

Influence of age and ways of treatment in the parasitemia in mice infected with *Trypanosoma cruzi* treated with high potency biotherapy

Denise Lessa Aleixo, Caroline Felício Braga, Neide Martins Moreira, Paula Fernanda Massini, Camila Fernanda Brustolin, Fabiana Nabarro Ferraz, Silvana Marques de Araújo

State University of Maringá, Maringá, PR, Brazil

ABSTRACT

Introduction: The infection of mice by *Trypanosoma cruzi* is well known, making this a good model for understanding the effect of highly diluted medications. Mice of different ages show different responses to biotherapeutic *T. cruzi* [1]. Other data from our laboratory using biotherapeutic treatment at low potencies show that long lasting treatment has a better effect in mice infected with *T. cruzi*. However, the use of high potency biotherapeutics in mice of different ages infected with *T. cruzi* has not been analysed yet.

Aim: To evaluate the effect of different ways of treatment using biotherapeutic 200 DH *T. cruzi* in the evolution of the curve of parasitemia of mice of different ages infected with *T. cruzi*.

Materials and methods: A blind randomized controlled trial was performed using 107 swiss male mice, aged 28, 35 and 56 days, divided into groups: CONTROL(C) – mice aged 28(C28), 38(C38) and 56(C56) days, treated with 7% water-alcohol solution diluted with water (1mL/100mL); ONE DAY(OD) – mice aged 28(OD28), 38(OD38) and 56(OD56) days, treated with highly diluted medication 200 DH *T. cruzi* in a single dose, diluted in water (10mL/100mL); EVERY DAY(ED) – mice aged 28(ED28), 38(ED38) and 56(ED56) days, treated with highly diluted medication 200DH *T.cruzi* until the end of the experiment, diluted in water(1mL/100mL). Amber bottle was used and the water was changed every two days. The groups were infected with strain Y-*T. cruzi*, intraperitoneal, 1400 blood trypomastigotes. Medicines were handled according to the Brazilian Homeopathic Pharmacopoeia [2], with microbiological testing according to RDC n° 67 and *in vivo* biological risk. We compared the parasitemia curve and total parasitemia, determined daily counting of the parasites [3], obtained using the tests Kruskal-Wallis and Wald-Wolfowitz, Statistica 8.0, 5% significance. Approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation/ UEM - 030/2008.

Results: The animal age and the ways of treatment used influenced the evolution of the parasitemia curve. This evolution was different among different ages, and the youngest mice of the control group had higher averages of parasitemia (\bar{X} C28=1.4x10⁶/mL; \bar{X} C38= 1.3 x10⁶/mL and \bar{X} C56=1.0x10⁶/mL) (fig1). This evolution was not observed in the groups treated daily, in which 56 day-old mice presented a higher parasitemia compared to the other groups (\bar{X} ED28= 1.3x10⁶/mL; \bar{X} ED38=0.9x10⁶/mL and \bar{X} ED56=1.2x10⁶/mL)(fig1b).

For animals treated with a single dose, the energetic stimulus provided by biotherapeutic caused homogeneity of biological behavior, with significant elevation of parasitemia (\bar{X} OD28=1.8x10⁶/mL; \bar{X} OD38=1.3x10⁶/mL and \bar{X} OD56=1.5 x10⁶/mL) (fig1c). Likewise, the single dose treatment invariably resulted in an increase of

parasitemia when compared to other treatments within the same age group (fig1d-f). The treatment performed daily in animals aged 28 and 38 days showed a decrease in parasitemia (fig1d-f). For 56 day-old mice this fall was not observed (fig1f). The meaning of this finding should be better explored considering the physiological maturity versus the vital energy of mice of different ages.

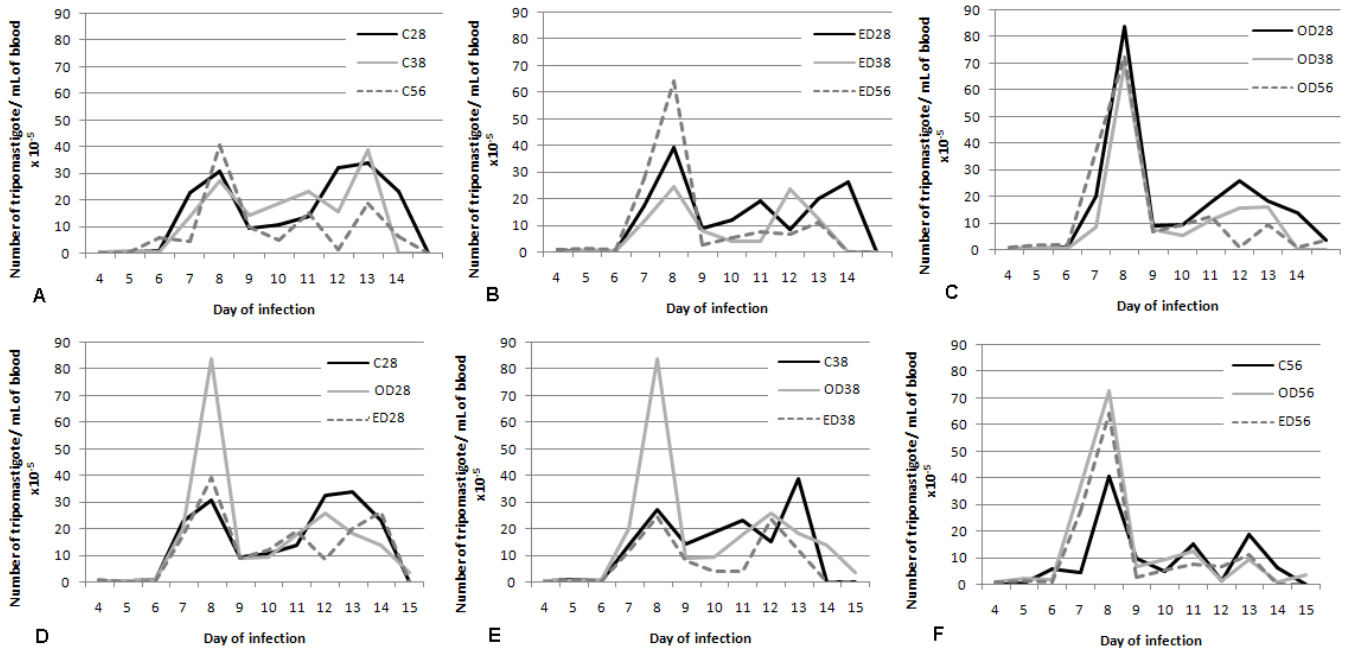


Figure 1(a-f): Comparison of the evolution of the curve of parasitaemia in mice of different ages were infected with *T. cruzi* and submitted to different ways of treatment (C=CONTROL; OD=ONE DAY; ED=EVERY DAY) (p-value: $p_{(C28 \times ED28)}=0.021821$; $p_{(C28 \times OD28)}=0.004558$; $p_{(C38 \times ED38)}=0.0624$; $p_{(C38 \times OD38)}=0.0995381$; $p_{(C56 \times ED56)}=0.0476$; $p_{(C56 \times OD56)}=0.000174$; $p_{(C28 \times C38)}=0.031792$; $p_{(C28 \times C56)}=0.011461$; $p_{(ED28 \times ED38)}=0.545722$; $p_{(ED28 \times ED56)}=0.028010$; $p_{(ED38 \times ED56)}=0.001521$; $p_{(OD28 \times OD38)}=0.294874$; $p_{(OD28 \times OD56)}=0.000044$; $p_{(OD38 \times OD56)}=0.000098$).

Conclusion: The age and the ways of treatment used are important factors to be considered when using a highly diluted medication. The clinical use of these results in humans, should take into consideration the allometric system of medication dosage which takes into account the metabolic rate of each organism.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*; bioterapeutic; high potency.

References:

- [1] Sandri P.F. Influência da idade sobre os efeitos do bioterápico 17 DH na infecção de camundongos pelo *Trypanosoma cruzi*. [dissertação]. Maringá(PR): Universidade Estadual de Maringá; 2010. 80p.
- [2] Farmacopéia Homeopática Brasileira: Parte I - Métodos Gerais, 2ªed, São Paulo: Atheneu 1997.
- [3] Brener Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 1962; (4):189-196. <[english]>.

Influência da idade e esquema de tratamento na parasitemia de camundongos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* tratados com bioterápico de alta potência

RESUMO

Introdução: A infecção murina pelo *Trypanosoma cruzi* é bem conhecida, fazendo deste um bom modelo para o entendimento do efeito de medicamentos ultradiluídos. Camundongos de diferentes idades mostram diferentes respostas a bioterápico de *T. cruzi* [1]. Outros dados do nosso laboratório utilizando tratamento com bioterápico em baixas potências mostram que o tratamento prolongado exerce melhor efeito em camundongos infectados pelo *T. cruzi*. No entanto, a utilização de bioterápicos em alta potência em camundongos de diferentes idades infectados pelo *T. cruzi* ainda não foi explorada.

Objetivo: Avaliar o efeito de diferentes esquemas de tratamento utilizando bioterápico 200 DH *T. cruzi* na evolução da parasitemia em camundongos de diferentes idades infectados pelo *T. cruzi*.

Materiais e métodos: Foi realizado ensaio cego, controlado, randomizado, utilizando 107 camundongos suíços, machos, de 28, 35 e 56 dias de idade, divididos em grupos: **CONTROL** – camundongos de 28 (C₂₈), 38 (C₃₈) e 56 (C₅₆) dias de idade, tratados com solução hidroalcoólica 7% diluída em água (1mL/100mL); **ONE DAY(OD)** – animais com 28 (OD₂₈), 38 (OD₃₈) e 56 (OD₅₆) dias de idade, tratados com medicamento ultradiluído *T. cruzi* 200 dH em dose única, diluído em água (10mL/100mL); **EVERY DAY(ED)** – animais com 28 (ED₂₈), 38 (ED₃₈) e 56 (ED₅₆) dias de idade, tratados com medicamento ultradiluído *T. cruzi* 200 dH até o final do experimento, diluído em água (1mL/100mL). Foi utilizado bebedouro âmbar e a água foi renovada a cada dois dias. Os grupos foram infectados com a cepa Y - *T. cruzi*, via intraperitoneal, 1400 tripomastigotas sanguíneas. O medicamento foi manipulado segundo a Farmacopéia Homeopática Brasileira [2], com teste microbiológico segundo a RDC nº67, risco biológico *in vivo*. Foi comparada a curva parasitemia obtida pela técnica de Brener(1962) e a parasitemia total utilizando os testes Kruskal-Wallis e Wald-Wolfowitz, Statistica 8.0, significância 5%. Aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal/ UEM-030/2008.

Resultados: A idade do animal e o esquema de tratamento utilizado para administrar o medicamento ultradiluído influenciaram na evolução da curva de parasitemia. Esta evolução foi diferente entre as diferentes idades, sendo que menores idades nos animais controle apresentam maiores médias de parasitemia como esperado ($\bar{X}_{C28}=1,4 \times 10^6/\text{mL}$, $\bar{X}_{C38}= 1,3 \times 10^6/\text{mL}$ e $\bar{X}_{C56}= 1,0 \times 10^6/\text{mL}$) (fig1a). O mesmo não aconteceu para animais tratados diariamente, onde animais de 56 dias apresentam parasitemia maior que os demais grupos ($\bar{X}_{ED28}=1,3 \times 10^6/\text{mL}$, $\bar{X}_{ED38}= 0,9 \times 10^6/\text{mL}$ e $\bar{X}_{ED56}= 1,2 \times 10^6/\text{mL}$) (fig1b). Para animais tratados com uma única dose, o estímulo energético proporcionado pelo bioterápico promoveu homogeneidade de comportamento biológico, com elevação significativa da parasitemia ($\bar{X}_{OD28}= 1,8 \times 10^6/\text{mL}$, $\bar{X}_{OD38}= 1,3 \times 10^6/\text{mL}$ e $\bar{X}_{OD56}= 1,5 \times 10^6/\text{mL}$) (fig1c). Da mesma forma, o tratamento em dose única invariavelmente proporcionou um aumento da parasitemia, quando comparado aos outros tratamentos, dentro de uma mesma idade (fig1d-f). O tratamento realizado diariamente em animais com 28 e 38 dias de idade proporcionou queda da parasitemia (fig1d-f). Para animais de 56 dias esta queda não foi observada (fig1f). O significado deste achado deve ser melhor explorado considerando a maturidade fisiológica *versus* a energia vital de camundongos de diferentes idades.

Figura 1(a-f): Evolução da curva de parasitemia em camundongos de diferentes idades, infectados pelo *T. cruzi* e submetidos a diferentes esquemas de tratamento (C=CONTROL; OD=ONE DAY; ED=EVERY DAY) (p-valor: $p_{(C28 \times ED28)}=0,021821$; $p_{(C28 \times OD28)}=0,004558$; $p_{(C38 \times ED38)}=0,0624$; $p_{(C38 \times OD38)}=0,0995381$; $p_{(C56 \times ED56)}=0,0476$; $p_{(C56 \times OD56)}=0,000174$; $p_{(C28 \times C38)}=0,031792$; $p_{(C28 \times C56)}=0,011461$; $p_{(ED28 \times ED38)}=0,545722$; $p_{(ED28 \times ED56)}=0,028010$; $p_{(ED38 \times ED56)}=0,001521$; $p_{(OD28 \times OD38)}=0,294874$; $p_{(OD28 \times OD56)}=0,000044$; $p_{(OD38 \times OD56)}=0,000098$).

Conclusão: A idade e o esquema de tratamento utilizado são fatores importantes a serem considerados na utilização de medicamento ultradiluído. A utilização clínica destes resultados em humanos, deve considerar o sistema alométrico de dosagem de medicamentos que leva em conta a taxa metabólica de cada organismo.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, ultradiluído, alta potência.



Licensed to [GIRI](#)

Support: PROAP/ CAPES

Conflict of interest: authors declare there is no conflict of interest

Correspondence author: Denise Lessa Aleixo, dlaleixo2@uem.br, www.uem.br

How to cite this article: Aleixo DL, Braga CF, Moreira NM, Massini PF, Brustolin CF, Ferraz FN, Araújo SM. Influence of age and ways of treatment in the parasitemia in mice infected with *Trypanosoma cruzi* treated with high potency biotherapy. Int J High Dilution Res [online]. 2011 [cited YYYY Month dd]; 10(36): 138-141. Proceedings of the XXV GIRI Symposium and VIII CBFH; 2011 Sep 04-07; Foz do Iguaçu (Brazil). GIRI and ABFH; 2011; Available from: <http://www.feg.unesp.br/~ojs/index.php/ijhdr/article/view/479/491>