nitroredução e seus efeitos sobre a célula hospedeira, inclusive sua toxicidade, ainda são desconhecidos. Avaliou-se *in vivo* a influência do Bz na biodistribuição do $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$ e nos parâmetros bioquímicos e hematológicos em ratos *Wistar*. Doze animais machos (150-200 gramas) foram divididos em 2 grupos: controle e tratado. O tratado recebeu 5 mg/Kg/dia de Bz diluído em sorbitol, por gavagem, durante 30 dias. O controle recebeu sorbitol pela mesma via e período. No 30º dia pós-tratamento todos os animais receberam 0,1mL (3,7MBq) de $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, via plexo orbital. Após 1 hora foram sacrificados, seus órgãos isolados e o percentual de radioatividade por grama de órgão (%ATI/g) foi determinado no contador gama. Colheu-se 5mL de sangue total para dosagens bioquímicas e hematológicas, realizadas por automação. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste de Mann-Whitney, considerando-se $p<0,05$. Não houve alteração significativa no %ATI/g, do grupo tratado e controle, respectivamente: sangue ($0,00811\pm0,00165$ e $0,00683\pm0,00158$), cérebro ($0,0002\pm0,0000$ e $0,0017\pm0,0039$), estômago ($0,0227\pm0,0101$ e $0,0257\pm0,0076$), fígado ($0,0040\pm0,0008$ e $0,0037\pm0,0010$), baço ($0,0019\pm0,0003$ e $0,0021\pm0,0007$), coração ($0,0020\pm0,0000$ e $0,0040\pm0,0060$), intestino delgado ($0,0029\pm0,0016$ e $0,0039\pm0,0013$), intestino grosso ($0,0016\pm0,0004$ e $0,0014\pm0,0007$), esôfago ($0,0033\pm0,0008$ e $0,0034\pm0,0012$) e músculo ($0,0006\pm0,0001$ e $0,0005\pm0,0001$). Tratados e controles apresentaram alterações significativas, respectivamente, na transaminase glutâmico-pirúvica (UI/L) ($56,66\pm9,66$ e $73,16\pm8,49$), nos neutrófilos (%) ($34,00\pm8,78$ e $57,50\pm2,94$) e nos linfócitos (%) ($58,60\pm7,89$ e $34,50\pm2,42$). O Bz não alterou a biodistribuição do $\text{Na}^{99m}\text{TcO}_4$, demonstrando resultado satisfatório tendo em vista que pessoas chagásicas fazem uso dessa droga e esse fato não prejudicaria a interpretação de cintilografias.

Palavras-chaves: Pertecnetato de sódio, *T. cruzi*, antiparasitários, radiofármacos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Teixeira ARL, Nascimento RI, Sturm NR. Evolution and pathology in Chagas disease. A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101: 463-491.
2. Coura JR, Castro SL. A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97: 3-24.
3. Andrade SG. Biodemias, Zimodemias e Esquizodemias: sua relação com a patologia da doença de chagas. In: Coura JR. Dinâmica das Doenças infecciosas e parasitárias. Vol 1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 621–637.
4. Kamiji MM, Oliveira RB. Features of Chagas disease patients with emphasis on digestive form, in a tertiary hospital of Ribeirão Preto, SP. *Rev. Soc Bras Med Trop* 2005; 38: 305-9.
5. Klayman DL. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science* 1985; 228: 1049-55.
6. Hien TT, White NJN. Artemisinin compounds in treatment of malaria. *Lancet* 1993; 341: 603-8.
7. Meshnick SR, Dobson MJ. The history of antimalarial drugs. In: Antimalarial chemotherapy. Mechanism of Action, Resistance and New Directions in Drug Discovery. Totowa, New Jersey; 2001. p.15-25.
8. Saha GB. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. New York: Springer-Verlag, 2004.
9. Thrall JH, Ziessman HA. Medicina Nuclear. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.
10. Bernardo-Filho M, Santos-Filho SD, Moura EG, Maiworm AI, Orlando MMC, Penas ME et al. Drug Interaction with Radiopharmaceuticals: a Review. *Braz. Arch Biol Technol* 2005; 48: 13-27.

11. World Health Organization. Division of Control of Tropical Diseases [on line]. Disponível em: (<http://www.who.int/tdr/diseases>), acessado em: 11/10/2003.
12. Hinrichsen SL. Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
13. Cançado JR. Long term evalution of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. Rev Inst Med Trop 2002; 44: 29-37.
14. Meshnick SR. From quinine to qinghaosu: historical perspectives. In: Sherman, I.W. (Ed.). Malária: Parasite Biology, Pathogenesis, Protection. Washington: ASM. Press; 1998. p.341-53.
15. T' Hart LA, Van den Berg AJ, Kuis L, Vam Di JKH, Labadie RP. Two functionally and chemically distinct immunodulatory compounds in the gel of *Aloe vera*. Ethnopharmacol 1988; 23: 61-71.
16. T' Hart LA, Van den Berg AJ, Kuis L, Vam Di JKH, Labadie RP. An anti-complementary polysaccharide with immunological adjuvant activity from the parenchyma gel of *Aloe Vera*. Planta Med 1989; 55: 509-12.
17. Banerjee S, Raghavan M, Pillai A, Ramamoorthy, N. Evolution of Tc-99m in Diagnostic Radiopharmaceuticals. Semin in Nucl Med 2001; 31: 266-77.
18. Owunwanne A, Patel M, Sadek S. The handbook of radiopharmaceuticals. London: Chapman & Hall Medical 1995.
19. Araújo-Filho I, Rego ACM, Brandão-Neto J, Villarim-Neto A, Egito EST, Azevedo IM, Medeiros AC. Biodistribution of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate after Biliopancreatic Bypass with a Duodenal Switch. Braz Arch Biol Technol 2007; 50: 189-97.
20. Camandaroba ELP, Reis EAG, Gonçalves MS, Reis MG, Andrade SG. *Trypanosoma cruzi*: susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones

- isolated from the highly resistant Colombian strain. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36: 201-09.
21. Xavier-Holanda CMC, Jales RLC, Catanho MTJA, Holanda-Leite RC, Brito LML, Jales-Junior LH, Brandão KC, Amorim LF, Brito GGB, Gomes ML, Bernardo-Filho M. Effects of the glucantime on the kinetic of biodistribution of radiopharmaceuticals in wistar rats. Cell Mol Biol 2002; 48: 761-5.
22. Bernardo LC, Santos AEO, Mendes DC, Ribeiro CK, Gomes ML, Diré G, Jesus LM, Abreu, PRC, Pereira R, Frydman JNG, Moura RS, Bernardo-Filho M. Biodistribution Study of the Radiopharmaceutical Sodium Pertechnetate in Wistar Rat Treated with Rutin. Pak. J Biol Sci 2004; 7: 518-20.
23. 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 pertechnetato de sódio em ratos *Wistar*. Acta Cir Bras 2005; 20: 76-80.
24. Holanda CMX, Holanda-Leite RC, Nunes RASN, Oliveira HA, Catanho, MTJA, Souza GML. Bernardo-Filho M. Effect of antimalarial drugs on the bioavailability of the methylenediphosphonic acid labeled with technetium99m (99mTc-MDP) in *wistar* rats. Braz Arch Biol Technol, 2006; 49: 207-14.
25. Holanda CMX, Oliveira EH, Rocha LG, Barbosa VSA, Spyrides MHC, Aragão CFS, Medeiros AC. Effect of paclitaxel (Taxol®) on the biodistribuition of sodium pertechnetate ($\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$) in female *Wistar* rats. Braz Biol Technol 2008; 51: 191-6.

ABSTRACT

Artemisia vulgaris (AV) is an antihelmintic and antimalarial drug; *Aloe vera*(babosa) acts as antidiabetic, laxative and anti-inflammatory; Benznidazole (BZ) is a trypanocidal of *Trypanosoma cruzi* (TC). Technetium-99m (99mTc) has been used in nuclear medicine to obtain diagnostic images. This study evaluated the plant effects in TC parasitemia and in the biodistribution of 99mTc in mice. Twenty mice were infected by TC. At the peak of parasitemia, 5 mice received babosa; 5 received AV and 5 received BZ. The parasitemia was determined in 0, 2, 4 and 6 h of drugs administration. Five infected mice without drugs, 5 mice without TC and the group treated with AV, received 99mTc. The radioactivity was calculated. Infected mice that received babosa reduced significantly ($p<0.05$) the parasitemia. The percentage of activity (%ATI) decreased significantly in the AV group. These results indicate that babosa possibly is an anti-TC drug and AV reduces the %ATI probably due to its biological effects.

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](#)