

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA
CRISTIANA ABRANTES DA FONTE NEVES

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA
DO EXTRATO AQUOSO DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL)**

RECIFE-PE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA
CRISTIANA ABRANTES DA FONTE NEVES

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA
DO EXTRATO AQUOSO DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL)**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Integrada.

Orientador: Prof.Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto

Co-orientador: Profa. Dra. Maria Teresa J. A. Catanho

RECIFE – PE

2008

Neves, Cristiana Abrantes da Fonte

Avaliação da toxicidade aguda e da atividade antiinflamatória do extrato aquoso do *Cissus sicyoides* L. (insulina vegetal) / Cristiana Abrantes da Fonte Neves. – Recife: O Autor, 2008.

51 folhas : il., fig., gráf.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Odontologia, 2008.

Inclui bibliografia e anexos.

1. *Cissus sicyoides* L. I. Título.

615.015
615.1

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS2009-136

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

COLEGIADO

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Prof. Dr. Etenildo Dantas Cabral

Prof. Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

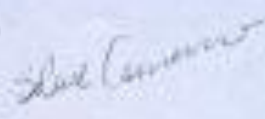
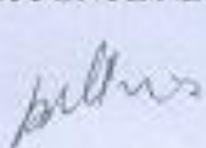
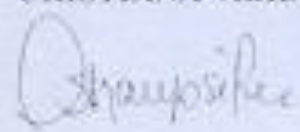
Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

SECRETARIA

Oziclere de Araújo Sena

Ata da 67ª Defesa de Dissertação do Curso de Mestrado em Odontologia com área de Concentração em Clínica integrada do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 31 de março de 2008.

Às 9:30(nove horas e trinta minutos) do dia 31(trinta e um) do mês de março do ano de dois mil e oito, reuniram-se no Auditório do Curso de Odontologia da UFPE, os membros da Banca Examinadora, composta pelos professores: Profa. Dra. LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE, atuando como presidente, Profa.Dra. SILENE CARNEIRO DO NASCIMENTO, atuando como primeiro examinador, Profa. Dra. RENATA CIMOES JOVINO SILVEIRA, atuando como segundo examinador, para julgar o trabalho intitulado "AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA E DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATORIA DO EXTRATO AQUOSO DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL)", da CD CRISTIANA ABRANTES DA FONTE NEVES, candidata ao Grau de Mestre em Odontologia, na Área de Concentração em CLÍNICA INTEGRADA, sob orientação do Professor Dr. GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO e Co-orientação da Profa.Dra. MARIA TEREZA DE ALMEIDA JASEN CATANHO. Professora LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE, membro permanente do Programa de Pós Graduação em Odontologia abriu os trabalhos convidando os senhores membros para compor a Banca Examinadora, foram entregues aos presentes cópias do Regimento Interno do Curso de Mestrado em Odontologia, que trata dos critérios de avaliação para julgamento da Dissertação de Mestrado. O presidente da mesa após tomar posse conferiu os membros, seguindo convidou a mestranda, CD CRISTIANA ABRANTES DA FONTE NEVES, para expor sobre o aludido tema, tendo sido concedido trinta minutos. A candidata expôs o trabalho e em seguida colocou-se a disposição dos Examinadores para arguição. Após o término da arguição os Examinadores reuniram-se em secreto para deliberações formais. Ao término da discussão, atribuíram a candidata os seguintes conceitos: Profa.Dra. SILENE CARNEIRO DO NASCIMENTO (PROVADA), Profa. Dra. RENATA CIMOES JOVINO SILVEIRA (APROVADA), Profa.Dra. LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE (APROVADA) a candidata recebeu três conceitos (APROVADA) é considerada (APROVADA), devendo a candidata acatar as sugestões da Banca Examinadora de acordo com o Regimento Interno do Curso, face a aprovação, fica a candidata, apta a receber o Grau de Mestre em Odontologia, cabendo a UFPE através de sua Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, tomar as providências cabíveis. Nada mais havendo a tratar, a Presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão e para constar eu, Ozicleire Sena de Araújo Silva, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pela recém formada mestre pela UFPE, CRISTIANA ABRANTES DA FONTE NEVES.



Luciana Carneiro de Souza Beatrice

Recife, 31 de março de 2008.

Luciana Carneiro de Souza Beatrice

Profa. Dra. LUCIA CARNEIRO DE SOUZA BEATRICE
Presidente,

Silene Carneiro do Nascimento
Profa. Dra. SILENE CARNEIRO DO NASCIMENTO
1º Examinador

Renata Cimoês Jovino Silveira
Profa. Dra. RENATA CIMOES JOVINO SILVEIRA
2º Examinador

Qualificação

TÍTULO DO TRABALHO: AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO EXTRATO AQUOSO DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL)

NOME DO ALUNO: CRISTIANA ABRANTES DA FONTE NEVES

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 31 de março de 2008

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Profa. Dra. Silene Carneiro do Nascimento

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

Recife –PE

2008

DEDICATÓRIA

À minha família, especialmente aos meus
pais, marido e filhos, pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

À Deus, Amor Maior e guia dos meus passos, pelo Dom da Vida.

À Universidade Federal de Pernambuco, na pessoa do Reitor Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins, pelos recursos disponibilizados para a viabilidade deste curso.

Ao Coordenador da Pós-Graduação Prof. Dr. Jair Carneiro Leão, pela dedicação, objetividade e rigor em conduzir esta coordenação.

À CAPES pelo apoio financeiro que viabilizou o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Geraldo Bosco Lindoso Couto, pela orientação dedicada e competente, e pela amizade e atenção a mim dispensadas durante minha formação como pesquisadora.

À Professora Doutora e co-orientadora Maria Teresa Jansem de Almeida Catanho pela cuidadosa e atenta colaboração durante o desenvolvimento da pesquisa.

Aos professores do curso de mestrado pela competência e superação que tanto contribuíram para alcançarmos metas importantes nesta Pós-Graduação.

À minha família, pelo apoio e incentivo durante a elaboração deste trabalho.

Aos acadêmicos: André Barros, Marcela Figueiredo, Raquel de Farias, Emanuelle de Lima e Patrícia Falcão pela importante contribuição na fase laboratorial desta pesquisa.

Aos colegas do curso de mestrado pelas trocas de experiências, tão valiosas para construção do conhecimento e pela amizade inesquecível.

E a todos os funcionários da Pós-graduação, pela disponibilidade em servir.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE ABREVIATURAS

APRESENTAÇÃO

ARTIGO 1	12
Resumo	13
Abstract	14
Introdução	15
Materiais e métodos	16
Resultados e Discussão	18
Conclusão	21
Referências	22
ARTIGO 2	27
Resumo	28
Abstract	29
Introdução	30
Metodologia	31
Resultados	34
Discussão	37
Conclusão	38
Referências	39
Anexo 1 - Normas da Revista Journal of Ethnopharmacology	42
Anexo 2 - Normas da Revista Acta Cirúrgica Brasileira	47
Anexo 3 - Comitê de Ética em Pesquisas com Animais	51

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO 1

Gráfico 1: Análise da redução do edema de pata na presença de diferentes concentrações do extrato aquoso de *C.sicyoides*.....19

ARTIGO 2

Gráfico 1: Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação das células sanguíneas (C) e do plasma (P) pelo ⁹⁹mTc.....35

Gráfico 2: Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação das proteínas celulares - fração solúvel e insolúvel da célula (FSC; FIC) pelo ⁹⁹mTc.....35

Gráfico 3: Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação das proteínas celulares - fração solúvel e insolúvel do plasma (FSP; FIP) pelo ⁹⁹mTc.....36

Figura 1: Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na morfologia das hemácias.....36

LISTA DE ABREVIATURAS

Artigo 1

Cissus sicyoides L.....*C.sicyoides*

Artigo 2

Cissus sicyoides L.....*C.sicyoides*

Tecnécio-99m.....^{99m}Tc

Cloreto estanhoso.....SnCl₂

Pertecnetato de sódio^{99m}TcO₄Na

Molibdênio.....MO⁹⁹

Células sanguíneas.....C

Plasma.....P

Ácido tricloro acético.....TCA

Frações solúveis da célula.....FSC

Frações insolúveis da célula.....FIC

Frações solúveis do plasma.....FSP

Frações insolúveis do plasma.....FIP

Percentual de radioatividade.....%ATI

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação foi estruturada sob a forma de artigos científicos para serem enviados a revistas especializadas na área de Farmacologia. Para tal, foram utilizados e explorados bancos de dados disponíveis em rede (on line), além de revistas impressas e livros didáticos. Foram escritos dois artigos: o primeiro constitui uma pesquisa intitulada **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E DA TOXICIDADE AGUDA DO EXTRATO AQUOSO DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL)**, a ser encaminhado à revista Journal of Ethnopharmacology. Diversas utilizações atribuídas ao *Cissus sicyoides* e seus efeitos tóxicos, têm sido avaliados através de modelos experimentais. Neste estudo, investigou-se a atividade antiinflamatória e a toxicidade aguda desta planta a fim de confirmar seus efeitos indicados pela medicina popular. O artigo seguinte trata-se de mais uma pesquisa com o *Cissus sicyoides* intitulada **EFEITOS DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL) NA MARCAÇÃO DOS CONSTITUINTES SANGUÍNEOS PELO TECNÉCIO-99M E NA MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS**, a ser encaminhado à revista Acta Cirúrgica Brasileira. O Tecnécio-99m (^{99m}Tc) tem sido o radionuclídeo mais utilizado para procedimentos de diagnóstico na medicina nuclear e os efeitos de diversos produtos naturais na radiomarcagem de elementos sanguíneos e na morfologia das hemácias têm sido estudados por vários pesquisadores, assim como neste trabalho. Quando um medicamento natural ou artificial é capaz de alterar captação do ^{99m}Tc pelos constituintes sanguíneos, as conseqüências são: a possibilidade de erro diagnóstico e/ou a repetição de exames acarretando em aumento de dose de radiação para o paciente, daí a relevância do estudo.

ARTIGO 1

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E DA TOXICIDADE AGUDA DO EXTRATO AQUOSO DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL)

Cristiana Abrantes da Fonte **NEVES***

Geraldo Bosco Lindoso **COUTO****

Maria Teresa Jansem de Almeida **CATANHO*****

* Aluna da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE);

** Prof. Associado do Dep. de Clínica e Odontologia Preventiva da UFPE;

*** Profa. Adjunto do Dep. de Biofísica e Radiobiologia da UFPE

*Cristiana Abrantes da Fonte Neves; Rua Dr. José Maria, 866, apto.1001, Rosarinho, Recife, Pernambuco, Brazil; CEP 52041-010; cafonte@uol.com.br; Phones: 0xx8132428594, 8132410701, 8199638672

RESUMO

Cissus sicyoides L. (Vitaceae) (*C.sicyoides*) é uma planta originária da República Dominicana, com distribuição pantropical e largamente utilizada na medicina popular. Diversas utilizações atribuídas ao *C.sicyoides* têm sido submetidas à avaliação científica através de vários modelos experimentais. O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade aguda e a atividade antiinflamatória do extrato aquoso do *C.sicyoides*. As doses estudadas na investigação da toxicidade aguda (125 a 1000mg/Kg) aplicadas via intraperitoneal não produziram letalidade em camundongos albinos suíços (n=5), assim como não provocaram fenômenos fisiológicos anormais. A avaliação da atividade antiinflamatória, através do modelo de edema de pata induzido por carragenina, em camundongos albinos suíços (n=5), mostrou que todas as doses empregadas (50 a 500mg/Kg) tiveram potencial antiinflamatório estatisticamente significativo, sendo que a dose mais eficaz foi 125mg/Kg a qual reduziu o edema em 66,77% em relação ao grupo controle negativo (solução salina), seguida das doses 50mg/Kg, 500mg/Kg e 250mg/Kg as quais reduziram o edema em 63,08%; 45,07% e 31,01% respectivamente, sendo que o controle positivo (AAS) reduziu em 65,78%. Pôde-se concluir, portanto, que o extrato aquoso do *C.sicyoides* não apresenta toxicidade aguda em doses fisiológicas e possui potencial antiinflamatório.

Palavras-chave: *Cissus sicyoides* L., atividade antiinflamatória, toxicidade aguda

ABSTRACT

Cissus sicyoides L. (Vitaceae) (*C.sicyoides*) is a plant original from the Dominican Republic, with pantropical distribution and wide used in the popular medicine. Diverse uses attributed to the *C.sicyoides* have been submitted to scientific evaluation through many experimental models. The objective of the present study was, therefore, to evaluate the acute toxicity and the anti-inflammatory activity of the watery extract of the *C.sicyoides*. The doses studied in the inquiry of the acute toxicity (125-1000mg/Kg) applied through intraperitoneal had not produced lethality in Swiss albinic mice (n=5), and also had not provoked abnormal physiological phenomena. The evaluation of the antiinflammatory activity, through the model of paw edema induced by carragenine showed that all the utilized doses (50-500mg/Kg) had statistically significant anti-inflammatory potential, being that the dose most efficient was 125mg/Kg which reduced edema in 66,77% in relation to the negative control group (saline solution), followed by the doses 50mg/Kg, 500mg/Kg and 250mg/Kg which had reduced edema in 63,08%; 45.07% and 31.01%, respectively, being that the positive control (AAS) reduced in 65,78%. It could be concluded, therefore, that the watery extract of the *C.sicyoides* does not present acute toxicity in physiological doses and possess anti-inflammatory potential.

Keywords: *Cissus sicyoides* L., antiinflammatory activity, acute toxicity

1 INTRODUÇÃO

Plantas medicinais têm sido utilizadas desde os tempos antigos, no tratamento de muitas enfermidades e, ainda hoje, desempenham um papel importante na saúde da população mundial (Basso et al., 2005).

O *Cissus sicyoides* L. (Vitaceae) (*C.sicyoides*) é uma planta de origem da República Dominicana (Cano e Volpato, 2004), porém, com distribuição pantropical e largamente utilizada na medicina popular como anti-epilético, anti-hipertensivo, anti-térmico (Beltrame et al., 2001), diurético (Toledo, 1983) e antidiabético (Garcia et al., 2000; Abreu et al., 2003, Pepato et al., 2003, Viana et al., 2004). Atividades antiinflamatórias e anti-reumáticas também são atribuídas à planta (Viana et al., 2004). Suas folhas são empregadas externamente contra reumatismo, na cura de abscessos e no tratamento de inflamação muscular (Silva et al., 1992).

Além disso, o extrato aquoso do *C.sicyoides* mostrou efeito vasoconstrictor em anéis aórticos de porcos-da-índia (Garcia et al., 1997). E, antocianinas presentes no seu fruto, podem ser usadas como corante alimentar (Toledo, 1983). Esta planta é popularmente conhecida no Brasil como “insulina vegetal, cipó-puca, bejuco de porra, bejuco caro, anil trepador, bejuco ubi” (Abreu et al., 2003), “cortina japonesa, e uva brava” (Beltrame et al., 2001). Nos extratos obtidos da planta encontram-se aminoácidos, proteínas, alcalóides, flavonóides, saponinas e taninos (Silva et al., 1996).

Diversas utilizações atribuídas ao *C.sicyoides* têm sido submetidas à avaliação científica. Almeida et al. (2006) observaram efeito analgésico central nas doses de 300, 600 e 1000mg/kg, após administração intraperitoneal em camundongos do extrato hidroalcoólico do *C.sicyoides*. Beltrame et al. (2002) ao

investigarem atividades antidiabética e antibacteriana, concluíram que apesar da crença popular, o *C.sicyoides* não afetou a glicemia em ratos diabéticos, porém, dois compostos isolados da parte aérea da planta (β -sitosterol e sitosterol- β -D-glucopiranosídeo) apresentaram fraca atividade antibacteriana. Já Viana et al. (2004) demonstraram efeito anti-lipêmico e anti-glicêmico do extrato aquoso das folhas do *C.sicyoides* e justificaram seu uso no tratamento de diabetes mellitus tipo 2 na medicina alternativa.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antiinflamatória e a toxicidade aguda do extrato aquoso do *C.sicyoides*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Plantas

Partes aéreas do *C.sicyoides* foram coletadas no distrito de Candeias, na cidade de Jaboatão dos Guararapes, no estado de Pernambuco e identificadas por Profa. Marlene Carvalho de Alencar Barbosa. A espécie está localizada no Herbário UFP - Geraldo Mariz do Departamento de Botânica, do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, sob o número 29040.

2.2 Preparo do extrato

As folhas do *C.sicyoides* foram coletadas e pesadas em balança de precisão de 0,0001g, obtendo-se aproximadamente, 37,30g das mesmas. As folhas foram então, lavadas em duas porções distintas de água destilada, para remoção de

resíduos. A solução do extrato foi preparada triturando-se, em liquidificador, 37,30g das folhas do vegetal em 100 mL de água destilada. A solução foi coada, utilizando-se gaze, para uma proveta (solução 100%). A solução 100% foi, então, liofilizada. Em seguida, o extrato liofilizado foi diluído nas diversas concentrações estudadas.

2.3 Animais

Foram utilizados 60 camundongos da linhagem albinos suíços, com idade aproximada de três meses e peso variando entre 20 e 30g, provenientes do Biotério do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12h, privados de alimentação 12h antes dos experimentos e com livre acesso à água. Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (041318/2006-66).

2.4 Determinação da toxicidade aguda (DL50)

A determinação da toxicidade aguda do *C.sicyoides* foi realizada em seis grupos de cinco animais, aos quais foram administradas por via intraperitoneal, 0,5 mL de solução salina a 0,9% em um lote (controle – grupo1) e 0,5mL do extrato aquoso nos demais lotes (grupos experimentais) nas concentrações de 125mg/Kg (grupo 2), 250mg/Kg (grupo 3), 500mg/Kg (grupo 4), 750mg/Kg (grupo 5) e de 1000mg/Kg (grupo 6). Após administração do extrato, os animais foram observados por um período de 4, 24, 48 e 72h, para a avaliação dos sinais e sintomas provocados provavelmente pelo extrato.

2.5 Determinação da atividade antiinflamatória

Para avaliar a atividade antiinflamatória do extrato aquoso do *C.sicyoides*, foram utilizados quatro lotes de cinco animais, para os grupos experimentais e dois lotes, também com cinco animais, para os grupos controle positivo e negativo. Solução de 0,1 mL de carragenina a 1% foi administrada na região subplantar, apenas da pata posterior esquerda de cada animal, a fim de provocar uma reação inflamatória. Após 30 minutos, cada grupo experimental recebeu, por via intraperitoneal, 0,5 mL de concentrações variadas do extrato aquoso de *C.sicyoides* (G1-50mg/Kg, G2-125mg/Kg, G3-250mg/Kg, G4-500mg/Kg) e os grupos controle negativo e positivo receberam 0,5mL de salina a 0,9% (G5) e 250mg/kg do AAS (G6), respectivamente. Após 4 horas, os animais foram anestesiados, sacrificados por inalação de éter e tiveram suas patas posteriores, direita e esquerda, retiradas para pesagem em balança com precisão de 0,0001g. A análise do efeito antiinflamatório foi realizada em função da diferença de peso das patas posteriores, ou seja, de acordo com o percentual de redução do edema da pata esquerda, conforme a técnica proposta por Levy (1969) e utilizada por Srivastava et al. (2003) e Falcão (2006).

2.6 Análise estatística

Os dados foram expressos em médias $\pm$ desvio padrão (D.P) e a significância analisada através do teste T de Student, considerando-se o intervalo de confiança em 95% e $p \leq 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato aquoso do *C.sicyoides*, nas doses estudadas, aplicadas via intraperitoneal, não produziu letalidade nos camundongos albinos suíços, assim como não foi observado fenômeno fisiológico anormal após aplicação do extrato. Estes resultados concordam com o estudo de Silva et al. (1992), que também não observaram letalidade dos animais (camundongos) submetidos ao tratamento com o extrato aquoso do *C.sicyoides*. Entretanto, Garcia et al. (2000), apesar de não terem observado efeito letal após administração oral do extrato seco do *C.sicyoides*, determinaram letalidade em doses suprafisiológicas (2129,14mg/Kg) aplicadas via intraperitoneal de camundongos.

Os resultados da avaliação da atividade antiinflamatória mostraram que em todas as doses estudadas (Gráfico 1), o extrato aquoso do *C.sicyoides* foi capaz de reduzir, significativamente, o edema de pata induzido por carragenina, quando comparado ao grupo controle negativo (sol. salina). Entretanto, foi mais efetivo na dose de 125mg/kg com redução de 66,77% do edema, seguindo-se das doses de 50mg/kg, 500mg/kg e 250mg/kg as quais reduziram o edema, respectivamente em 63,08%; 45,07% e 31,01%, sendo que o controle positivo (AAS) inibiu o edema em 65,78%.

Entretanto, é provável que o extrato aquoso do *C.sicyoides*, objeto deste estudo, possua substâncias, as quais, em doses mais elevadas, diminuam sua ação antiinflamatória, pois, foi observado um efeito dose-resposta negativo, ou seja, os resultados mais significantes foram encontrados em doses mais baixas.

Estes resultados são corroborados pelo estudo de Garcia et al. (2000), os quais observaram efeito antiinflamatório geral e local do extrato seco do *C.sicyoides*. Os autores observaram um efeito mais pronunciado, quando o produto foi administrado via oral e atribuíram este efeito aos esteróides naturais e às geninas presentes no extrato.

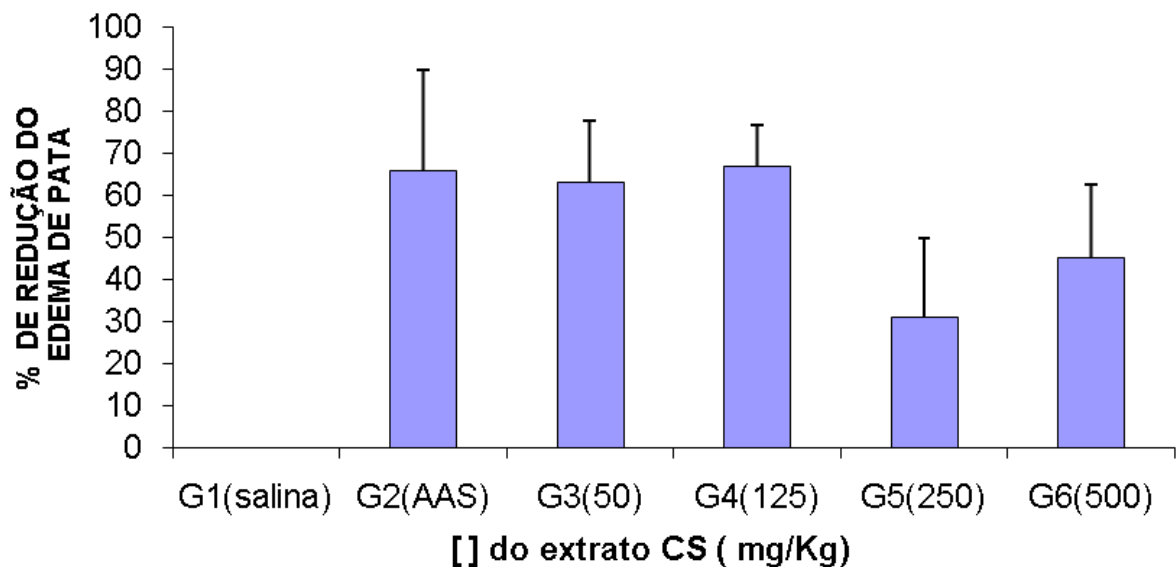


Gráfico.1 – Análise da redução do edema de pata na presença de diferentes concentrações do extrato de *C.sicyoides*.

Vários autores têm investigado o efeito antiinflamatório de produtos sintéticos (Leite et al., 2000; Srivastava et al., 2003; Bezerra et al., 2005, Falcão et al., 2006) e de produtos naturais (Leal et al., 2000; Dutra et al., 2006, Calvo, 2006), utilizando o modelo de edema de pata induzido por carragenina. A carragenina, é um agente que produz inflamação por liberação de prostaglandinas e outros mediadores, é possível, então, que componentes dos produtos estudados estejam interferindo na biossíntese destas substâncias, inibindo, assim, o edema.

Bayeux et al. (2002) e Kupelli et al. (2006) ao estudarem a ação antiinflamatória dos extratos de *C. curassavica* e *M. pomifera*, respectivamente, utilizando o modelo de edema de pata induzido por carragenina, atribuíram provavelmente, os efeitos, aos flavonóides encontrados na planta. Este fato pode explicar os resultados encontrados neste estudo, visto que, os flavonóides estão presentes nos extratos do *C.sicyoides* (Silva et al., 1996).

4 CONCLUSÕES

Em vista dos resultados obtidos, pôde-se concluir que o extrato aquoso do *C.sicyoides* não apresenta toxicidade em doses fisiológicas e, ainda, possui grande potencial em reduzir edema de pata induzido por carragenina, nas menores doses.

REFERÊNCIAS

Abreu, I.N., Pinto, J.E.B.P. Bertolucci, S. K.V., Castro, E.M., 2003. Avaliação de diferentes concentrações de auxinas e tipos de explantes na indução e crescimento de calos de *Cissus sicyoides* L., uma planta medicinal. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 5, 83-89.

Almeida, E.R., Soares, R.P.F., Lucena, F.R., Oliveira, J.R.G., Albuquerque, J.F.C., Couto, G.B.L., 2006. Central antinociceptive effects of *Cissus sicyoides* on mice. *Pharmaceutical Biology* 44 (4),1-5.

Basso LA, da Silva LH, Fett-Neto AG, de Azevedo Jr. WF, Moreira Ide S, Palma MS, Calixto JB, Astolfi Filho S, dos Santos RR, Soares MB, Santos DS 2005. The use of biodiversity as source of new chemical entities against defined molecular targets for treatment of malaria, tuberculosis, and T-cell mediated diseases . A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100, 475-506.

Bayeux, M.C., Fernandes, A.T., Foglio, M.A., Cartvalho, J.E., 2002. Evaluation of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica* DC. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35, 1229-1232.

Beltrame, F.L., Pessini, G.L., Doro, D.L., Dias Filho, B.P.D., Bazotte, R.B., Cortez, D.A.G., 2002. Evaluation of the antidiabetic and antibacterial activity of *Cissus sicyoides*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 45 (1), 21-25.

Beltrame, F. L.; Sartoretto, J. L.; Bazotte, R. B.; Cuman, R. N.; Cortez, D.A.G., 2001. Estudo fitoquímico e avaliação do potencial antidiabético do *Cissus sicyoides* L.(Vitaceae) Quimica Nova, 24 (6), 783-785.

Bezerra, N.M.M., Oliveira, S.P., Srivastava, R.M., Silva, J.R.,2005. Synthesis of 3-aryl-5-decapentyl-1,2,4-oxadiazoles possessing antiinflammatory and antitumor properties. IL Farmaco 60, 955-960.

Calvo, M. I., 2006. Antiinflammatory and analgesic activity of the topical preparation of *Verbena officinalis* L. Journal of Ethnopharmacology 107, 380-382.

Cano J.H., Volpato G.J., 2004. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern of Cuba. Journal of Ethnopharmacology 90, 293-316

Dutra, R.C., Tavares, C.Z., Ferraz, S.O., Sousa, O.V., Pimneta, D.S., 2006. Investigação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato metanólico dos rizomasde *Echinodorus grandiflorus*. Revista Brasileira de Farmacognosia 16(4), 469-474.

Falcão, E.P.S., Melo, S.J., Srivastava, R.M., Catanho, M.T.J.A., Nascimento, S.C.N., 2006. Synthesis and antiinflammatory activity of 4-amino-2-aryl-5-cyano-6-{ 3- and 4-(N-phthalimidophenyl)} pyrimidines. European Journal of Medicinal Chemistry 41, 276-282.

Garcia, MD; Quilez, AM; Saens, MT; Martinez Dominquez, ME; de la Puerta, R., 2000. Anti-inflammatory activity of *Agave intermixta* Trel. and *Cissus sicyoides* L., species used in Caribbean traditional medicine. Journal of Ethnopharmacology 71, 395-400.

Garcia, X., Carta-Heredia, L., Lorenzaba-Jimenez, M., Gijon, E., 1997. Vasoconstrictor effect of *Cissus sicyoides* on guinea-pig aortic rings. Gen Pharmacology 29, 457-462

Kupelli, E., Orhan, I., Toker, G., Yesilada, E., 2006. Antiinflammatory and antinociceptive potencial of *Maclura pomifera* (Rafin.) Scheneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auriculasin. Journal of Ethnopharmacology 107, 169-174.

Leal, L.K.A.M., Ferreira, A.A.G., Bezerra, G.A., Matos, F.J.A., Viana, G.S. B., 2000. Antinociceptive, antiinflammatory and bronchodilator activities of Brazilian medicinal plants containg coumarim: a comparative study. Journal of Ethnopharmacology 70, 151-159.

Leite, A.C.L.; Vieira, R.F., Faria, A.R., Wanderley, A.G., Afiatpour, P., Ximenes, E.C.P.A., Srivastava, R.M., Oliveira, C.F., Medeiros, M.V., Antunes, E., Brondani, D.J., 2000. Synthesis, anti-inflammatory and antimicrobial activities of new 1,2,4-oxadiazoles peptidomimetics. IL Fármaco 55, 719-724.

Levy, L., 1969. Life Science. Part 1. 11, 601-606.

Pepato, M.T., Baviera, A.M., Vendramini, R.C., Perez, M.P., Kettelhut, C., Brunetti, I.L., 2003. *Cissus sicyoides* (princess vine) in the long-term treatment of streptozotocin-diabetic rats. *Biotechnology Appl Biochem* 37(1), 15-50.

Silva, G.A., Araújo, L.C.A., Oga, S., Akisue, G., 1992. Estudo toxicológico e farmacológico dos extratos fluidos de *Cissus sicyoides* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia. Trabalhos originais*, 144-155.

Silva, G.A., Muradian, L.B.A., Akisue, G., Ferro, V.O., 1996. Padrinização dos extratos de *Cissus sicyoides* L. (insulina vegetal) e identificação de carotenos. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 1, 96-112.

Srivastava, R.M., Lima, A.A., Viana, O.S., Silva, M.J.C., Catanho, M.T.J.A., Moraes, J.O.F., 2003. Antiinflammatory property of 3-Aryl-5-(*n*-propyl)-1,2,4-oxadiazoles and antimicrobial property of 3-Aryl-5-(*n*-propyl)-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazoles: their syntheses and spectroscopic study. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 11, 1821-1827.

Toledo M., 1983. Anthocyanins from anil trepador (*Cissus sicyoides*). *Journal of Food Science* 48, 1368-1369.

Viana, S.B., Medeiros, A.C.C., Lacerda, A.M.R., Leal, L.K.A.M., Matos, F.J.A.M., 2004. Hypoglycemic and anti-lipemic effects of the aqueous extract from *Cissus*

sicyoides. BMC Pharmacology. Available at <http://www.biomedcentral.com/1471-2210/4/9>.

ARTIGO 2

EFEITOS DO *Cissus sicyoides* L. (INSULINA VEGETAL) NA MARCAÇÃO DOS CONSTITUINTES SANGUÍNEOS PELO TECNÉCIO-99M E NA MORFOLOGIA DAS HEMÁCIAS

Cristiana Abrantes da Fonte **NEVES***

Geraldo Bosco Lindoso **COUTO****

Maria Teresa Jansem de Almeida **CATANHO*****

* Aluna da Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE);

** Prof. Associado do Dep. de Clínica e Odontologia Preventiva da UFPE

*** Profa. Adjunto do Dep. de Biofísica e Radiobiologia da UFPE

*Cristiana Abrantes da Fonte Neves; Rua Dr. José Maria, 866, apto.1001, Rosarinho, Recife, Pernambuco, Brazil; CEP 52041-010; cafonte@uol.com.br; Phones: 0xx8132428594,81 32419791,8199638672

RESUMO

Objetivo: O *Cissus sicyoides* L.(*C.sicyoides*), uma planta de origem na República Dominicana, é largamente utilizado na medicina popular, principalmente como diurético e antidiabético. Células sanguíneas e proteínas plasmáticas marcadas com Tecnécio-99m (99mTc) têm sido usadas na medicina nuclear na obtenção de diagnóstico por imagem. A influência de fitoterápicos na marcação de constituintes sanguíneos pelo tecnécio é relatada na literatura. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação dos elementos sanguíneos e na morfologia das hemácias.

Metodologia: Amostras de sangue (ratos Wistar) foram incubadas com diversas concentrações do extrato estudado (6,25% a 100,0%) e a marcação dos elementos sanguíneos, bem como, a análise da morfologia das células sanguíneas foram realizadas.

Resultados: Os resultados mostraram que não houve alterações significantes ($p \leq 0,05$) na marcação dos constituintes sanguíneos em nenhuma das concentrações investigadas, porém, a morfologia das hemácias foi visivelmente alterada.

Conclusão: Os dados sugerem que, embora o extrato aquoso do *C.sicyoides* tenha sido capaz de modificar a forma das células do sangue de ratos Wistar, isto não foi suficiente para alterar a captação destas células pelo 99mTc.

PALAVRAS-CHAVE: *Cissus sicyoides* L., hemácias, Tecnécio-99m

ABSTRACT

Purpose: The *Cissus sicyoides* L(*C.sicyoides*), a plant original from the Dominican Republic, is widely used in popular medicine, mainly as diuretic and ant diabetic. Red blood cells and plasmatic proteins marked with Tecnecio-99m (99mTc) have been used in the nuclear medicine in the attainment of diagnosis by image. There are evidences that natural drugs could affect the radiolabeling of red blood cells with 99mTc. The aim of the present study was to evaluate the effect of the watery extract of the *C.sicyoides* on the labeling of blood constituents and in the morphology of the red blood cells.

Methods: Samples of blood (Wistar rats) had been incubated with varied concentrations (6.25% a 100.0%) of the studied extract and the labeling of blood constituents, as well as, the analysis of the morphology of the red blood cells had been carried through.

Results: The results had shown no significant alterations ($p < 0,05$) in the labeling of blood constituent in none of the investigated concentrations, however, the morphology of the red blood cells was visibly modified.

Conclusion: The data suggest that, even so the watery extract of the *C.sicyoides* has been capable of modifying the morphology of the red blood cells of Wistar rats; this was not enough to modify the capititation of these cells by 99mTc.

KEYWORDS: *Cissus sicyoides* L., red blood cells, Tecnecio-99m.

INTRODUÇÃO

Plantas medicinais têm sido utilizadas desde os tempos antigos, no tratamento de muitas enfermidades e, ainda hoje, desempenham um papel importante na saúde da população mundial. Em muitos países desenvolvidos, grande parte da população faz uso de fitoterápicos por razões históricas e culturais, ou ainda, pela crença de que estes medicamentos são altamente efetivos e desenvolvem poucos efeitos colaterais¹. Por outro lado, em países em desenvolvimento 65-80% da população depende, exclusivamente, de plantas medicinais para os cuidados básicos com a saúde². Entretanto, a toxicidade e as interações medicamentosas destes produtos, ainda não são completamente conhecidas³.

Cissus sicyoides L.. (Vitaceae) (*C.sicyoides*) é uma planta originária da República Dominicana, largamente utilizada na medicina popular principalmente como diurético⁴ e antidiabético⁵.

O Tecnécio 99m (99mTc) é o radionuclídeo mais utilizado em procedimentos para diagnóstico na medicina nuclear⁶ por possuir características físicas ótimas (meia-vida de 6h e 140 KeV resultando em mínima dose para o paciente), por ser facilmente disponibilizado através de um gerador 99Mo/99mTc e por não causar impacto ao meio ambiente⁷.

Além disso, células sanguíneas marcadas com 99mTc têm sido largamente utilizadas na medicina clínica nuclear em diversas e importantes aplicações, incluindo imagens do sistema cardiovascular, detecção e localização de hemorragia gastrointestinal, medição do volume das hemácias e imagens do baço^{7,8}. O 99mTc pode ser aplicado por técnica *in vitro*, *in vivo* ou por uma combinação dos dois

métodos de marcação, os quais dependem da presença de um agente redutor, sendo o cloreto estanhoso (SnCl_2) o mais empregado para este propósito^{7,9}.

Os efeitos de diversos produtos naturais na radiomarcagem de elementos sanguíneos têm sido estudados por vários pesquisadores. Alguns extratos herbais como *Bolax gummifera*, *Fucus vesiculosus*, e *Sechium edule*, os quais vêm sendo usados no tratamento de uma variedade de enfermidades, têm sido relatado como capazes de alterar a membrana das hemácias, resultando, conseqüentemente, em uma redução na capacidade de marcação destas células pelo ^{99}Tc ^{8,10,11}. A falta de conhecimento destes fatores é indesejável e as conseqüências são: (i) a possibilidade de erro de diagnóstico (ausência de informações que podem mascarar os sintomas de determinadas doenças) e ou (ii) a repetição de exames acarretando em aumento da dose de radiação para o paciente³.

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro*, os efeitos do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação dos constituintes sanguíneos pelo ^{99}Tc e na morfologia das hemácias.

METODOLOGIA

Plantas

As folhas do *C.sicyoides* foram coletadas no distrito de Candeias, na cidade de Jaboatão dos Guararapes, no estado de Pernambuco e identificadas por Profa. Marlene Carvalho de Alencar Barbosa. A espécie está localizada no Herbário UFP - Geraldo Mariz do Departamento de Botânica, do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, sob o número 29040.

Preparo do extrato

As folhas do *C.sicyoides* foram coletadas e pesadas em balança de precisão de 0,0001, obtendo-se aproximadamente, 37,30g das mesmas. As folhas foram, então, lavadas em duas porções distintas de água destilada para remoção de resíduos. A solução do extrato foi preparada triturando-se, em liquidificador, 37,30g das folhas do vegetal em 100 mL de água destilada. A solução foi coada, utilizando-se gases, para uma proveta (solução 100%). A solução 100% foi liofilizada. O extrato liofilizado foi, então, diluído em diversas concentrações.

Marcação dos elementos sanguíneos

A técnica utilizada tem sido descrita na literatura e foi proposta por Bernardo-Filho et al.¹²

Para este estudo, os animais não foram sacrificados e os modelos experimentais foram realizados seguindo-se os requisitos aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (041318/2006-66).

Os animais foram anestesiados com Thionembutal (ABBOT – Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos) na dose de 50mg/Kg de peso, sendo coletado, por punção cardíaca, 10 mL de sangue de 3 (três) ratos Wistar (3 meses, 200-250g) em seringa descartável contendo anticoagulante Heparina, e colocado em um tubo de ensaio à vácuo. Amostras de 0,5mL de sangue coletado foram distribuídas em seis tubos os quais foram incubados por 60 minutos, com 0,5mL de solução salina (tubo 1-controle) e 0,5 mL de diferentes concentrações do extrato (6,25%, 12,5%,

25%, 50% e 100%) (tubos 2 a 6 – experimentais), respectivamente, à temperatura ambiente. Em seguida foi adicionado 0,1 mL de solução de cloreto estanhoso (SnCl_2 - agente redutor preparado imediatamente antes de ser utilizado) aos tubos, previamente submetidos à vácuo, com a finalidade de facilitar a ligação do ^{99}mTc aos componentes celulares. Sendo adicionado, após uma hora de incubação, 0,1mL de ^{99}mTc (3,7MBq), na forma de pertecnetato de sódio ($^{99}\text{mTcO}_4\text{Na}$) obtido a partir do gerador de Molibdênio (Mo^{99})(IPEN - Instituto de Pesquisa de Energia Nuclear, Comissão Nacional de Energia Nuclear, que foi cedido pelo Departamento de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas - UFPE) a todos os tubos, e, a incubação continuou, nas mesmas condições, por mais dez minutos. Posteriormente, os seis tubos foram centrifugados a 3000 rpm, por 15 minutos, à temperatura em torno de 15 a 20 °C. Então, alíquotas (20 μL) de células sangüíneas (C) e de plasma (P) de cada um dos tubos foram separadas e receberam 1 mL de solução salina 0,9%. Em seguida, novamente alíquotas de C e P (20 μL) de cada um dos seis tubos foram separadas e precipitadas com 1 mL de ácido tricloroacético (TCA 5%) e centrifugadas por mais 5 min. Foram obtidas, portanto, frações solúveis da célula (FSC), frações insolúveis da célula (FIC), frações solúveis do plasma (FSP) e frações insolúveis do plasma (FIP) para cada concentração estudada. Seis tubos contendo C, P, FSC, FIC, FSP, FIP, para todas as concentrações (36 tubos ao todo) foram levados ao contador gama, com a finalidade de avaliar o percentual de fixação do ^{99}mTc sob a influência do extrato estudado.

O percentual de radioatividade (%ATI) em cada fração, foi calculado como descrito previamente^{6, 8,12}. A radioatividade presente nas frações C e P, FIP e FSP e, ainda, FIC e FSC foram divididas, respectivamente, pela radioatividade das frações

P+C, FIP+FSP e FIC+FSC. Os valores obtidos foram multiplicados por 100 e os experimentos repetidos 4 vezes.

Análise morfológica das hemácias

Amostras de sangue foram incubadas com solução salina (0,9%) (grupo controle) e com o extrato aquoso do *C.sicyoides* nas diferentes concentrações estudadas (6,5%, 12,5%, 25%; 50% e 100%) (grupos experimentais) por 1 hora. Em seguida, as lâminas foram preparadas, secas à temperatura ambiente, fixadas com metanol e coradas pelo método Panótico rápido por 10 min. Foram, então, lavadas em água a fim de se remover o excesso de corante, secas à temperatura ambiente e, por fim, observadas através de microscopia ótica comum (100x).

Análise estatística

Os dados foram expressos em médias $\pm$ desvio padrão (D.P) e a significância analisada através do teste T de Student, considerando-se o intervalo de confiança em 95% e $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Marcação das células sanguíneas com ^{99m}Tc

A análise dos resultados indicou que não houve alterações significativas na eficiência de captação do ^{99m}Tc pelas células sanguíneas, pelo plasma nem pelas

proteínas plasmáticas e celulares. No gráfico 1 pode se observar a distribuição de radioatividade em C e em P, tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso do *C.sicyoides*. Os resultados não revelaram alterações significativas quando comparados ao grupo controle, na eficiência de captação do ^{99m}Tc .

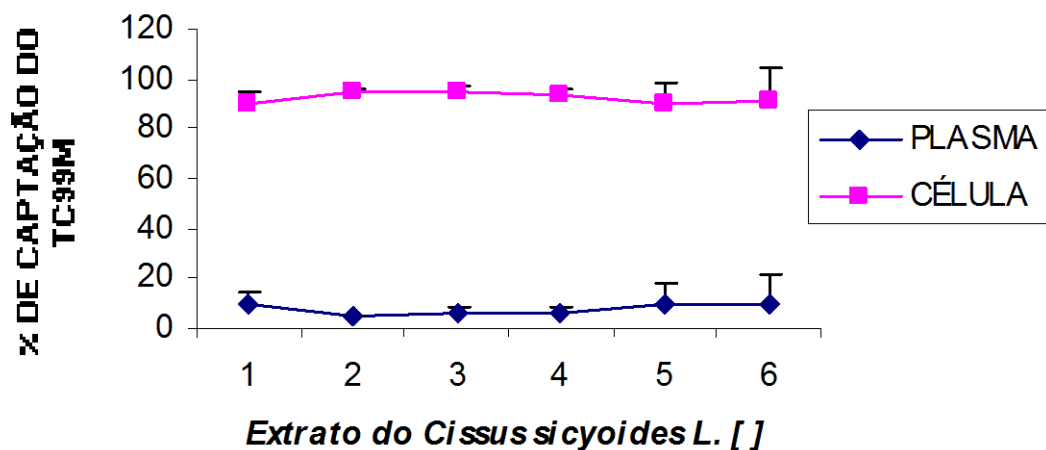


Gráfico 1 – Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação das células sanguíneas (C) e do plasma (P) pelo ^{99m}Tc .

No gráfico 2 observamos a distribuição de radioatividade nas frações solúveis e insolúveis das células (FSC; FIC) tratadas com diferentes concentrações do extrato aquoso do *C.sicyoides* e com TCA a 5% e os resultados indicaram que também não houve diferenças estatisticamente significantes na captação do ^{99m}Tc , pelas proteínas celulares.

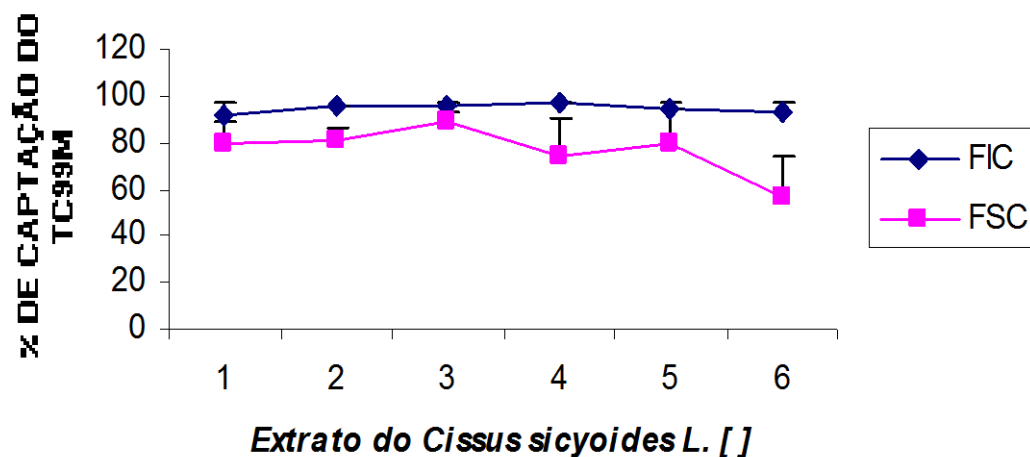


Gráfico 2 – Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação das proteínas celulares - fração solúvel e insolúvel da célula (FSC;FIC) pelo ^{99m}Tc.

No gráfico 3 observa-se as frações solúveis e insolúveis do plasma (FSP; FIP), tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso do *C.sicyoides* e TCA a 5%. Aqui também os resultados não revelaram diferenças estatisticamente significantes na captação do ^{99m}Tc pelas proteínas plasmáticas.

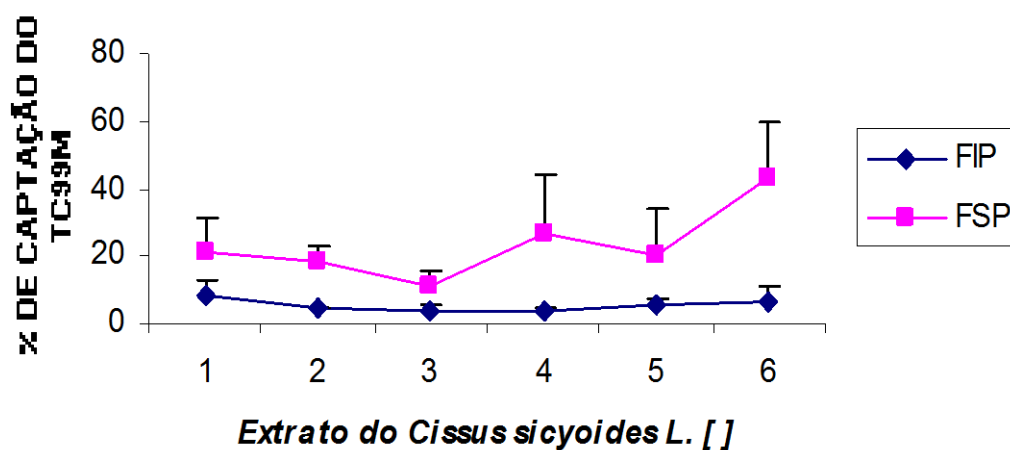


Gráfico 3 - Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na marcação das proteínas celulares - fração solúvel e insolúvel do plasma (FSP;FIP) pelo ^{99m}Tc.

Morfologia das hemácias

Não houve alterações significativas na morfologia das hemácias do grupo controle, as quais foram incubadas com solução salina (0,9% NaCl) (Fig.1A). Por outro lado, a morfologia destas células foi significativamente modificada, quando incubadas em todas as concentrações do extrato aquoso do *C.sicyoides* (6,25%; 12,5%; 25%; 50% e 100%) (Fig.1B-F).

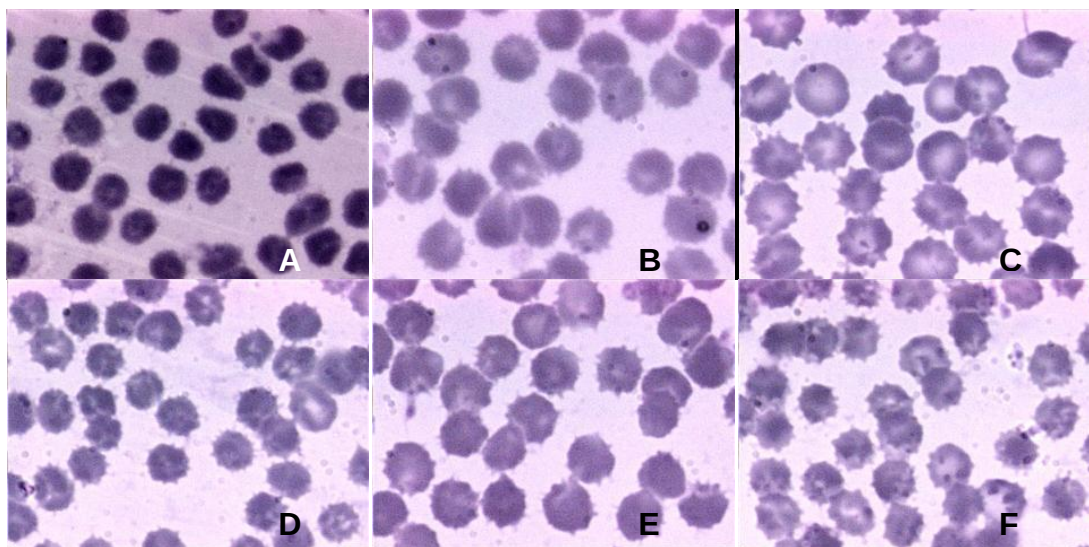


Figura. 1- Efeito do extrato aquoso do *C.sicyoides* na morfologia das hemácias. (A) sol salina; (B-F) extrato aquoso do *C.sicyoides*, respectivamente, a 6,5%; 12,5%; 25,0%; 50,0% e 100,0%.

DISCUSSÃO

Constituintes sanguíneos marcados com ^{99m}Tc têm sido usados na medicina nuclear em diversas aplicações, incluindo imagem do sistema cardiovascular, detecção e localização de hemorragia gastrointestinal, medição do volume celular, imagem do baço^{7,8}.

Agentes químicos, físicos ou biológicos podem interferir no processo de marcação (i) agindo como oxidantes ou quelantes; (ii) alterando a permeabilidade da

membrana das células sanguíneas; (iii) modificando a identidade química do radiofármaco ou (iv) modificando a fisiologia do órgão a ser investigado^{3,7,8}.

Diversos pesquisadores têm estudado a capacidade que plantas medicinais têm em alterar a eficiência de captação do radionuclídeo ^{99m}Tc pelas células sanguíneas, bem como em modificar a morfologia destas células^{3,6,7,8,19,11,13,14,15}.

A alteração morfológica da membrana celular é um dos fatores que pode modificar o processo de captação do ^{99m}Tc , por comprometer o transporte dos íons pertecnetato ($^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$) ou estanho (Sn^{++}) para o interior da célula^{3,7,8}. O extrato aquoso do *C.sicyoides*, bastante utilizado na medicina popular como diurético e antidiabético, e objeto deste estudo, não foi capaz de alterar a captação do ^{99m}Tc pelos constituintes sanguíneos (gráficos. 1, 2 e 3), embora tenha alterado a morfologia das hemácias em todas as concentrações (figura. 1B-F). Estes resultados podem ser explicados com base nos relatos de Mongelli et al.¹⁰ em sua pesquisa com *Bolax gummifera* e Dire et al.⁸ em seu estudo com *Sechium edule*, os quais sugerem que estas plantas têm efeito estabilizante na membrana das células sanguíneas mesmo modificando a morfologia destas células.

Por outro lado, extratos de, *Fucus vesiculosos*, *Mentha Crispa* L., *Piper methysticum*, alteraram a captação do ^{99m}Tc pelos constituintes sanguíneos. Como a fixação do ^{99m}Tc depende da presença de um agente redutor, é possível que estes extratos possuam substâncias oxidantes ou quelantes que interfiram no processo de marcação^{13,11}. Outra possibilidade pode ser a alteração no sistema de transporte dos íons Sn^{++} e $^{99m}\text{TcO}_4\text{Na}$, através da membrana das células sanguíneas quando a morfologia destas células foi modificada pelo extrato.

Já outras plantas, tais como, *Peumus boldus* e *Pfaffia sp* não alteraram a marcação dos constituintes sanguíneos nem modificaram a morfologia das hemácias, quando estudadas por Reiniger et al.¹⁴ e Fernandes et al.¹⁵

CONCLUSÃO

O extrato aquoso do *C.sicyoides* não foi capaz de alterar a captação dos constituintes sanguíneos pelo 99mTc, embora tenha modificado a morfologia das hemácias em todas as concentrações.

REFERÊNCIAS

- 1 Kam PCA, Liew S. Traditional Chinese herbal medicine and anesthesia. *Anesthesia* 2000; 57: 1083-9.
- 2 WORLD HEALTH ORGANIZATION. Monographs on selected medicinal plants 1999; 1.
- 3 Bernardo-Filho M, Santos-Filho SD, Moura EG, Maiworm AI, Orlando MMC, Penas ME, Cardoso VN, Bernardo LC, Brito LC. Drug Interaction with Radiopharmaceuticals: a Review *Braz Arch Biol and Tech* 2005; 48, Special : 13-27.
- 4 Toledo M. Anthocyanins from anil trepador (*Cissus sicyoides*). *J of Food Sci* 1983; 48:1368-9.

5 Garcia MD, Quilez AM, Saens MT, Martinez Dominquez ME, de la Puerta R. Anti-inflammatory activity of *Agave intermixta* Trel. and *Cissus sicyoides* L., species used in Caribbean traditional medicine. J of Ethnopharmacol 2000;71: 395-400.

6 Dantas ALA, Valente LMM, Morais LAS, Feliciano G, Bernardo-Filho M. *In Vitro* Study of *Vellozia pusilla* Pohl (Velloziaceae), a Brazilian Plant Species: Antitumoral Activity and Labeling of Blood Elements. Braz Arch Bio Tech 2005; 48 Special: 57-61.

7 Braga ACS, Oliveira MBN, Feliciano GD, Reiniger IW, Oliveira JF, Silva CR Bernardo-Filho M. The Effect of Drugs on the Labeling of Blood Elements with Technetium-99m. Curr. Pharmaceutical Des 2000; 6:1179-91

8 Dire G, Lima E, Gomes M, Bernardo-Filho M. In vitro assessment of the effects of a Chayotte (*Sechium edule*) extract (decoct) on the Morphology of Red Blood Cells and on the Labeling of Blood Elements with Technetium-99m. World J Nucl Med 2005; 4:191-5.

9 Kuehne R, Reuter E. High RBC. Labeling efficiency by controlling pretinning with the modified *in vivo*, *in vitro* labeling method. J Nucl Biol Med Technol 1999; 27: 222-6.

10 Mongelli E, Desmarchelier C, Coussio J, Ciccio G. Biological studies of *Bolax gummifera*, a plant of the Falkland Islands used as a treatment of wounds. J Ethnopharmacol 1997; 56: 117-21.

11 Oliveira JF, Oliveira MB, Avila AS. 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 2003; 41: 15-20.

12 Bernardo-Filho M, Moura INS, Boasquevisque EM. 99mtechnetium-labeled red blood cells "in vitro". Arch Biol Technol 1983; 26: 455-61.

13 Santos-Filho SD, Ribeiro CK, Dire GF et al. Morphological Alterations on Red Blood Cells Labeled with Technetium-99m: the Effect of *Mentha crispa* L. (Hortela) and *Piper methysticum* (Kava Kava) Extracts. Technetium, Rhenium and Other Metals in Chemistry and Nuclear Medicine, SG Editoriali, Padova 6: 503-505.

14 Reiniger IW, Oliveira JF, Araujo AC, Bernardo-Filho M. Effect of *Peumus boldus* on the labeling of red blood cells and plasma proteins with technetium-99m. Appl Rad Isotopes 1999; 51:145-149.

15 Fernandes JFO, Brito LC, Frydman JNG, Santos-Filho S, Bernardo-Filho M. An aqueous extract of *Pfaffia* sp. does not alter the labeling of blood constituents with technetium-99m and the morphology of the red blood cells. Braz J Pharmacog 2005; 15: 126-32

ANEXO - 1

NORMAS DA REVISTA JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY

I. Scope of the journal

The *Journal of Ethnopharmacology* is dedicated to the exchange of information and understandings about people's use of plants, fungi, animals, microorganisms and minerals and their biological and pharmacological effects based on the principles established through international conventions. Early people, confronted with illness and disease, discovered a wealth of useful therapeutic agents in the plant and animal kingdoms. The empirical knowledge of these medicinal substances and their toxic potential was passed on by oral tradition and sometimes recorded in herbals and other texts on *materia medica*. Many valuable drugs of today (e.g., atropine, ephedrine, tubocurarine, digoxin, reserpine) came into use through the study of indigenous remedies. Chemists continue to use plant-derived drugs (e.g., morphine, taxol, physostigmine, quinidine, emetine) as prototypes in their attempts to develop more effective and less toxic medicinals.

In recent years the preservation of local knowledge, the promotion of indigenous medical systems in primary health care, and the conservation of biodiversity have become even more of a concern to all scientists working at the interface of social and natural sciences but especially to ethnopharmacologists. Recognizing the sovereign rights of States over their natural resources, ethnopharmacologists are particularly concerned with local people's rights to further use and develop their autochthonous resources.

Accordingly, today's Ethnopharmacological research embraces the multidisciplinary effort in the documentation of indigenous medical knowledge, scientific study of indigenous medicines in order to contribute in the long-run to improved health care in the regions of study, as well as search for pharmacologically unique principles from existing indigenous remedies.

The *Journal of Ethnopharmacology* publishes original articles concerned with the observation and experimental investigation of the biological activities of plant and animal substances used in the traditional medicine of past and present cultures. The journal will particularly welcome interdisciplinary papers with an **ethnopharmacological**, an **ethnobotanical** or an **ethnochemical** approach to the study of indigenous drugs. Reports of **anthropological** and **ethnobotanical** field studies fall within the journal's scope. Studies involving **pharmacological** and **toxicological** mechanisms of action are especially welcome. **Clinical studies** on efficacy will be considered if contributing to the understanding of specific ethnopharmacological problems.

The journal welcomes review articles in the above mentioned fields especially those highlighting the multi-disciplinary nature of ethnopharmacology. Commentaries are by invitation only. All reviews and commentaries are fully peer-reviewed. Potential authors are strongly encouraged to contact the Reviews Editor jethnopharmacol@pharmacy.ac.uk prior to writing a review. A one-page outline and a short C.V. of the (senior) author should also be included.

THE "RULES OF 5"

The Editors and Editorial Board have developed the "Rules of 5" for publishing in JEP. We have produced five clear criteria that each author needs to think about before submitting a manuscript and setting the whole process of editing and reviewing at work.

II. Preparation of manuscripts

Authors who want to submit a manuscript should consult and peruse carefully recent issues of the journal for format and style. Authors must include the following contact details on the title page of their submitted manuscript: full postal address; fax; e-mail. All manuscripts submitted are subject to peer review. The minimum requirements for a manuscript to qualify for peer review are that it has been prepared by strictly following the format and style of the journal as mentioned, that it is written in good English, and that it is complete. Manuscripts that have not fulfilled these requirements will be returned to the author(s).

Contributions are accepted on the understanding that the authors have obtained the necessary authority for publication. Submission of multi-authored manuscripts implies the consent of each of the authors. The publisher will assume that the senior or corresponding author has specifically obtained the approval of all other co-authors to submit the article to this journal. Submission of an article is understood to imply that it is not being considered for publication elsewhere and that the author(s) permission to publish his/her article in this journal implies the exclusive authorization to the publisher to deal with all issues concerning copyright therein. Further information on copyright can be found on the Elsevier website.

In the covering letter, the author must also declare that the study was performed according to the international, national and institutional rules considering animal experiments, clinical studies and biodiversity rights. See below

for further information. The ethnopharmacological importance of the study must also be explained in the cover letter.

Animal and clinical studies - Investigations using experimental animals must state in the Methods section that the research was conducted in accordance with the internationally accepted principles for laboratory animal use and care as found in for example the European Community guidelines (EEC Directive of 1986; 86/609/EEC) or the US guidelines (NIH publication #85-23, revised in 1985). Investigations with human subjects must state in the Methods section that the research followed guidelines of the Declaration of Helsinki and Tokyo for humans, and was approved by the institutional human experimentation committee or equivalent, and that informed consent was obtained. The Editors will reject papers if there is any doubt about the suitability of the animal or human procedures used.

Biodiversity rights - Each country has its own rights on its biodiversity. Consequently for studying plants one needs to follow the international, national and institutional rules concerning the biodiversity rights.

1. Manuscript types

The *Journal of Ethnopharmacology* will accept the following contributions:

1. Original research articles - whose length is not limited and should include Title, Abstract, Methods and Materials, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements and References. As a guideline, a full length paper normally occupies no more than 10 printed pages of the journal, including tables and illustrations
2. Ethnopharmacological communications (formerly Short Communications) - whose average length is not more than 4 pages in print (approx. 2000-2300 words, including abstract and references). A maximum of 2 illustrations (figures or tables) is allowed. See paragraph below for description and format.
3. Letters to the Editors;
4. Reviews - Authors intending to write review articles should consult and send an outline to the Reviews Editor (see inside front cover for contact information) before preparing their manuscripts. The organization and subdivision of review articles can be arranged at the author's discretion. Authors should keep in mind that a good review sets the trend and direction of future research on the subject matter being reviewed. Tables, figures and references are to be arranged in the same way as research articles in the journal. Reviews on topics that address cutting-edge problems are particularly welcome.
5. Book reviews - Books for review should be sent to the Reviews Editor.
6. Commentaries - *invited*, peer-reviewed, critical discussion about crucial aspects of the field but most importantly methodological and conceptual-theoretical developments in the field and should also provide a standard, for example, for pharmacological methods to be used in papers in the *Journal of Ethnopharmacology*. The scientific dialogue differs greatly in the social / cultural and natural sciences, the discussions about the common foundations of the field are ongoing and the papers published should contribute to a transdisciplinary and multidisciplinary discussion. The length should be a maximum of 2-3 printed pages or 2500 words. Please contact the Reviews Editor j.ethnopharmacol@pharmacy.ac.uk with an outline.
7. Conference announcements and news.

2. General procedures

The language of the Journal is English. Manuscripts should be neatly typed, double-spaced throughout, including tables, on pages of uniform size with at least 2.5 cm margins on all sides. Use one font type and size throughout the manuscript. Author(s) should not break or hyphenate words. When using an electronic printer, the right-hand margin should not be justified. Footnotes in text are not permitted. The text of the manuscript must be paginated, the first page being the title page. The manuscript, typed with double spacing and ample margins, should be submitted with a cover letter (containing the declaration that the study was performed according to the international, national and institutional rules considering animal experiments, clinical studies and biodiversity rights and a clear explanation of the ethnopharmacological importance of the study) and a completed Author Checklist.

The following format and order of presentation is suggested.

2.1. Title, author(s), address(es)

The title should be no longer than 100 letters, including spaces. Initials or first and middle names followed by last name of the author or authors must be given (**not** last name followed by initials). If there are two or more authors with different addresses, use a superscripted letter (a, b, c etc.), not a number, at the end of the last name of each

author to indicate his/her corresponding address. The full address of the corresponding author (the way the author wishes to be contacted) should be provided. The corresponding (usually, the senior) author, to whom correspondence and proofs will be sent, must be indicated by an asterisk and footnoted, and in the footnote, his/her telephone and fax numbers, and e-mail address must be indicated. Address(es) should be underlined or italicised.

2.2. Abstract

The abstract should be structured with five sub-headings: Ethnopharmacological relevance; Aim of the Study; Materials and Methods; Results; Conclusions. The text should not exceed 200 words and has to be presented at the beginning of the paper. Unsubstantiated speculation should not be included. Footnotes may not be used. References, if cited, must provide complete publication data.

2.3. Text layout

The text of a research paper should be divided into the following headings: Introduction, Methodology (or Materials and Methods), Results, and Discussion and conclusions. Each heading (and subheading) must be numbered using the convention established in the journal. Acknowledgements should come after Discussion and conclusions and before References; Acknowledgements and References are not to be numbered. Headings must be bold-faced and written in an upper-and-lower case style [not in caps], while subheadings should be underlined or italicised. Tables and figures are to be placed at the end of the text, after References. Authors are required to include: (i) the chemical structure, formula and proprietary name of novel or ill-defined compounds; (ii) the w/w yield of prepared extracts in terms of starting crude material; (iii) complete formulation details of all crude drug mixtures; (iv) the voucher herbarium specimen number of the plant(s) studied in case of less well known plants, cited using the collector and collection number (e.g., Doe 123), and indicating the name of the herbarium institution where it has been deposited. All plant materials must be fully identified as in the following illustration: *Catharanthus roseus* (L.) G. Don f. *albus* Pich. (Apocynaceae) as authenticated by Dr. John Doe, Department of Botany, University of Connecticut.

2.4. Guidelines for Plant and Animal Names

All scientific names (Latin binomials) must be underlined or italicised throughout the text and in the tables and figures. For plant and animal species, full or complete scientific names, genus-species and the correct authority citation, must be used, *when that name appears for the first time in text*. The authority citation may be dropped in subsequent mention of that name throughout the text. The family name must follow the scientific name in parentheses when the name appears for the first time in the text. Full scientific names and the family name of the subject plants/animals must be used in the Abstract. Synonyms must be indicated in parentheses and preceded by the word "syn." followed by a colon. Authors are advised to consult the International Plant Name Index (IPNI) (<http://www.ipni.org>) and W3Tropicos (<http://www.mobot.org>) web-based databases to determine the correct spelling of full plant scientific names. Generic names may be abbreviated (e.g., *C. roseus* for *Catharanthus roseus*), provided such practice does not lead to confusion; generic names, however, must not be abbreviated when the name appears for the first time in the text. Specific epithets must never be abbreviated; thus, the use of *Catharanthus r.* is not allowed.

2.5. Keywords

Authors are requested to assign 3-6 keywords to the manuscript, preferably taken from Index Medicus or Excerpta Medica Index, for abstracting and indexing purposes. These keywords should be typed at the end of the Abstract. Each keyword should start with a capital letter and be separated from each other by a semi-colon.

2.6. Tables, illustrations and graphs

Tables should be on separate sheets, one table per sheet, and should bear a short descriptive title. Footnotes in tables should be indicated by consecutive superscript letters, not numbers.

Figures should be original ink drawings, photographs or computer drawn figures in the original, and of high quality, ready for direct reproduction. Xerox copies are unacceptable as they give unsatisfactory results after final printing. Figures should be drawn in such a way that they can be reduced to **8 cm** in width (i.e., the column width); in exceptional cases a reduction to a width of **17.5 cm** will be allowed. All lettering should be such that height of **1.2-1.5mm (minimum)** of numbers and capital letters results after reduction. Numerical scales, scale and curve legends, and all other lettering within the figure itself should be drawn with a lettering guide (stencil) or should be done using stripleters (Letraset, etc). All figures should have captions. Each figure should be identified in the margin or at the back in a corner with the name of the author and the figure number. The figure captions should be on a separate sheet. One set of original drawings is required.

Colour illustrations should be submitted as original photographs, high-quality computer prints or transparencies, close to the size expected in publication, or as 35 mm slides. Polaroid colour prints are not suitable. If, together

with your accepted article, you submit usable colour figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. For colour reproduction in print, you will receive information regarding the total cost from Elsevier after receipt of your accepted article. The 2006 price for color figures is EUR 285 for the first page and EUR 191 for subsequent pages.

For further information on the preparation of electronic artwork, please see  <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting colour figures to 'grey scale' (for the printed version should you not opt for colour in print) please submit in addition usable black and white prints corresponding to all the colour illustrations.

2.7. References

References should be referred to by name and year (Harvard system) chronologically in the text (e.g.: Brown and Penry, 1973; Stuart, 1979; Ageel et al., 1987) and listed alphabetically at the end of the paper. No ampersand should be used and the words "et al." should not be underlined or italicized. Only papers and books that have been published or in press may be cited. For papers in press, please cite the DOI article identifier. The Digital Object Identifier (DOI) is a persistent identifier which may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The DOI will never change. Therefore, it is an ideal medium for citing Articles in Press, which have not yet received their full bibliographic information. *Unpublished manuscripts or manuscripts submitted to a journal but which have not been accepted may not be cited.* Journal and book titles should not be underlined or italicised and should be given in full in the reference list, with no underline or italics.

Examples:

Journals:

Britton, E.B., 1984. A pointer to a new hallucinogen of insect origin. *Journal of Ethnopharmacology* 12, 331-333.

Books: Emboden, W., 1972. *Narcotic Plants*. Studio Vista, London, p. 24.

Multiauthor Books:

Farnsworth, N.R., 1988. Screening plants for new medicines. In: E.O. Wilson and F.M. Peter (Eds.), *Biodiversity*, National Academy Press, Washington, D.C., pp. 83-97.

Ethnopharmacological Communications (formerly short communications) are brief contributions on:

- isolation of biological active compound(s) from a traditional medicine,
- screening of a series traditional medicines for biological activity,
- study on a pharmacological activity of a traditional medicine,
- study on the toxicology of a traditional medicine.

Articles in Special Issues: Please ensure that the words 'this issue' are added (in the list and text) to any references to other articles in this Special Issue.

III. Submission

All manuscripts (except reviews, commentaries and book reviews) must be submitted to  <http://www.elsevier.com/journals>

Each Submission must include a cover letter (containing the declaration that the study was performed according to the international, national and institutional rules considering animal experiments, clinical studies and biodiversity rights and a clear explanation of the ethnopharmacological importance of the study) and a completed Author Checklist.

If an author cannot submit their manuscript electronically, then please send to:

Professor Dr R. Verpoorte
Editor-in-Chief, *Journal of Ethnopharmacology*
Division of Pharmacognosy
Institute of Biology
Leiden University
P.O. Box 9502
2300 RA Leiden
The Netherlands

IV. Copyright regulations for authors

Upon acceptance of an article, authors will be asked to sign a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail (or letter) will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

V. Authors' rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

VI. Correcting proofs and reprints

Proofs will be sent to the corresponding author. Elsevier is now sending PDF proofs by e-mail for correction. If an author is unable to handle this process, regular print proofs will be sent. Elsevier will do everything possible to get the article corrected and published as quickly and accurately as possible. Therefore, it is important to ensure that all corrections are sent back in ONE communication. Subsequent corrections will not be possible. Only typesetting errors may be corrected; no changes in, or additions to, the accepted manuscript will be allowed. Proofs should be returned to Elsevier within 48 hours. Twenty-five offprints of each paper will be supplied free of charge to the corresponding author. Additional offprints can be ordered at prices shown on the offprint order form that accompanies the copyright form.

VII. Language Services

Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/locate/languagepolishing> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

VIII. Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

IX. Author enquiries

For enquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit this journal's homepage at <http://www.elsevier.com/locate/jethpharm>. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle> and set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed. Also accessible from here is information on copyright, frequently asked questions and more.

ANEXO - 2

NORMAS DA REVISTA ACTA CIRÚRGICA BRASILEIRA

Scope and policy

Author/Co-author are considered to be those who has substantive intellectual and scientific contributions to published study. The main author is the responsible for the integrity of the work as a whole and must inform about the contributions of each person named as having participated in a submitted study. Contributors who not meet the criteria for authorship should be listed in an acknowledgments section (Ex.: Persons who provided purely technical help or general support).

The author(s) must transfer, assign, or otherwise convey all copyright to Acta Cirurgica Brasileira. This statement must be sent in a separate letter to the editor together with the paper and must be signed by all authors. Submissions received without a signed copyright statement will not be acceptable. The first author is responsible for ensuring that all authors have seen, approved and are fully conversant with its contents.

Editor-in-Chief has full authority over the editorial content of the journal

Secondary publication in another language, especially in other countries, is justifiable, and can be beneficial, provided all the recommendations of **ICMJE**. Editors of different journals may decide to jointly publish an article if they believe that would be in the best interest of the public, in the same or another language, especially in other countries.

Supplements can serve useful purposes and improve cooperation between academic and corporate entities. The journal editor must retain the authority to send supplement manuscripts for external peer review and to reject manuscripts submitted for the supplement.

It is important to distinguish between ordinary editorial pages and supplement pages, in references.

Acta Cirúrgica Brasileira is a peer-reviewed journal. Articles are submitted for review by experts who are not part of the editorial staff. The editor is aware of reviewers' conflicts.

The journal has a national and international boards of consultants. Each manuscript is read by the Editor and one of the Associate Editor. Together, they decide whether to send the paper to outside reviewers. Rejected manuscripts are returned to authors.

Authors must be affiliated to the Brazilian Society for Development of Research in Surgery - SOBRADPEC.

Manuscript preparation

Manuscript must be delivered in CD or by e-mail to the editor, written in English language.

Organizing electronic manuscript

First page

The title page must contain: a) the title of the article (in English and in Portuguese), which should be concise but informative. Insert the number one superscript indicating in the footnote the place of research; b) full name of all the authors with the sequence number superscript indicating in the footnote the highest academic degree(s) with the name of department(s) and institution(s) to which the work should be attributed. See examples in the journal.

ABSTRACT

Must not exceed 200 words and should be presented in a structured format:

Purpose: The main aim of the study or investigation.

Methods: Selection of subjects (patients or experimental animals);

Basic procedures.

Results: Main findings (giving specific data and their statistical significance).

Conclusion: state the main answer concerning the purpose of the study.

Key words: should be provided based on Medical Subject Headings - Mesh (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>).

Authors must include an abstract in Portuguese (**Resumo**), with the key words (**Descritores**) based on *Descritores de Ciências da Saúde* (DeCS) - <http://www.bireme.br>

PREPARATION OF THE ARTICLE

Introduction

Clearly state the subject and the purpose of the study. Give only pertinent citations, and do not review the subject extensively.

Methods

Describe your selection of the observational or experimental subjects (patients or laboratory animals, including controls) clearly (quantity and quality). Identify all procedures in sufficient detail to allow others workers to reproduce the results.

ETHICS

When reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures were in accord with the Ethical Committee on Human Experimentation of the Institution in which the experiments were done or in accord with the Helsinki Declaration of 1975 as revised in 2000 [*World Medical Association* (www.wma.net/e/policy/b3.htm) and 196/96 Resolution of the *Brazilian National Council of Health* (http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/reso_96.htm)].

Patients have a right to privacy that should not be infringed without informed consent. Obligation to register clinical trials in a public trials registry established by the World Health Organization. Identification number at the end of abstract [CONSORT - *Consolidated Standards of Reporting Trials* (www.consort-statement.org) and *International Clinical Trials Registry Platform* (ICTRP)].

When reporting experiments on animals, indicate that the use of laboratory animals follow the Council for International Organization of Medical Sciences (CIOMS) ethical code for animal experimentation (WHO Chronicle 1985; 39(2):51-6) and the principles of the Brazilian College on Animal Experimentation (www.cobea.org.br).

The journal reserves the right not to accept an article on the grounds that appropriate ethical or experimental standards have not been reached.

Identify precisely all drugs and chemicals used, **including generic name(s)**, dosage(s), and route(s) of administration. **Avoid commercial terms.** Do not use patient's names, initials, or hospital numbers. Describe statistical procedures with enough detail to enable a knowledgeable reader with access to the original data to verify the reported results. Authors are responsible for the accuracy of their report including all statistical calculations and drug doses.

Results

Present the results in logical sequence in the text, using table and illustrations. Do not repeat in the text, all the data in the tables and/or illustrations. In the text, emphasize or summarize only important findings. Include the statistical significance of the findings.

Tables are numbered in sequence (use arabic numerals), and supply a brief title for each at **the top**. Use only approved abbreviations. Explain in footnotes all nonstandards abbreviations that are used in each table. Figures are also numbered in sequence (use arabic numerals). The legends must be **in the bottom** of the figure.

Discussion

Emphasize the new and important aspect of the study. Compare the method and the results with those formerly published. DO NOT REPEAT RESULTS.

Conclusion

Must be clear and concise. Link the conclusion with the goals of the study. AVOID CONCLUSIONS NOT SUPPORTED ON DATA.

References

The journal follow the Vancouver style:

UNIFORM REQUIREMENTS FOR MANUSCRIPTS SUBMITTED TO BIOMEDICAL JOURNALS of the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org /October 2007).

All references should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned by superscript in the text.

List all the authors, "**et al**" is not accepted.

The article must have at a maximum of 15 references, except review articles that 30 references are allowed.

References to abstracts, personal communications and books is discouraged. Books are not indexed. Reference to unpublished communications will not be accepted.

Abbreviations of journals should conform to those used in *Index Medicus* and *National Library of Medicine's Citing Medicine*,.

Examples of references are given below:

Journal article

List all authors

Goldenberg A, Romeo ACDCB, Moreira MB, Apodaca FR, Linhares MM, Matone J. Acta Cir Bras. 2007 Sept;22(5):366-71.

Books

Goldenberg S, Bevilacqua RG. Bases da cirurgia. São Paulo: EPU; 1981. 302p.

Chapter in a book

Decourt LV. Endocardites bacterianas. In: Veronesi R. Doenças infecciosas e parasitárias. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1964. p 290-308.

Thesis

Goldenberg A. Efeitos das ondas de choque no fígado de ratos [Doutorado]. Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina; 1991.120 p.

Acknowledgments

Acknowledge only persons who have made substantial contributions to the study. Authors are responsible for obtaining written permission from everyone acknowledged by name because readers may infer their endorsement of the data and conclusions.

PROCEDURES OF THE JOURNAL

- 1 - The article will be examined to verify whether it complies with the journal's instructions; Manuscripts that do not conform to the requirements and style of the journal will be returned for recasting;
- 2 - The article will be submitted to peer-review for analysis and approval, in addition to approval by the Editors;
- 3 - After approval, the manuscript will be published according to the date of submission. The Editors retain the right to alter style and shorten material for publication.

Correspondence:

Name, address

Phone/Fax, e-mail of author.

ANEXO - 3

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Ofício nº 49/07

Recife, 05 de junho de 2007

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFPE
Para: **Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto**
Departamento de Clínica e Odontologia Preventiva - UFPE
Processo nº 041318/2006-66

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEAA-UFPE) avaliaram a resposta de V. Sa. referente ao primeiro parecer da CEEAA sobre o projeto de pesquisa intitulado **“Avaliação da atividade antiinflamatória do *Cissus sicyoides* (BEJUCO CARO) e da captação do ^{99m}TC no sangue sob a ação do seu extrato aquoso”**.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEAA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.

Atenciosamente,


Prof. Silene Carneiro do Nascimento
Sub-Chefe do Depto. de Antibióticos
UFPE