

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA

FERNANDO HENRIQUE GOERSCH BASTOS

**AVALIAR A INFLUÊNCIA DE FÁRMACOS ANTIFLAMATÓRIOS HORMONAIS E
NÃO HORMONAIS SOBRE A FRAGILIDADE OSMÓTICA E MARCAÇÃO DE
HEMÁCIAS COM ^{99m}Tc EM RATOS**

RECIFE-PE

2003

FERNANDO HENRIQUE GOERSCH BASTOS

**AVALIAR A INFLUÊNCIA DE FÁRMACOS ANTIFLAMATÓRIOS HORMONAIS E
NÃO HORMONAIS SOBRE A FRAGILIDADE OSMÓTICA E MARCAÇÃO DE
HEMÁCIAS COM ^{99m}Tc EM RATOS**

Dissertação apresentada ao
Departamento de Biofísica e
Radiobiologia do CCB-UFPE como
complementação dos requisitos para
obtenção do grau de Mestre em Biofísica
e Radiobiologia

ORIENTADOR: Maria Teresa Janssem de A. Catanho.

RECIFE-PE

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA

PARECER DA COMISSÃO EXAMINADORA
DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AVALIAR A INFLUÊNCIA DE FÁRMACOS ANTINFLAMATÓRIOS
HORMONAIS E NÃO HORMONAIS SOBRE A FRAGILIDADE OSMÓTICA E
MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS COM ^{99m}Tc EM RATOS**

Recife, 16 de dez. de 2003.

Prof.^a PALOMA LYS DE MEDEIROS

Prof.^a. SÔNIA PEREIRA LEITE

Prof.^a. MARIA DO CARMO MEDEIROS

DEDICATORIA

A meus pais, minha esposa Luciana e
minha avó Mirian Goersch, pelo
incentivo e apoio durante toda as
etapas desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus que é a luz da minha vida.

A professora Tereza Jansem pela sua compreensão, paciência e dedicação em seus ensinamentos.

A Dra. Grace Mary e Dra Simey Magnata pela ajuda na realização dos experimentos e revisão final dos trabalhos

Aos alunos de Iniciação Científica Andrezza, Edgar, Nadieshka, Marília e Jailson pela ajuda na realização dos experimentos.

A Universidade Vale do Acaraú (UVA) pela oportunidade do intercambio com a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

RESUMO

A dexametasona (Dex), o complexo B (Com B) e o piroxican (P) são fármacos antiinflamatórios freqüentemente utilizados no tratamento da inflamação de origem neurogênica ou de natureza músculo-esquelética. Este trabalho visa avaliar a influência de fármacos antiinflamatórios sobre a fragilidade osmótica e marcação de hemácias e proteínas plasmáticas com ^{99m}Tc *in vitro*. Amostras de células sangüíneas de ratos Wistar foram tratadas com diferentes concentrações de Dex e Com B por um período de 1 hora e em seguida foram submetidas à centrifugação 1000g/15 min e lavadas por 2 vezes. As hemácias foram submetidas à solução salina de 0,1- 0,9%. Os resultados mostram que o tratamento com Dex e Complexo B provoca uma hemólise de 100% nas concentrações de solução salina de 0,1 – 0,4%, não sendo observado hemólise nas concentrações de 0,7 – 0,9%. Numa segunda etapa, amostras de sangue, com anticoagulante, de ratos Wistar foram incubadas com diferentes concentrações de fármacos antiinflamatórias durante uma hora na presença de cloreto estanoso. Após a incubação o ^{99m}Tc foi adicionado em todas os tubos e incubado por 10 min. As amostras foram centrifugadas e o plasma e as células sangüíneas foram separadas. Alíquotas destas foram precipitadas com ácido tricloroacético (TCA) a 5% e as frações solúveis e insolúveis separadas. As percentagens de radioatividade (%ATI) das amostras foram calculadas e os resultados indicam que a Dex, o Com B e o P reduzem a eficiência de captação do ^{99m}Tc . Estes experimentos indicam que os fármacos antiinflamatórios apresentam possível efeito oxidativo, como também competem com o sítio de ligação do íon estanho ou ^{99m}Tc .

ABSTRACT

The dexametasone (DEX), the complex B (ComB) and the piroxican (P) are anti-inflammatory drugs frequently used in the treatment of the neurogenetic or muscle-skeletal nature inflammations. The work seeks to evaluate the influence of anti-inflammatory drugs on the osmotic fragility and on the erythrocytes and plasmatic proteins demarcation with ^{99m}Tc *in vitro*. Samples of sanguine cells of Wistar rats were been treated with different concentrations of Dex and ComB for one hour and afterwards they were submitted to a centrifugalization 1000g/15min and washed twice. The erythrocytes were submitted to a saline solution of 0,1% - 0,9%. The results show that the treatment with Dex and ComB induces a 100% hemolysis in the 0,1% - 0,4% saline solutions, what doesn't happen in the 0,7% - 0,9% saline solution concentrations. In the second stage, blood samples with anticoagulant of Wistar rats were incubated with different concentrations of anti-inflammatory drugs for one hour on the presence of stannous chloride. After the incubation, the ^{99m}Tc was added in every tube and incubated for ten minutes. The samples were centrifuged: the plasma and the sanguine cells were separated, aliquots of these pounced with trichlorine-acetic acid (TCA) at 5% and the soluble and insoluble fractions were separated. The radioactivity percentages (% ATI) of the samples were calculated and the results show that the Dex, the ComB and the P reduce the efficiency of the capitation of the ^{99m}Tc . This experiment shows that the anti-inflammatory drugs have an oxidative effect, and also compete with the linking siege of the tin or ^{99m}Tc ion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1a - Representa a curva da Fragilidade osmótica de hemácias após tratamento com Dexametasona e Dexametasona associada ao complexo de Vitamina B e controle.

Figura 1b - Representa a curva da Fragilidade osmótica de hemácias após tratamento com Dexametasona 400 μ g/ml e Dexametasona associado ao complexo de Vitamina B (400 μ g e 13 mg/mL) e controle.

Figura 2a - A figura representa a curva de fragilidade osmótica de hemácias após tratamento com o complexo de Vitamina B em diversas concentrações.

Figura 2b - A figura representa a curva de fragilidade osmótica de hemácias após tratamento com o complexo de Vitamina B (C - 13mg/mL) e Controle.

Figura 3a - Representa o percentual de ligação do tecnécio em hemácias após tratamento com o Piroxicam na fração de hemácias e plasma.

Figura 3b - Representa o percentual de ligação do tecnécio em hemácias após tratamento com o Piroxicam nas frações insolúveis de hemácias e plasma.

Figura 4a - Representa o percentual de ligação do tecnécio em hemácias após tratamento com a Dexametasona na fração de hemácias e plasma.

Figura 4b - Representa o percentual de ligação do tecnécio em hemácias após tratamento com a Dexametasona na fração insolúvel.

Figura 5 - Representa o percentual de ligação do tecnécio em hemácias após tratamento com a Dexametasona na presença e ausência o complexo B e controle.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Potencia antiinflamatória dos corticosteróides

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ASS	Acido acetilsalisílico
AI	Antiinflamatório
CNEN	Comissão Nacional de Energia Nuclear
COX-1	Cicloxygenase 1
COX-2	Cicloxygenase 2
ECI	Elétron de Conversão Interna
EA	Elétron Auger
FIC	Fração insolúvel da célula
FSC	Fração solúvel da célula
FSP	Fração solúvel do plasma
HB	Hemoglobina
LET	Energia de Transferência Linear
Mo	Molibdênio
Mo-99	Molibdênio-99
NaCl	Cloreto de sódio
PGD ₂	Prostaglandinas
SnCl ₂	Cloreto estanoso
SnCl ₂ .2H ₂ O	Cloreto estanoso bi-hidratado
Tc	Tecnécio
^{99m} Tc	Tecnécio metaestável
TCA	Acido tricloroacético
TcO ₄ ⁻	Íon pertecnetato

TcO₄Na

Pertecnetato de sódio

VSC

Volume sanguíneo cerebral

SUMARIO

DEDICATÓRIA	x
AGRADECIMENTOS	xi
RESUMO	xii
SUMMARY	xiii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	xiv
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xvi
1 - REVISÃO DA LITERATURA	01
1.1- Aplicações da radiação ionizante e o ^{99m} Tc.	01
1.2- Marcação de espécies biológicas	04
1.3- O sangue e a marcação das hemácias	05
1.3.1- Marcação das proteínas plasmáticas	08
1.4- Estudo dos fármacos na marcação com ^{99m} Tc	09
1.5- Fármacos antiinflamatórios	10
1.5.1- Antiinflamatórios não-esteróides	12
1.5.1.1- Derivados do AAS- ácido acetil salicílico	14
1.5.1.2- Derivados De pirazolona	14
1.5.1.3- Derivados do paraaminofenol	15
1.5.1.4- Derivados do ácido acético	15
1.5.1.5- Derivados do ácido propiônico	16
1.5.1.6- Derivados do ácido fenilanttrílico	17
1.5.1.7- Derivados do ácido enólico	17
1.5.2- Antiinflamatórios esteróides	18
1.5.2.1- Dexametasona	21
2- JUSTIFICATIVA	23
3- OBJETIVOS	24
3- Objetivo geral	24
3.1- Objetivos específicos	24
4- MATERIAL E MÉTODO	25
4.1- Equipamentos	25
4.2- Reagentes	25
4.3- Outros	26
4.4- Animais	26
4.5- Determinação da fragilidade osmótica de hemácias	27
4.6- Marcação de hemácias e proteínas plasmáticas <i>in vitro</i>	28
4.7- Análise estatística	31
5- RESULTADOS E DISCUSSAO	32
5.1- Influência de fármacos antiinflamatórios na fragilidade osmótica	32
5.2- Influência da dexametasona e piroxicam sobre a marcação de hemácias com tecnécio	35
6- CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41