

Efeitos do nitroxinil 34% administrado em ratos (*Rattus norvegicus albinus*) no perfil hepático e renal.

Priscilla Gomes Carneiro¹, Diego Bueno Brandão¹, Flavio Antônio Barca¹, Aline Tramontini Zanluchi¹, Fabiola Cristine Almeida Rego Grecco¹, Werner Okano¹, Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho¹, Thaís Helena Constantino Patelli¹

Resumo: O nitroxinil vem sendo amplamente utilizado no controle de *Haemonchus contortus* em ovinos por ser muito eficaz. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito no metabolismo hepático e renal do nitroxinil administrado em ratos (*Rattus norvegicus albinus*). Foram utilizados 34 ratos adultos (*Rattus norvegicus albinus*), com idade entre 120 e 140 dias, sendo 22 fêmeas, divididas em 2 grupos experimentais G1 (controle) e G2 (tratado) e 12 machos, divididos em 2 grupos G3 (controle) e G4 (tratado). Os animais dos grupos G2 e G4 receberam nitroxinil 34% em uma única dose, 10mg/kg, pela via subcutânea e os animais do grupo controle G1 e G3, receberam solução fisiológica pela mesma via e mesmo volume da dose recomendada. Os valores de FA e ALT dos grupos controle e tratado se apresentaram abaixo dos níveis de referência, os resultados do teste de uréia permaneceram dentro dos parâmetros normais e a avaliação histopatológica dos fragmentos renais e hepáticos, demonstram um padrão microscópico de normalidade. Os resultados obtidos demonstram que o nitroxinil 34%, não apresentou nenhuma alteração do perfil hepático e renal, na dosagem de 10 mg/kg, quando administrado por via subcutânea em aplicação única em ratos.

Palavras-chave: anti-helmíntico, substitutos fenólicos, metabolismo hepático, animais de laboratório

Effects of 34% nitroxynil administered to rats (*Rattus norvegicus albinos*) in kidney and liver profile.

Abstract: The nitroxynil has been widely used in the control of *Haemonchus contortus* in sheep to be very effective. The objective of this study was to evaluate the effects on the hepatic and renal nitroxynil administered to rats (*Rattus norvegicus albinos*). We used 34 adult rats (*Rattus norvegicus albinos*), aged 120 and 140 days, and 22 females, divided into two experimental groups: G1 (control) and G2 (treated) and 12 males, divided into 2 groups G3 (control) and G4 (treated). The animals in groups G2 and G4 received nitroxynil 34% in a single dose, 10mg/kg, via subcutaneous and the animals of the control group G1 and G3 received saline by the same route and the same volume of the recommended dose. The FA and ALT of values the control and treated groups were found below the reference levels, the results of urea remained within normal parameters and histopathological evaluation of kidney and liver fragments revealed a pattern of microscopic normality. Results from this study have demonstrated that nitroxynil 34% administered at dose of 10 mg/kg, subcutaneous, in single application in rats, not promoted alteration hepatic and renal profile.

Key words: anthelmintic, substitutes phenolic, hepatic metabolism, laboratory animals.

¹ Priscilla Gomes Carneiro – Universidade Norte do Paraná – Mestranda do programa de Saúde e Produção de Ruminantes UNOPAR/UEL – Médica Veterinária.
E-mail: pirt1987@hotmail.com

Diego Bueno Brandão – Universidade Norte do Paraná – Médico Veterinário
E-mail: diegobuenobrandao@hotmail.com

Flavio Antônio Barca – Universidade Norte do Paraná – Mestre
E-mail: flavio.barca@unopar.br

Aline Tramontini Zanluchi – Universidade Norte do Paraná – Mestre
E-mail: alinetramontinizanluchi@gmail.com

Fabiola Cristine Almeida Rego Grecco – Universidade Norte do Paraná – Doutora
E-mail: fabíola_rego@yahoo.com.br

Werner Okano - Universidade Norte do Paraná – Doutor
E-mail: vetwerner@gmail.com

Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho – Universidade Norte do Paraná – Doutor
End: Rua Fábio Paludetto, 100 – Jardim Pinheiros – CEP 86.063-160, Londrina, Pr
Telefone: (43) 9994-7076 – E-mail: luiz.cunha@unopar.br

Thaís Helena Constantino Patelli da Uenp - Universidade Norte do Paraná – Doutor
End: Rua Fábio Paludetto, 100 – Jardim Pinheiros – CEP 86.063-160, Londrina, Pr
Telefone: (43) 9994-7076 Email thaipatelli@uenp.org.br.

Introdução

O nitroxinil (4-hidroxi-3-iodo-5-nitrobenzonitrila) é um potente anti-helmíntico da família dos substitutos fenólicos, sendo utilizado nos ruminantes no controle dos trematódeos, principalmente da *Fasciola hepática* (BOOTH, MC DONALD, 1992).

No entanto, este anti-helmíntico vem sendo amplamente utilizado no controle do *Haemonchus contortus* (hemoncose) em ovinos, por ser muito eficaz (MCKELLAR e KINABO, 1991), provavelmente, pelo fato desta droga associar-se fortemente às proteínas plasmáticas, favorecendo assim sua distribuição para os tecidos e uma

eliminação lenta no organismo (ALMEIDA & AYRES, 2002).

A tolerância local no ponto da injeção é satisfatória, embora tumefações inflamatórias transitórias sejam observadas ocasionalmente nos bovinos (ADAMS, 2003).

A utilização crescente dos substitutos fenólicos no controle da hemoncose, sobretudo nos casos de resistência anti-helmíntica a outras drogas (REINEMEYER & COURTNEY, 2003), associado à maior susceptibilidade das fêmeas em final de gestação e em lactação à infestação parasitária (AMARANTE, 1990), e a lenta eliminação (BOOTH, Mc DONALD, 1992), justificam a

preocupação de uma maior ocorrência de efeitos hepáticos e renais. QUEIROZ et al. (2013) encontraram alterações no cérebro e no peso ao nascimento dos fetos de camundongos tratados com nitroxinil.

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito no metabolismo hepático e renal do nitroxinil administrado em ratos (*Rattus norvegicus albinus*).

Material e Métodos

Foram utilizados 34 ratos adultos (*Rattus norvegicus albinus*), com idade entre 120 e 140 dias, pesando entre 230 a 505 gramas, sendo 22 fêmeas, virgens e púberes e 12 machos, que foram alojados no biotério da UNOPAR. Os ratos foram mantidos em ambiente com ciclo claro e escuro de 12 horas e receberam ração comercial Nuvilab[®] CR1, água *ad libitum*. A cama de cepilho foi trocada duas vezes por semana. As 22 fêmeas foram divididas em dois grupos experimentais, sendo G1 fêmeas controle e G2 fêmeas tratadas. Os 12 machos foram divididos também em dois grupos, G3 machos controle e G4

machos tratados. Foram coletadas amostras de sangue total, de um a dois mL, através da venopunção jugular com uma seringa de 3 ml e uma agulha 25/6, em frascos sem anticoagulante para obtenção de soro, de cada animal no dia zero (D0), antes da administração de nitroxinil, para determinação do status metabólicos hepático e renal. Nas ratas do G1 e G2, foram coletadas amostras de sangue novamente no décimo segundo dia (D12) e nos ratos do G3 e G4 no terceiro dia (D3), para averiguar alterações crônicas e agudas no perfil metabólico. Ao total foram realizadas três coletas de sangue, após anestesia com tiopental sódico (35mg/Kg, via intraperitoneal). Os animais dos grupos G2 e G4 receberam nitroxinil 34% em uma única dose, 10mg/kg, pela via subcutânea e os animais do grupo controle G1 e G3, receberam solução fisiológica pela mesma via e mesmo volume da dose recomendada. Os animais foram mantidos, um de cada grupo, em caixas individuais até o final do experimento. Para determinação do perfil

metabólico hepático foram realizados os exames de Fosfatase Alcalina (FA), aminotransferase (ALT) através do kit comercial (Gold Analisa[®]). O perfil renal foi estabelecido através do kit comercial (Gold Analisa[®]) para uréia. A eutanásia foi realizada respeitando-se as normas do Comitê de Ética na utilização de animais em pesquisa (CEA/UNOPAR n° 021/12), no D3 os grupos G3 e G4 e no D12 os grupos G1 e G2 foram anestesiados, o abdômen foi incisado, retirando fragmentos do fígado e rim. Os rins e fragmentos do fígado dos ratos foram fixados em formol 10%. Após a fixação, os tecidos foram processados seguindo a técnica de microtomia de parafina, corados por hematoxilina/eosina e examinadas ao microscópio óptico (MÖLLER *et al.*, 2003).

Resultados e Discussão

A FA é uma enzima de indução sintetizada no fígado, nos osteoblastos, no epitélio intestinal, e renal e na placenta. O aumento da produção e de sua atividade

sérica pode ser notado em casos de maior atividade osteoblástica, colestase, indução por drogas como corticoides e fenobarbital e várias doenças crônicas, inclusive neoplasias (TRALL, 2007).

As médias dos resultados obtidos no exame de FA no dia 0 foram de 93 U/L para G1, de 98,55 U/L para G2, de 127,8 U/L para G3 e de 112 U/L para G4, já para do dia 12 os resultados foram de 140 U/L para G1 e 149,55 U/L para G2 e para o dia 3 foram 124,5 U/L para G3 e 162,17 U/L para G4, tendo como valores de referência normais de 133,9 a 175,3 U/L (CENTRO DE BIOTERISMO DA FMUSP 2008).

Como parâmetros de normalidade foram considerados os valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus*) provenientes do Centro de Bioterismo da FMUSP, 2008.

Os valores do grupo controle e tratado se apresentaram abaixo dos níveis de referência, pode-se explicar tal fato porque os parâmetros hematológicos e bioquímicos podem variar entre linhagens

e cepas diferentes de uma dada espécie e também em função do método de coleta de sangue. Desta forma, é fundamental determinar os valores de referência para animais de diferentes biotérios de acordo com a espécie, a dieta, a linhagem, o sexo e a idade (MELO et al., 2012). Além das fêmeas apresentarem níveis mais baixos do que os machos, segundo o fabricante do Kit (Gold Analisa[®]), como observamos ao comparar os dados do teste de FA.

A alanina aminotransferase (ALT), ou alanina transaminase, também conhecida como transaminase glutâmico pirúvica (TGP), é uma enzima transaminase. A ALT é encontrada no plasma e em vários tecidos corpóreos, mas é geralmente associada ao fígado, a sua elevação no soro sanguíneo tem sido amplamente utilizada como indicativo de hepatotoxicidade ou injúria hepatocelular. Esta enzima é liberada no sangue em grandes quantidades quando há dano a membrana do hepatócito, resultando em aumento da permeabilidade. A necrose em

si não é necessária, e há baixa correlação entre o grau de lesão hepatocelular e o nível das aminotransferases. Assim, a elevação absoluta das aminotransferases tem grande significado diagnóstico, e não prognóstico, nas hepatopatias agudas (KERR, 2003).

As médias dos resultados obtidos no exame de ALT no dia 0 foram de 20,57 U/L para G1, de 21,22 U/L para G2, de 13,4 U/L para G3 e de 17,67 U/L para G4, já para do dia 12 os resultados foram de 26,2 U/L para G1 e 20,64 U/L para G2 e para o dia 3 foram 29,83 U/L para G3 e 26,17 U/L para G4, tendo como valores de referência normais de 114,0 a 290,8 U/L. (CENTRO DE BIOTERISMO DA FMUSP 2008).

Os valores obtidos no exame de ALT demonstraram que machos e fêmeas, tanto do grupo controle, como do grupo tratado estavam abaixo dos valores de referência (CENTRO DE BIOTERISMO DA FMUSP 2008). Os danos hepáticos promovem o aumento significativo da

liberação da enzima ALT, e entre os testes de função hepática a ALT é considerado o mais comum e o melhor para detecção da lesão hepática.

Portanto os resultados demonstram que não houve efeitos deletérios ao fígado nos ratos tratados com nitroxinil 10 mg/kg na forma aguda (AST) e crônica (FA), ou seja 72 horas e 12 dias após a aplicação. De acordo com a literatura consultada, reduções nas concentrações séricas dessas enzimas não representam indicações de desordens orgânicas (CAMPELLO et al., 2009).

A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia; a maior parte vem do catabolismo de proteína (BUSH, 2004). A uréia é um produto do metabolismo do nitrogênio presente no sangue, utilizada clinicamente na investigação de doença renal (KUROIWA, 2006).

As médias dos resultados obtidos no exame de uréia no dia 12 foram de 31 mg/dL para G1, de 33 mg/dL para G2, já para do dia 3 os resultados foram de 31

mg/dL para G3 e 32 mg/dL para G4, tendo como valores de referência normais de 15,0 a 54,0 mg/dL (CENTRO DE BIOTERISMO DA FMUSP 2008).

Desse modo os resultados do teste de uréia estão dentro dos parâmetros normais (CUBAS et al., 2007) tanto para grupo controle como para o grupo tratado, mostrando que o nitroxinil 34% não causou alteração renal.

A avaliação histopatológica dos fragmentos renais e hepáticos demonstram um padrão microscópico de normalidade, deste modo contribuíram para ratificar que o nitroxinil 34% não afetou os tecidos renais e hepáticos dos ratos tratados.

A utilização de animais de laboratório é de suma importância nas pesquisas científicas contribuindo sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia (CHORILLI et al., 2007). É através destas pesquisas que o avanço sobre o conhecimento dos mecanismos vitais como também o aperfeiçoamento dos métodos de

prevenção, diagnóstico e tratamento de diversas doenças, têm-se desenvolvido ao longo dos anos (ALMEIDA et al., 2008).

Conclusão

Os resultados obtidos demonstram que o nitroxinil 34%, não apresentou nenhuma alteração hepática e renal, na dosagem de 10 mg/kg, quando administrado por via subcutânea em aplicação única em ratos.

Referências Bibliográficas

ADAMS, H.R. Farmacologia e Terapêutica em Veterinária. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

ALMEIDA, M.A.O.; Ayres, M.C.C. Agentes anticestódeos e antitrepatódeos. In: SPINOSA, H.S. et al. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2002, p. 444-451.

ALMEIDA, A.S.; FALEIROS, A.C.G.; TEIXEIRA, D.N.S.; COTA, U.A.; CHICA, J.E.L. Valores de referência de parâmetros bioquímicos no sangue de duas

linhagens de camundongos. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2008, 44(6): 429-432.

AMARANTE, A.F.T. Profilaxia da verminose ovina, descontaminação de pastagens. In: Curso de extensão universitária em produção de ovinos. 1989, Jaboticabal, SP. Anais... Jaboticabal: FUNEP, 1990. p.201-208.

BOOTH, N.H.; MCDONALD, L.E. Farmacologia e terapêutica em veterinária. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. Cap.13, p.763.

BUSH, B.M. Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais. São Paulo: Roca, 2004. 376p.

CAMPELLO, C.C.; CARVALHO, V.L.; VIEIRA, K.M.; FARIAS, D.F.; BRASIL, I.C.F.; MAIA, A.A.B.; MORAIS, J.K.S.; CARVALHO, A.F.U.; VASCONCELOS, I.M. Desempenho e parâmetros séricos de ratos alimentados com dietas contendo soja integral crua. Braz J Vet Anim Sci, 2009; v. 46, n. 3, p. 188-198.

CENTRO DE BIOTERISMO DA FMUSP.

Parâmetros bioquímicos de ratos do centro de bioterismo da FMUSP, 2008.

Disponível em:

http://www.biot.fm.usp.br/index.php?mpg=03.00.00&tip=RATO&id_ani=17¶metros=sim.

Acessado em 05/11/2012.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D.C.;

SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. Rev. Ciênc Farm Básica Apl. 2007; 28: 11-23.

CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. Tratado de Animais Selvagens. Roca, São Paulo. 2007, 1354p.

KERR, M.G. Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária. Bioquímica Clínica e Hematologia. 2ª ed. Roca, São Paulo. 436p, 2003.

KUROIWA, K.; SHIBUTANI, M.; INOUE, K.; LEE, K. Y.; WOO, G. H.; HIROSE, M. Subchronic toxicity study of water pepper extract in F344 rats. Food and Chemical Toxicology, v. 44, n. 8, p. 1236-1244, 2006.

MCKELLAR, Q.A.; KINABO, L.D.B. The pharmacology of flukicidal drugs. British Veterinary Journal 47: p.306–321, 1991.

MELO, M. G. D.; DORIA, G. A. A;

SERAFINI, M. R. ARAUJO, A. A. S.

Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. Scientia Plena, v. 8, n. 4, 2012.

MÖLLER, V. M. et al. Efeitos da ivermectina (ivomec® 1%) administrada a ratas wistar durante o período da organogênese. Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science, v. 40, p. 328-333, 2003.

QUEIROZ, G.R.; CUNHA-FILHO, L.F.C.; ZANLUCHI, A.T.; BARCA-JUNIOR, F.A.; OKANO, W. Efect of dilatation of the cerebral ventricles after the administration of nitroxylin in *swiss albine* mice during organogenesis. Archives of Veterinary Science, v.18, n.1, p.23-28, 2013.

REINEMEYER, C.R.; COURTNEY, C.H.

Fármacos Anticestóides e antitrepatóides.

In: ADAMS, H.R. Farmacologia e terapêutica em veterinária, 8a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. cap.48, p.819-828.

THRALL, M.A. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Roca, São Paulo, p. 335-354, 2007.

Recebido em 10/12/2013

Aceito em 20/07/2014