

**Arry Rocha de Oliveira Júnior**

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DO EXTRATO DE *Salix alba*(SALGUEIRO-BRANCO) NA MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS E PROTEÍNAS PLASMÁTICAS COM O TECNÉCIO-99M E NA BIODISTRIBUIÇÃO EM RATOS WISTAR.**

Dissertação submetida ao Colegiado do Curso de Mestrado em Ciências Biológicas (área de concentração em Biofísica), do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Como requisito para obtenção do grau de Mestre.

- **RECIFE**
- **2003**

**Arry Rocha de Oliveira Júnior**

**ESTUDO DA INTERAÇÃO DO EXTRATO DE *Salix alba*(SALGUEIRO-BRANCO) NA MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS E PROTEÍNAS PLASMÁTICAS COM O TECNÉCIO-99M E NA BIODISTRIBUIÇÃO EM RATOS WISTAR.**

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre**

ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho

- 
  
- **RECIFE**
- **2003**

Esta dissertação foi submetida a Coordenação do Curso de Mestrado em Biofísica, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biofísica, outorgada pela Universidade Federal de Pernambuco, encontrado-se à disposição dos interessados nas Bibliotecas das referidas universidades.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas de ética científica.

-----  
**Arry Rocha De Oliveira Júnior**

**Orientadora:**

-----  
Prof. Dra Maria Teresa Janssem De Almeida Catanho

**Examinadores:**

-----  
Mauricy Alves Motta

-----  
Paloma Lys De Medeiros

-----  
Maria do Carmo Medeiros

Universidade Federal de Pernambuco

RECIFE-PE

**2003**

**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA**

**Reitor( em exercício):**

Prof. Geraldo José Marques

**Vice-Reitor Substituto:**

Prof. Yyonir de Sá Barreto Sampaio

**Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação:**

Prof. Paulo Roberto Freire Cunha

**Diretor do Centro de Ciências da Biológicas:**

- Profa Ana Maria dos Santos Cabral

**Vice-Diretor do Centro de Ciências Biológicas:**

Profa Eleonor da Costa Maia

**Chefe do Departamento de Biofísica e Radiobiologia:**

- Prof. Carlos Manuel Machado Carneiro

**Coordenadora do Curso do Mestrado em biofísica:**

Profa Maria Teresa Jansem de Almeida Catanho

**Vice-Coordenador:**

- Prof.Milton Marcelino Filho

**Nível:**

- Mestrado

**Nome do Aluno:**

Arry Rocha de Oliveira Júnior

**Departamento do Aluno:**

- Departamento de Biofísica e Radiobiologia

**Nome do Orientador:**

Profa Maria Teresa Janssem de Almeida Catanho

**Departamento do Orientador:**

Departamento de Biofísica e Radiobiologia

- 

**Data da Defesa: 29/08/2003**

**Título da Dissertação:**

**Estudo da Interação do Extrato de Salix alba (Salgueiro-Branco) na Marcação de Hemácias e Proteínas Plasmáticas com o  $^{99m}\text{Tc}$  e na Biodistribuição em Ratos Wistar.**

Dedico este trabalho a Deus,a comunidade Rainha da Paz,meus pais Arry(*In memoriam*) e Maria Lima pela dedicação na árdua missão de educar e formar seus filhos ,a minha esposa Rita Célia pela dedicação e amor a família,aos meus filhos Taynah e Arry Thérusus aos meus irmãos Neusa,Kelly e Dimas pelo companheirismo

## AGRADECIMENTOS

Ao Magnífico Reitor José Teodoro Soares pela valiosa e estimada contribuição.

À Professora Tereza Jansem Catanho, pela brilhante orientação durante a execução deste trabalho, pois além do apoio profissional e intelectual foi uma mãe dedicada a um filho.

À Professora Grace Mary pela disponibilidade sempre presente e apoio. Ao Estagiário Edgar pela colaboração

Ao Coordenador do curso Dr. Carlos Rolim Martiniano (*in memoriam*).

A todos os professores do Mestrado em Biofísica da UFPE, pela dedicação

Aos colegas de Mestrado pelo companheirismo

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1-</b> Representando o Salix alba (Salgueiro-branco)-----	02
<b>Tabela 1-</b> Principais geradores de radionuclídeos -----	06
<b>Tabela 2-</b> Radionuclídeos mais utilizados em medicina nuclear -----	06
<b>Figura 2-</b> Representação dos passos para a marcação de hemácias -----	10
<b>Figura 3-</b> Sequência da metodologia da marcação de hemácias e proteínas plasmáticas com o $^{99m}\text{Tc}$ -----	19
<b>Figura 4-</b> Sequência da metodologia da biodistribuição-----	20
<b>Figura 5-</b> Determinação in vitro de diferentes concentrações (mg/ml) do extrato do salgueiro na marcação de hemácias(h) e plasma(p)com o $^{99m}\text{Tc}$ -----	22
<b>Figura 6-</b> Determinação in vitro de diferentes concentrações (mg/ml) do extrato do salgueiro na marcação das frações solúveis tanto de hemácias quanto de plasma com o $^{99m}\text{Tc}$ -----	23
<b>Figura 7-</b> Determinação in vitro de diferentes concentrações (mg/ml) do extrato do Salgueiro na marcação de frações insolúveis tanto de hemácias quanto de plasma com o $^{99m}\text{Tc}$ -----	24
<b>Figura 8-</b> Determinação in vitro de diferentes concentrações (mg/ml) do extrato do salgueiro na marcação de frações solúveis e insolúveis de plasma com o $^{99m}\text{Tc}$ -----	24
<b>Figura 9-</b> Determinação in vitro de diferentes concentrações (mg/ml) do extrato de salgueiro na marcação de frações solúveis e insolúveis das hemácias com o $^{99m}\text{Tc}$ -----	25
<b>Tabela 3-</b> Resultados obtidos na biodistribuição do $^{99m}\text{Tc}$ em % ATI/g -----	26
<b>Tabela 4-</b> Resultados obtidos na biodistribuição do $^{99m}\text{Tc}$ em % ATI -----	26

<b>SUMÁRIO</b>	<b>Página</b>
LISTA DE ILUSTRAÇÕES -----	viii
LISTA DE ABREVIATURAS -----	xi
RESUMO-----	xii
ABSTRACT-----	xiii
1.INTRODUÇÃO -----	01
2.CONSIDERAÇÕES GERAIS -----	02
2.1.O VEGETAL SALIX ALBA (SALGUEIRO-BRANCO)-----	02
2.2.INFLAMAÇÃO E REPARAÇÃO-----	03
2.3 INTERAÇÃO DAS PLANTAS MEDICINAIS COM OS RADIOFÁRMACOS-----	04
2.4.RADIOFÁRMACOS -----	04
2.5.RADIONUCLÍDEOS-----	05
2.6.TECNÉCIO 99M-----	06
2.7.CONSTITUINTE SANGUÍNEOS-----	07
2.8.ESTUDO DA MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS COM <sup>99m</sup> Tc -----	08
2.9. MARCAÇÃO DAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS COM <sup>99m</sup> Tc -----	11
2.9.1. RELAÇÃO DA CASCA DO SALGUEIRO E ASPIRINA -----	12
2.9.2. EXTRATOS NATURAIS X MARCAÇÃO DE ELEMENTOS SANGUÍNEOS COM <sup>99m</sup> Tc -----	12
2.9.3 CONSIDERAÇÕES SOBRE BIODISTRIBUIÇÃO -----	13
3.JUSTIFICATIVA -----	14
4.OBJETIVOS -----	15
4.1.OBJETIVO GERAL -----	15
4.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	15
5.MATERIAIS-----	15
5.1.EQUIPAMENTOS -----	15
5.2.MATERIAIS DIVERSOS -----	16

5.3.REAGENTES-----	16
5.4.ANIMAIS UTILIZADOS-----	16
6.MÉTODOS-----	17
6.1.PREPARO DO EXTRATO-----	17
6.2.PREPARO DAS DOSES-----	17
6.3.PREPARO DOS TUBOS (ESTUDO <i>IN VITRO</i> )-----	17
6.4. PREPARO DO CLORETO ESTANOSO (ESTUDO <i>IN VITRO e IN VIVO</i> )-----	17
6.5.PROCESSO DE MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS E PROTEÍNAS PLASMÁTICAS COM O <sup>99m</sup> Tc ( <i>IN VITRO</i> )-----	17
6.6. BIODISTRIBUIÇÃO-----	19
6.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA-----	21
7.RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	22
7.1.VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO EXTRATO DO SALGUEIRO NA MARCAÇÃO DE HEMÁCIAS E PROTEÍNAS COM O <sup>99m</sup> Tc( <i>IN VITRO</i> )-----	22
7.2. BIODISTRIBUIÇÃO DO PERTECNETATO-----	25
8.DISSCUSSÃO-----	27
9.CONCLUSÕES-----	29
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	30

**LISTA DE ABREVIATURAS**

- $\alpha$**  - Alfa
- $\beta$**  - Beta
- Bq** - Bequerel(unidade de atividade da amostra radioativa)
- FI** - Fração insolúvel
- FIC** - Fração insolúvel da célula(hemácia)
- FIP** - Fração insolúvel do plasma
- FS** - Fração solúvel
- FSC** - Fração solúvel da célula
- FSP** - Fração solúvel do plasma
- LET** - Energia de transferência linear
- MBq** - Megabequerel
- Mn** - Manganês
- Mo** - Molibidênio
- PET** - Tomografia por emissão de pósitron
- Re** - Rênio
- SnCl<sub>2</sub>** - Cloreto estanhoso
- SPECT** - Tomografia computadorizada por emissão de fóton único
- <sup>99m</sup>Tc** - Tecnécio-99m
- TCA** - Ácido tricloroacético
- TcO<sub>4</sub>** - Íon pertecnetato

## RESUMO

O uso de produtos naturais como plantas medicinais é muito freqüente em populações indígenas e nas camadas mais populares. O extrato do salgueiro(*Sáliz alba*) é um vegetal utilizado como analgésico, antiinflamatório e antipirético. O objetivo deste trabalho é avaliar a influência ou efeito do extrato do salgueiro em diferentes concentrações na marcação de hemácias e proteínas plasmáticas com o  $^{99m}\text{Tc}$ . Hemácias marcadas com o  $^{99m}\text{Tc}$  estão sendo usadas para várias avaliações em medicina nuclear.. Inicialmente o **sangue (hemácias e proteínas plasmáticas)** foi incubado com o **extrato do salgueiro** em diferentes concentrações durante **1h** e depois foram adicionados sequencialmente **cloreto estanoso ( $\text{SnCl}_2$ )** por **1h** e  $^{99m}\text{Tc}$  por **10 min.** Posteriormente plasma e hemácias foram **separados** com o uso da **centrifuga**. Alíquotas desta também foram **precipitadas** com **TCA (ácido tricloroacético)** à **5%** e as **frações solúveis e insolúveis separadas**. As **percentagens de radioatividade (%ATI) das amostras e hemácias de plasma** foram **determinadas** ou calculadas e os **resultados** indicaram que o extrato **reduziu a marcação de hemácias e proteínas plasmáticas com o  $^{99m}\text{Tc}$**

O estudo in vivo mostra o efeito do extrato de salgueiro branco(*Salix alba*) e a biodistribuição dos radiofármacos em ratos Wistar fêmeas( $n=6$ ) e foram divididos em dois grupos: tratado( $n=3$ ) e controle( $n=3$ ). A reação com  $^{99m}\text{Tc}$  (3,7MBq) em presença do cloreto estanoso e do extrato de salgueiro branco(*Salix alba*) foi incubada por uma hora e depois injetada nos animais. Depois de uma hora os animais foram rapidamente sacrificados para a retirada dos órgãos e contagem em contador gama. A percentagem de radioatividade(%ATI) foi calculada em relação ao peso dos órgãos. A análise dos resultados revelam uma redução significativa no %ATI nos rins, coração, pulmões, fígado, baço, pâncreas, músculos, intestinos, cérebro, útero e tireóide e um aumento de %ATI no estômago. Conclui-se que o extrato de salgueiro branco pode inibir a passagem de cloreto estanoso pela membrana plasmática ou competir com os sítios de ligação e formar espécies reativas de oxigênio.

## ABSTRACT

The use of natural products as medicinal plants is very frequent in popular medicine. The extract of the White Willow (*Salix alba*) is a vegetable used as analgesic, antiinflammatory and antipyretic. The objective of this work is to evaluate the influence or effect of the extract of the Willow in different concentrations in the labelling of red blood cells (RBC) and plasmatic proteins with  $^{99m}\text{Tc}$ , as well as study the effects of the White Willow on the kinetic of biodistribution of  $^{99m}\text{Tc}$ . RBC marked with  $^{99m}\text{Tc}$  are being used for several evaluations in nuclear medicine. Initially blood (RBC and plasmatic proteins) was incubated with the extract of the Willow in different concentrations during 1 hour and later in a sequence stannous chloride ( $\text{SnCl}_2$ ) was added for 1 hour and  $^{99m}\text{Tc}$  for 10 minutes. Later plasma and RBC were separated with the use of a centrifuge. Aliquots of this sample were also precipitated with TCA (trichloroacetic acid) 5% and soluble and insoluble fractions separated. The radioactivity percentages (%ATI) of plasma and RBC samples were determined or calculated, and the results indicated that the extract of the White Willow (*Salix alba*) reduced the demarcation of RBC and plasmatic proteins with  $^{99m}\text{Tc}$ .

The study *in vivo* shows us the effect of the extract of white willow (*Salix alba*) and the biodistribution of radiopharmaceuticals in female Wistar mouse ( $n=6$ ) and it was divided in two groups: treated ( $n=3$ ) and control ( $n=3$ ). The reaction with  $^{99m}\text{Tc}$  (3,7 MBq) in the presence of stannous chloride and the extract of the white willow (*Salix alba*) was incubated for one hour and after it was injected and the animals (mice). After one hour the animals (mice) were rapidly sacrificed to take off the organs and were counting by the gamma counter. The radioactivity percentage (%ATI) it was calculated in relationship by weight organs. The analysis of the results reveals a significant reduction of the %ATI in kidneys, heart, lungs, liver, spleen, pancreas, muscle, intestines, brain, utero and thyroid and a increase of %ATI in stomach. In conclusion that the extract of white willow can be inhibit passage to stannous chloride by the plasmatic membrane or compete with ligation places and forme the species reactivas by oxigenio.