

**FACULDADES INTEGRADAS MARIA THEREZA**

EDUARDO AMORIM BARBOSA

AVALIAÇÃO DO EFEITO NATURAL DA CÁSCARA SAGRADA  
(*Rhamnus Purshina*) NA RADIOMARCAÇÃO DOS  
COMPONENTES DO SANGUE

RIO DE JANEIRO  
2004

Artigo monográfico apresentado em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Especialista em Fisiologia Humana e do Exercício no Curso de Pós-Graduação Lato Sensu em Fisiologia Humana e do Exercício.

Avaliado em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_  
Nota Final: (\_\_\_\_\_)

---

GLAUCIO FELICIANO DIRÉ  
(Doutor em Biociências Nucleares – UERJ)

## RESUMO

Os seres humanos têm amplamente usado produtos naturais como remédios. Porém, às vezes, os efeitos biológicos destes produtos não são completamente conhecidos. A Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshina*) tem sido usada como um remédio popular para tratar prisão de ventre, inflamação, tumores e asma. Considera-se que muitos remédios naturais podem conter ingredientes potencialmente tóxicos e contaminantes tais como metais pesados. Células vermelhas do sangue (CVS) e proteínas do plasma marcadas com tecnécio-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ ) têm várias aplicações clínicas e foi relatado que alguns produtos naturais são capazes de reduzir a eficiência destes radiomarcadores. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um extrato de Cáscara Sagrada na marcação de elementos sanguíneos com  $^{99m}\text{Tc}$ . Neste estudo, foi analisado o extrato de Cáscara Sagrada aquecido e não aquecido. Na preparação dos extratos foi usado 200 mg de Cáscara Sagrada diluída em 10 ml de solução salina, NaCl 0,9%. Amostras de 0,5 ml de sangue de ratos Wistar foram incubadas com cloreto estânico ( $\text{SnCl}_2$ ) e  $^{99m}\text{Tc}$ . O sangue foi centrifugado e plasma (P) e CVS foram isolados. P e CVS foram também precipitados com ácido tri-cloroacético e frações (F) solúvel (S) e insolúvel (I) foram determinadas. Os resultados mostraram que o extrato aquecido reduziu a radiomarcação em CS (de  $94,76\% \pm 0,66$  a  $89,80\% \pm 4,23$ ). Alguns extratos como *Fucus Vesiculosus*, *Paullinia Cupana*, *Mentha crispa L* foram descritos como capazes de alterar a radiomarcação. A partir dos resultados obtidos sugerimos/afirmamos que o extrato citado quando aquecido pode levar a geração de metabólitos ativos com propriedades oxidantes e/ou espécie reativa de oxigênio com ação direta no processo de marcação.

## ABSTRACT

The human beings have been using natural products thoroughly as medicines. However, sometimes, the biological effects of these products are not completely known. Sacred Bark (*Rhamnus purshina*) it has been used as a popular medicine to treat constipation, inflammation, tumors and asthma. It is considered that many natural medicines can contain ingredients potentially poisonous and such pollutants as heavy metals. Red cells of the blood (CVS) and proteins of the plasma marked with technetium-99m ( $^{99m}\text{Tc}$ ) they have several clinical applications and it was told that some natural products are capable to reduce the efficiency of these radiolabeling. The objective of this work was to evaluate the effect of an extract of Sacred Bark in the demarcation of sanguine elements with  $^{99m}\text{Tc}$ . In this study, the extract of warm Sacred Bark was analyzed and no warm. In the preparation of the extracts 200 mg of Sacred Bark was used diluted in 10 ml of saline solution, NaCl 0,9%. Samples of 0,5 ml of blood from Wistar rats were incubated with stannous chloride ( $\text{SnCl}_2$ ) and  $^{99m}\text{Tc}$ . The blood was centrifuged and plasma (P) and CVS were isolated. P and CVS were also precipitate with acid trichloroacetic and fractions (F) soluble (S) and insoluble (I) they were certain. The results showed that the warm extract reduced the radiolabeling in CS (of  $94,76\% \pm 0,66$  to  $89,80\% \pm 4,23$ ). Some extracts as *Fucus Vesiculosus*, *Paullinia Cupana*, *Mentha crispa L* were described as capable to alter the radiolabeling. Starting from the results obtained we suggest that the mentioned extract when warm it can take the generation of active metabolites with properties oxidizers and/or species reactivates of oxygen with direct action in the demarcation process.

## INTRODUÇÃO

Os produtos feitos através de ervas são amplamente usados como alimentos e aditivos de alimentos ou como uma substância em remédios populares como um meio alternativo para tratamento medicinal. Extratos aquosos de muitas plantas são largamente usados em tratamentos médicos como medicamentos complementares (OLIVEIRA, et al, 2003). Remédios Herbários Chineses Tradicionais (RHCT) são, cada vez mais usados mundialmente, uma vez que são considerados eficazes e com poucos efeitos colaterais. Os contaminantes dos RHCTs incluem metais pesados e drogas não-declaradas. Relatou-se que os efeitos biológicos dos metais como o efeito dos metais de transição que catalisa a produção de radicais livres que pode estar relacionado aos processos de envelhecimento e doenças neurodegenerativa como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson e outras (SILVA, et al, 2002). A toxicidade desses contaminantes e aditivos e os efeitos tóxicos dos componentes herbários têm implicações importantes durante o período pré-operatório. O anestesista deve considerar o potencial para interações de drogas e efeitos adversos sistêmicos destes produtos naturais (KAM e LIEW, 2002). Tecnécio-99m (99m-Tc) tem sido o nucleocídeo mais utilizado em procedimentos de Medicina Nuclear e também usado em pesquisa básica. Foi relatado que muitas drogas e extratos vegetais afetam a biodistribuição de diferentes produtos radiofarmacêuticos (EARLY & SODEE; BRAGA et al, 2000). Drogas naturais e sintéticas podem alterar a marcação de células vermelhas do sangue com tecnécio-99m (99m TC) (BRAGA et al, 2000; OLIVEIRA et al, 2003). Quando uma radionuclídeo tem a sua habilidade de se ligar a componentes do sangue alterados por drogas terapêuticas e naturais, o processo de células vermelhas do sangue marcadas pode ser repetido, resultando

em uma dose de radiação adicional para o paciente (HEESLEWOOD & LEUNG, 1994; SAMPSON, 1996).

Cáscara (*Rhamnus purshina*) é uma árvore de tamanho pequeno a médio nativa de províncias e estados da Costa do Pacífico, incluindo Columbia Britânica, Washington, Oregon e o Norte da Califórnia. A cáscara da árvore é removida, cortada em pequenos pedaços e seca por 1 ano antes de ser usada medicinalmente. A casca fresca da cáscara tem uma propriedade emética ou de provocar vômito e portanto não é usada. Os indígenas do Norte da Califórnia apresentaram esta erva, que eles chamaram de casca sagrada, aos exploradores espanhóis do século XVI. Como esta é mais suave na sua ação laxativa do que a erva ramno, Cáscara se tornou popular na Europa como um tratamento para prisão de ventre. O uso da Cáscara constitui num tratamento para prisão de ventre aprovado na Farmacopéia Americana desde 1890 (Castleman, 1991).

*R. purshina* (Rhamnaceae) é usada como remédio popular em Taiwan para tratar prisão de ventre, inflamação, tumores e asma. 3-O-metilquercetina (3-MQ), o principal componente da planta, foi descrito como inibidor total de cAMP e a GMP-fosfodiesterase (PDE) do cobaia “trachealis” (KO et al, 2003).

Há muitas aplicações das células vermelhas do sangue marcadas por  $^{99m}\text{Tc}$  (CVS- $^{99m}\text{Tc}$ ) em medicina nuclear cardiovascular, na detecção de sangramento gastro-intestinal, e na determinação da massa de células vermelhas do sangue em pacientes. CVS são marcadas com  $^{99m}\text{Tc}$  para aplicações *in vitro*, *in vivo* ou *in vivo/in vitro* (SRIVASTVA & STRAUB, 1990; BERNARDO-FILHO, 1994; EARLY & SODEE, 1995). Entretanto, não há um modelo *in vitro* bem estabelecido para estudar a interação de drogas terapêuticas com produtos radiofarmacêuticos. Então, nós avaliamos a influência de um extrato de *Rhamnus purshina* (aquecido e não

aquecido) na marcação de CVS e proteínas do plasma com  $^{99m}\text{Tc}$  usando um estudo *in vitro*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Nesta experiência foi usado o extrato comprado do Laboratório Herbarium [Cáscara Sagrada (*Rhamnus purshina*) que foi fabricado em 02/02, válido até 02/05, lote 602822/1.1860.0009]. Foram utilizadas cápsulas com 200 mg do extrato em 10 ml de Solução salina (NaCl 0,9%).

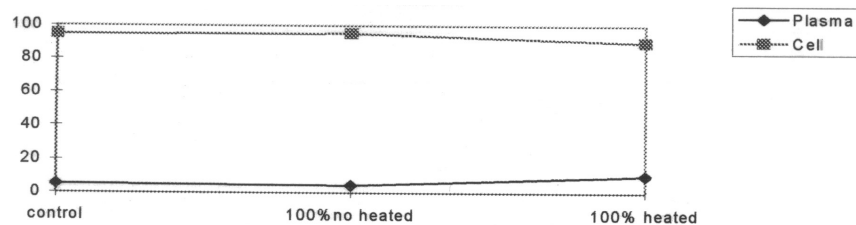
Nós estudamos a influência dos extratos aquecidos e não aquecidos. Para preparar o extrato aquecido a solução aquosa foi aquecida até o ponto de ebulição por 1 minuto.

Amostras de 0,5 ml de sangue retirados de ratos Wistar foram incubadas com 0,1 ml de extrato aquecido e não aquecido durante 1 hora. Decorrido este período de tempo foi adicionado 0,5 ml de cloreto estano (1,2 µg/ml) como  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  por uma hora a temperatura ambiente. Depois deste período de tempo,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  (0,1 ml), na forma de pertecnetato de sódio, foi adicionado e a incubação continuou por mais 10 minutos. Estas amostras foram centrifugadas e o plasma (P) e as células vermelhas (CV) foram separadas. Amostras (20 µl) de P e CV foram precipitadas com 1 ml de ácido tri-cloroacético (ATC) 5% e frações solúveis (FS) e frações insolúveis (FI). A radioatividade em P, CV, IF-P, FS-P e FS-CV foram determinadas em um contador "well". Em seguida, o percentual de radioatividade (% ATI) foi calculado, como já relatado anteriormente (BERNARDO-FILHO et al, 1994). Uma análise estatística (teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer, n=5) foi utilizada para comparar os dados experimentais.

## RESULTADOS

O gráfico 1 mostrou o efeito do extrato de *Rhamnus purshina* na marcação de elementos do sangue com  $^{99m}\text{Tc}$ . A análise dos resultados revelaram que houve um decréscimo na marcação das células vermelhas do sangue (CV) de  $94,76 \pm 0,67$  a  $89,80 \pm 4,23$  no tratamento com o extrato aquecido.

1. O efeito do extrato de *Rhamnus purshina* na marcação das células do sangue com  $^{99m}\text{Tc}$ .

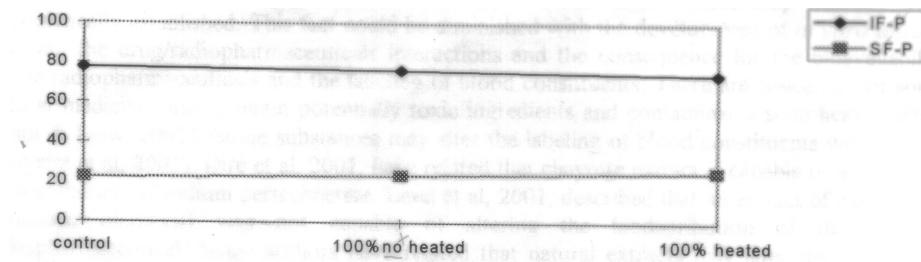


Amostras de sangue heparinizada de ratos Wistar (tratados ou não com os extratos) foram incubados por uma hora com cloreto de  $^{99m}\text{Tc}$  ( $1,2 \mu\text{g/ml}$ ) na forma de “perchnetate” de sódio, foram adicionadas. Estas amostras foram centrifugadas e o plasma (P) e as células do sangue (CS) foram separadas. Amostras de CS foram precipitadas com ácido tri-cloroacético (ATC) 5% e frações solúveis (FS) e insolúveis (FI) foram separadas. A radioatividade em P e CS foi determinada num “contador well” e o percentual de radioatividade (% ATI) foi calculado. Uma análise estatística (teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer,  $n=5$ ) foi utilizada para comparar os resultados. Os valores são médias.

O gráfico 2 mostrou o efeito do extrato de *Rhamnus purshina* na marcação de elementos do sangue com  $^{99m}\text{Tc}$ . A análise dos resultados revelaram que não há alteração na eficiência da radiomarcagem de fração insolúvel do plasma (FI-P) [(de

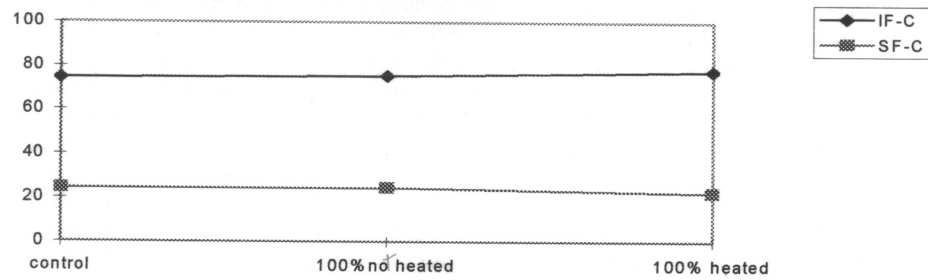
77,63 ± 0,75 a 76,43 ± 3,65 (extrato não aquecido) e a 74,32 ± 3,65 (extrato aquecido)] na presença dos extratos.

## 2. O efeito do extrato *Rhamnus purshina* na marcação da FI-P com 99m Tc



Amostras de sangue heparinizadas dos ratos Wistar (tratados ou não com os extratos) foram incubadas por 1 hora com cloreto estano (1,2 µg/ml) e 99mTc, na forma de pertecnetato de sódio, foram adicionados. Estas amostras foram centrifugadas e plasma (P) e células do sangue (CS) foram separadas. Amostras (20 µl) de CS foram precipitadas com ácido tri-cloroacético (ATC) 5% e frações solúveis (FS) e frações insolúveis (FI) foram separadas. A radioatividade na FI-P foi determinada em um contador “well”, e a percentagem da radioatividade (% ATV) foi calculada. Uma análise estatística (teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer, n=5) foi usada para comparar os resultados. Os valores são médias .

O gráfico 3 demonstrou o efeito do extrato de *Rhamnus purshina* na marcação dos elementos do sangue com 99m TC. A análise dos resultados revelaram que não há alteração na eficiência de radiomarcagem da fração insolúvel da célula (FI-C) [(de 74,55 ± 2,60 a 75,48 ± 1,61 (extrato não aquecido) e a 77,61 ± 1,06 (extrato aquecido)] na presença dos extratos.



Amostras de sangue heparinizado de ratos Wistar (tratados ou não com os extratos ) foram incubados por 1 hora com cloreto estano (1,2  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) e  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , na forma de pertecnetato de sódio, foram adicionados. Estas amostras foram centrifugadas e plasma (P) e células do sangue (CS) foram separadas. Amostras (20  $\mu\text{l}$ ) de CS foram precipitadas com ácido tricloroacético (ATC) 5% e frações solúveis (FS) e frações insolúveis (FI) foram separadas. A radioatividade em FI-C FS-C foi determinada em um contador “well” e a percentagem de radioatividade (% ATV) foi calculada. Uma análise estatística (teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer,  $n=5$ ) foi usado para comparar os resultados. Os valores são médias.

## DISCUSSÃO

Vários autores já estudaram o efeito de diferentes drogas (naturais e sintáticas) na marcação de elementos do sangue com radionuclídeos e estes relataram importantes descobertas. Extratos de produtos medicinais podem também alterar a marcação de elementos do sangue com  $^{99m}\text{Tc}$  (SAMPSON et al, 1996). Nós concordamos com Hesslewood e Leung (1994), que muitos relatórios sobre interações de medicamentos com produtos radiofarmacêuticos não foram confirmados e em alguns casos a relação causa e efeito não foi estabelecida de forma correta. Este fato poderia ser diminuído com o desenvolvimento de testes *in vitro* com objetivo de avaliar as interações droga/produtos radiofarmacêuticos e a consequência para a biodisponibilidade de produtos radiofarmacêuticos e a marcação de componentes do sangue. Há preocupação com relação a alguns medicamentos que podem conter ingredientes potencialmente tóxicos e contaminantes como os metais pesados (KAM e LIEW, 2002). Algumas substâncias podem alterar a marcação de componentes do sangue com  $^{99m}\text{Tc}$  (OLIVEIRA et al, 2003). Diré et al, 2003, relataram que extrato de chayotte (chuchu) é capaz de alterar a biodistribuição de pertecnetato de sódio. Lima et al, 2001, descreveram que um extrato de couve-flor (*Brassica Oleracea*) não foi capaz de alterar a biodistribuição do citado produto radiofarmacêutico. Alguns autores relataram que extratos naturais podem alterar a marcação de elementos do sangue com  $^{99m}\text{Tc}$  (BRAGA et al, 2000). No processo de marcação os componentes do sangue com  $^{99m}\text{Tc}$  é necessário um agente redutor, e provavelmente o íon estano seria oxidado. Nos estudos *in vitro* verificou-se que os extratos de *Thuya occidentalis* (OLIVEIRA et al, 1997), *Nicotiana tabacum* (VIDAL et al, 1998), *Maytenus ilicifolia*

(OLIVEIRA et al, 2000), *Syzygium jambolarum* (SANTOS et al, 2002), *Stryphonodendron ad stringens* (Mart.) Coville (COSTA et al, 2002) e *Ginkgo Biloba* (MORENO et al, 2002), possivelmente teria compostos oxidantes e a marcação dos elementos do sangue diminuem na presença destes extratos. Oliveira et al, 2002, verificou que o extrato de *Paullinia cupana* foi capaz de alterar a radiomarcção do sangue. Em outro estudo *in vitro* com extrato de *Fucus vesiculosus* notou-se que o extrato levou a alterações na marcação de elementos do sangue com 99m Tc (OLIVEIRA et al, 2003). Neste estudo ficou demonstrado que o extrato de *Rhamnus purshina* aquecido foi capaz de alterar a radiomarcção de células do sangue . Resultados semelhantes foram observados com o extrato de *Solanum melongena* (berinjela) que conseguiu alterar a radiomarcção (CAPRILES et al, 2002). Moreno et al (2002) observou que num estudo *in vitro* o extrato de *ginkgo biloba* alterou a radiomarcção dos elementos do sangue. Foi descrito por Santos-Filho (2002) que extratos de *Mentha crispa L.* (menta, hortelã) foram capazes de alterar o processo de radiomarcção. Braga et al (2000) em um estudo *in vitro* demonstrou que *Peumus boldus* não alterou a marcação dos elementos do sangue com 99m Tc e resultados semelhantes foram observados por Santos-Filho et al (2002) com o extrato de *kava kava* (*Piper methysticum*) em um estudo *in vitro*. Lima et al (2002) em um estudo *in vitro* demonstrou que um extrato de couve-flor (folha) não conseguiu alterar a marcação de elementos do sangue com 99m Tc. Diré et al (2002) em um estudo *in vitro* observou que os extratos de chuchu não foram capazes de alterar a radiomarcção de componentes do sangue. No procedimento que marca as células vermelhas do sangue com 99m Tc, os íons estanosos e pertecnetato passam através da membrana do plasma (GUTFILEN et al, 1992). Portanto como relatado com os extratos de tabaco (VIDAL et al, 1998) *maytenus*

*ilicifolia* (OLIVEIRA et al, 2000), *Sechium eduli* (DIRÉ et al, 2001), *mentha crispa* L. SANTOS-FILHO et al, 2002), *Paullinia cupana* (OLIVEIRA et al, 2002), *Ginkgo biloba* (MORENO et al, 2002) e *fucus vesiculosus* (OLIVEIRA et al, 2003), alterações histológicas de células vermelhas do sangue poderiam ser responsáveis por modificações na marcação de CVS com  $^{99m}\text{Tc}$ . Embora neste estudo o efeito do extrato no formato das CVSs não tenha sido avaliado, nós podemos sugerir que o extrato aquecido poderia estar alterando a morfologia da CVS uma vez que a eficiência na FI do P e C não foi alterada. Além disso, nós podemos especular que se os compostos químicos presentes nestes extratos influenciados pelo calor poderiam formar complexos com estes íons como um agente de quelação, este fato poderia explicar a diminuição na fixação da radioatividade nas células vermelhas do sangue. Diré et al (2001), em uma análise qualitativa *in vivo*, considerou que o extrato de chuchu (macerado) levou a alteração no formato da CVS. Neste estudo o extrato não aquecido não alterou a radiomarcagem dos elementos do sangue e em relação a isto nós podemos concluir que o extrato quando é aquecido é capaz de desestabilizar a atividade da membrana das células vermelhas do sangue, bem como, pode levar a geração de espécies de oxigênio reativo (EOR) como já relatado em relação a outro produto natural, *Maytenus icilifolia* (OLIVEIRA et al, 2000) e *Fucus vesiculosus* (OLIVEIRA et al, 2003) que possivelmente poderia estar levando a alterações na reabsorção da radioatividade pelas células vermelhas do sangue.

## **CONCLUSÃO**

Podemos concluir que, dependendo da maneira como o extrato é incubado (aquecido ou não aquecido) a marcação das CVSs com  $^{99m}\text{Tc}$  pode ser alterado. Sugerimos que o produto natural estudado, quando aquecido, pode ser capaz de gerar espécie de oxigênio reativo, bem como, compostos oxidantes que provavelmente poderiam ser responsáveis pela diminuição da radioatividade das células vermelhas do sangue.

## REFERÊNCIAS

Bernardo-Filho, M., Gutfilen, B., Maciel, O.S., 1994. Technetium-99m binding on plasma proteins and red blood cells: role of various precipitating agents. *Biomed. Letters.*, 50: 17-24.

Braga, A. C. S., Oliveira, M. B. N., Feliciano, G. D., Reiniger, I. W., Oliveira, J. F., Silva, C. R., and Bernardo-Filho, M., 2000. The Effect of Drugs on the Labeling of Blood Elements with Technetium-99m. *Curr. Pharm. Design.*, 6: 1179-1191.

Capriles, P.V.S.Z., Dias, A.P.M., Costa, T.E.M.M., Oliveira, M.B.N., Faria, M.V.C., Moura, E.G., Abreu, B. A.L., Bernardo-Filho, M., 2002. Effect of eggplant (*Solanum melongena*) extract on the *in vitro* labeling of blood elements with technetium-99m and on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. *Cell. Mol. Biol.* 48: 771-776.

Castleman M., 1991. *The Healing Herbs*. Emmaus, PA: Rodale Press, 99–100.

Costa T.E.M.M., Dias, A.P.M., Capriles, P.V.S.Z., Oliveira, M.B.N., Amorim, E.L.C., Lima, C.S.A., Bernardo-Filho, M., 2002. Effect of barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] infusion on the labeling of blood elements with technetium-99m. *Rer. Bras. Farmacogn.* 12: 07-09.

Diré, G., Lima, E., Mattos, D., Oliveira, M.B., Pereira, M.J., Moreno, S., Freitas, R., Gomes, M.L., Bernardo-Filho, M., 2001. Effect of chayotte (*Sechium edule*) extract on the biodistribution of technetium-99m and on the morphometry of red blood cells. *J. labelled Cpd. Radiopharm.* 44: 648-650.

Diré, G.F, Lima, E.A.C., Pereira, M.J.S., Oliveira, M.B.N., Moreno, R.F., Mattos, D.M.M., Jales, R.L., Bernardo-Filho, M., 2002. Effect of a chayotte (*Sechium edule*) extract on the labeling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m: *in vitro* and *in vivo* studies. *Cell. Mol. Biol.* 48: 751-755.

Early, P. J. & Sodee, D.B. *Principles and Practice of Nuclear Medicine*. 2 ed. New York , 1995.

Flores, E.M., 1989. El chayote, *Sechium edule* Swartz (Cucurbitaceae). *Rev. Biol. Trop.*, 1:1-54.

Guppy L.J., Gordon E, A., Nelson, M., 2000. The antihypertensive effects of the Jamaican Cho-Cho. *West. Indian. Med. J.*, 1:27-31.

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

Hesslewood, S., Leung, E., 1994. Drug interactions with radiopharmaceuticals. *Eur. J. Nucl. Med.*, 21:348-356.

Jensen, L.P., Lai, A.R., 1986. Chayote (*Sechium edule*) causing hypokalemia in pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 5: 1048-1049.

Kam, P. C. A. and Liew, S., 2002. Traditional Chinese herbal medicine and anaesthesia. *Anaesthesia.*, 57: 1083-1089.

Ko, W.C., Chen, M.C., Wang, S.H., Lai, Y.H., Chen, J.H., Lin, C.N., 2003. 3-O-methylquercetin more selectively inhibits phosphodiesterase subtype 3. *Planta Med.* 69:310-315.

Lima, E.A.C., Diré, G., Mattos, D.M.M., Oliveira, M.N., Mattos, J.C.P., Dantas, F.J.S., Caldeira-de-Araújo, A., Bernardo-Filho, M., 2001. Effect of the leaf extract from cauliflower (*Brassica oleracea L. var. Botrytis*) on the biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetate in mice and on the electrophoretic mobility of plasmid pUC 9.1 DNA. *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* 44: 642- 644.

Lima, E.A.C., Diré, G., Mattos, D.M.M., Freitas, R.S., Gomes, M.L., Oliveira, M.B.N., Faria, M.V.C, Jales, R.L., Bernardo-Filho, M., 2002. Effect of an extract of cauliflower (leaf) on the labeling of blood elements with technetium-99m and on the survival of *Escherichia coli* AB1157 submitted to the treatment with stannous chloride. *Food Chem. Toxicol.* 40: 919-923.

Moura, C.M. Metodologia enzimática para a detecção de pesticidas organofosforados e carbamatos em água e frutas. Dissertação (Mestrado em Biologia), Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, 1998.

Moreno, S.R.F., Diré, G.F., Freitas, R.S., Farah, M.B., Laurentino-Filho, G.L., Rocha, E.K., Jales, R.L.C., Bernardo-Filho, M., 2002. Effect of *Ginkgo biloba* on the labeling of blood elements with technetium-99m: *in vitro* study. *Rer. Bras. Farmacogn.*, 12: 62-63.

Moreno, S.R.F., Freitas, R., Diré, G., Farah, M., Lima, E., Lima-Filho, G.L., Pereira, M., Mandarim-Lacerda, C., Rocha, E.K., Bernardo-Filho, M., 2002. Evaluation of the effect of a *Ginkgo biloba* extract on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats and on the morphology of red blood cells. *Technetium, Rhenium and Other Metals in Chemistry and Nuclear Medicine*. SGEEditoriali, Padova. 6: 531-533.

Oliveira, J.F., Braga, A.C.S., Ávila, A.S.R., Gutfilen, B., and Bernardo-Filho, M., 1997. Effect of *Thuya occidentalis* on the labeling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m. *Yale. J. Biol. Med.*, 69: 489-494.

Oliveira, J.F., Braga, A.C.S., Ávila, A.S.R., Araújo, A.C., Cardoso, V.N., Bezerra, R.J.A.C., Bernardo-Filho, M., 2000. Assessment of the effect of *Maytenus ilicifolia* (espíneira santa) extract on the labeling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m. *J. Ethnopharmacol.*, 72: 179-184.

Oliveira, J. F., Ávila, A. S., Braga, A. C. S., Oliveira, M. B. N., Boasquevisque, E. M., Jales, R. L., Cardoso, V. N. and Bernardo-Filho, M., 2002. Effect of extract of medicinal plants on the labeling of blood elements with Technetium-99m and on the morphology of red blood cells: a study with *Paullinia cupana*. *Fitoterapia*, 73: 305-312.

Oliveira, J. F., Oliveira, M. B., Ávila, A. S., Braga, A. C. S., Catanho, M. T. J. A., Jales R. L. C., Cardoso, V. N. and Bernardo-Filho, M., 2003. Assessment of the effect of *Fucus vesiculosus* extract on the labeling of blood constituents with technetium-99m and the histological modifications on the shape of the red blood cells. *Food Chem. Toxicol.*, 41: 15-20.

Reiniger, I.W., Oliveira, J.F., Caldeira-de-Araújo, A., Bernardo-Filho, M., 1999. Effect of *Peumus boldus* on the labeling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m. *Appl. Radiat. Isto*. 51: 145-149.

Saha, G.B. *Fundamentals of Nuclear Pharmacy*. 4<sup>th</sup> ed. New York: Springer-Verlag, 1998.

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

Santos, A. E. O. dos, Moreira, C. dos S., Oliveira, M. B. N., Diré, G., Jales, R. L. and Bernardo-Filho, M., 2002. Effect of a *Syzygium jambolanum* (jamelão) extract on the labeling of blood elements with sodium pertechnetate ( $\text{Na}^{99\text{m}}\text{TcO}_4$ ). *Rev. Bras. Pl. Med.*, 5: 63-67.

Santos, J.S., Paula, E.F., Correa, T.G., Freitas, L.C., Fonseca, L.M., Gutfilen, B., Bernardo-Filho, M., 1995. Effect of cyclophosphamide on the binding of  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  and  $^{99m}\text{Tc}$ -MDP to blood cells and plasma proteins. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 28: 131-135.

Santos-Filho, S.D., Ribeiro, C.K., Diré, G.F., Lima, E., Pereira, M., Bernardo-Filho, M., 2002. Morphological alterations on red blood cells labeled with technetium-99m: the effect of *Mentha crispera* L. (Hortelã) and *Piper methysticum* (Kava Kava) extracts. *Technetium, Rhenium and Other Metals in Chemistry and Nuclear Medicine*. SGEEditoriali, Padova. 6: 503-505.

Silva, C.R., Oliveira, M.B.N., Melo, S.F., Dantas, F.J.S., Mattos, J.C.P., Bezerra, R.J.A.C., Caldeira-de-Araújo, A., Duatti, A., Bernardo-Filho, M., 2002. Biological effects of stannous chloride, a substance that can produce stimulation or depression of the central nervous system. *Brain Res. Bull.* 59: 213-216.

Srivastava, S.C., Straub, R.F., 1990. Blood cell labeling with tc-99m: progress and perspectives. *Semin. Nucl Med.*, 1: 41-51.

Vidal, M.V., Gutfilen, B., Barbosa-da-Fonseca, L.M., Bernardo-Filho, M., 1998. Influence of Tobacco on the labelling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m. *J. Exp. Clin. Cancer. Res.*, 1:1-6.



