

resposta partir da dose de 2000 cGy. Para visualizar as possíveis mudanças morfológicas ocorridas nas CMLL recorreu-se a microscopia eletrônica de transmissão, onde houve um aumento notório de lisossomas com doses a partir de 2000cGy Fabris(1992) e A.H.Whyll(1993).

Conclusão: A radiação ionizante produz alterações morfológicas e funcionais nas CMLL. Auxílio recebido para este projeto foi do CNPQ.

29.004

EFETOS PRODUZIDOS PELA INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE CULTURA DE CÉLULAS DA CAMADA LONGITUDINAL DE MÚSCULO LISO DO ÍLEO DE COBAIA. França, J.P.¹; Ferreira, A.T.¹; Giordani, A.⁴; Percario, S.²; Pinhal, M.A.S.³; Segreto, H.R.C.S.⁴; Segreto, R.A.¹ Depto. de Biofísica, UNIFESP - EPM, C.P. 20338, Sta. Casa de Misericórdia de SP, ³Depto. de Bioquímica da UNIFESP, ⁴Depto de Radioterapia da UNIFESP.

Objetivos: Avaliar o efeito direto e indireto da radiação gama através: da resposta fisiológica para os níveis de sódio e cálcio para agonistas como AIII e Ach; das alterações na matriz lipídica pela formação de canais de gramicidina; da quantidade de MDA (malondialdeído) produzido pela peroxidação de fosfolipídico de membrana; da Curva de crescimento e sobrevivência das culturas de células exposta a radiação ionizante.

Métodos e Resultados: cultura de células musculares lisas da camada longitudinal de íleo de cobaia foram irradiadas com uma taxa de dose de 1,24 cgy/min de uma fonte de cobalto-60, com doses variando de 250 a 5000 cgy e comparadas com células controle (não irradiadas). Os radicais livres foram indiretamente determinados através da técnica de fotometria, pela dosagem de MDA cuja concentração relacionada com o número de células indicou uma razão constante superior a 100% para dose de radiação gama máxima. O número de células mortas ou inviáveis, para uma determinada dose de radiação, foi determinado utilizando o corante "Triplan Blue" e por fotometria utilizando o Brometo de etídeo, onde os resultados demonstraram um número crescente de células inviáveis para doses proporcionalmente maiores. Foi assim possível avaliar a curva de crescimento e mortalidade das células irradiadas que diferenciou das células controle. Os níveis de cálcio e sódio foram medidos através da técnica de fluorimetria utilizando-se como indicadores fluorescentes o fura-2 e o SBF1, respectivamente. Agonistas como Acetilcolina e Angiotensina II apresentaram uma diminuição de 37% em suas respostas para células irradiadas, dependendo das doses de exposição à radiação. Alterações na bicamada lipídica foram determinadas verificando-se dois fatos importantes: as alterações na membrana celular foram proporcionais à dose de radiação, onde a dose de efeito biológico máximo (1250cgy) determinado foi a mesma encontrada na curva de sobrevivência das células à radiação ionizante, e observou-se principalmente o efeito de inversão de dose para doses proporcionalmente maiores. Apoio financeiro CNPq.

29.005

EFEITO DA RADIAÇÃO IONIZANTE EM LINFÓCITOS SANGÜÍNEOS PERIFÉRICOS, da Silva, M.A.**; Lemes, M.** & dos Santos, O.R. Supervisão de Radiobiologia IPEN-CNEN/SP. **Objetivos:** O presente projeto tem por finalidade a elaboração de curvas dose-resposta para ⁶⁰Co e ¹³⁷Cs dada a necessidade da existência de um sistema que forneça uma avaliação de dose e para que se possa estimar o dano produzido pela radiação em indivíduos acidentalmente expostos. O estudo dos efeitos biológicos recebeu um enfoque maior nas últimas décadas, pois houve

uma maior utilização de vários tipos de radiação nas mais diversas finalidades (medicina, agricultura, indústria e geração de energia). Para estimar a dose de radiação em indivíduos expostos foi estabelecida a *Dosimetria Biológica Citogenética*, que utiliza os linfócitos sanguíneos periféricos por serem indicadores extremamente sensíveis e por indicarem danos estruturais *in vitro* e *in vivo*. A dosimetria biológica é particularmente válida em situações quando a dose absorvida é desconhecida e a dosimetria física tem dificuldade de mensurá-la ou quando a susceptibilidade biológica individual pode variar. A sensibilidade da técnica permite fazer uma estimativa inequívoca de dose, da ordem de 5 cGy de radiação de baixa LET. A estimativa de dose é feita comparando-se a frequência de aberrações cromossômicas específicas (dicêntricas e anéis cêntricos) de indivíduos envolvidos em acidentes com radiação com a frequência observada *in vitro*. As aberrações instáveis (dicêntricas e anéis cêntricos) são usadas como medida quantitativa do dano por radiação e é essencial que as células estejam na primeira mitose após a indução, uma vez que as aberrações são perdidas em cada divisão celular, para evitar uma avaliação incorreta da dose. (IAEA, In: Biological Dosimetry Chromosomal Aberration Analysis for Dose Assessment. Tec.Reports 260, Vienna, 1986).

Métodos e Resultados: Foram utilizados linfócitos de indivíduos sadios coletados por punção venosa, irradiados *in vitro* com doses intercaladas entre 20 e 600 cGy de ⁶⁰Co e de ¹³⁷Cs (5cGy/min.), em um sistema apropriado para que as amostras recebessem dose de radiação homogênea. Após a irradiação, os linfócitos foram cultivados à 37°C por 48 horas, pela técnica de citogenética convencional, fixados e colorados pelo Giemsa e analisados por meio da microscopia óptica. As aberrações cromossômicas, principalmente dicêntricas e anéis cêntricos, possuem uma alta frequência em relação aos outros tipos de danos genéticos e baixa incidência nos controles não irradiados. Foi verificado um aumento da frequência das aberrações cromossômicas para os dois tipos de isótopos radioativos nas doses acima de 20 cGy. **Conclusão:** Com o aumento da dose, a radiação ionizante provoca um aumento progressivo no número de aberrações cromossômicas, bem como um aumento variável, dose-dependente do número de aberrações cromossômicas por célula. Apoio Financeiro: CAPES

29.006

OTIMIZAÇÃO DA ATENUAÇÃO DE VENENO CROTÁLICO COM RADIAÇÃO GAMA ⁶⁰CO. Clissa, P.B.**; Nagao, L.T.*; Nascimento, N., Rogero J.R. Coordenadoria de Bioengenharia IPEN/CNEN-SP. **Objetivos:** Estudos realizados por Murata, Y et al. (Toxicol 28:617, 1990) mostram que uma dose de 2.000Gy de radiação gama reduz a atividade tóxica do veneno de *Crotalus durissus terrificus*, sem alterar suas propriedades imunogênicas. Trabalhos posteriores realizados por Nascimento, N (Toxicol 34:123, 1996) demonstram que a crotoxina, principal toxina do veneno crotálico, após receber a mesma dose de radiação, também apresentou sua toxicidade atenuada, fato este atribuído à formação de agregados. O objetivo deste trabalho é estabelecer uma dose de radiação para o veneno crotálico, capaz de produzir maior quantidade de agregados atóxicos, porém imunogênicos. **Resultados:** Amostras do veneno crotálico em solução (2mg/ml em NaCl 0,15M), foram irradiadas nas doses de 2, 3, 5 e 10kGy em uma fonte de ⁶⁰Co. As alterações moleculares causadas no veneno foram analisadas por cromatografia de exclusão molecular, mostrando que a formação de agregados é proporcional ao aumento da dose de radiação. Foi verificada também a atenuação da toxicidade do veneno irradiado sendo que a dose de 2kGy reduziu a toxicidade em cerca de 3 vezes, a dose de 3kGy

cerca de 10 vezes, e a de 5 ou 10kGy reduziram a toxicidade em pelo menos 20 vezes. Coelhos foram imunizados com inóculos de 2.000µg de veneno irradiado, e com 300µg do veneno não irradiado, em um esquema clássico de imunização. A titulação dos anticorpos séricos mostrou que o soro antiveneno irradiado com 2.000Gy foi o que apresentou maior título de anticorpos que reconhecem o veneno crotálico.

Conclusão: Sugere-se que o veneno crotálico irradiado com 2KGy possa ser utilizado na obtenção de grandes quantidades de imunógenos, e que estes imunógenos seriam uma solução alternativa para reduzir a atual letalidade de 10% dos animais soroprodutores.

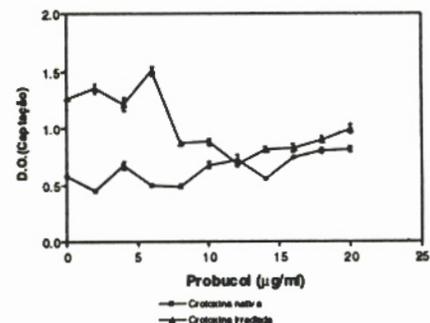
Apoio Financeiro: CNPq

29.007

CAPTAÇÃO DIFERENCIAL DE CROTOXINA IRRADIADA POR MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGOS CBA/J E SUA INIBIÇÃO POR PROBUCOL. Cardí, B.A.**; Nascimento, N.; Andrade Jr., H.F. ¹IPEN/CNEN-SP. ²Lab. Protozool./IMTSP/FMUSP.

Objetivos: Demonstramos que macrófagos peritoneais de camundongos endocitam mais intensamente crotoxina irradiada por ⁶⁰Co (Cardí & Andrade Jr., XXXI Cong. Soc. bras. Med. Trop. 351ABS:176, 1995), que é melhor imunógeno que a proteína nativa (Nascimento et al. Toxicol, 34(1):123, 1996). A radiação ionizante promove formação de radicais livres, resultando em reações oxidativas nas proteínas do meio. Os macrófagos possuem receptores para endocitose onde, dois receptores "scavenger" (ScvR), reconhecem epítopos oxidados em várias moléculas. O Probucol é uma droga hipolipidêmica usada no tratamento de hipercolesteremias, bloqueando os ScvR, envolvidos na aterogênese. Aqui, visamos elucidar a ação destes receptores no processo de endocitose preferencial da crotoxina irradiada.

Métodos e Resultados: Macrófagos peritoneais, numa concentração de 4x10⁵ células/poço em placa de 96 poços para cultura, foram ensaiados com 5µg/poço de crotoxina, nativa ou irradiada com 2000Gy ⁶⁰Co, na presença de concentrações progressivas de até 200µg/ml de Probucol. Após 130 minutos, as células foram fixadas e deslipidificadas, c/ bloqueio da atividade peroxidásica endógena. A crotoxina endocitada foi quantificada pela incubação com IgG de coelho anti-crotoxina nativa, seguida de IgG de cabra anti-IgG de coelho conjugada à peroxidase, com detecção da enzima pelo sistema OPD/H₂O₂ com leitura em 492 nm, em leitor de microplacas. Os resultados mostrados na figura, sugerem que o Probucol reduziu parte significativa da captação da crotoxina irradiada pelos macrófagos, não interferindo com a captação da crotoxina nativa.



Conclusão: Os ScvR devem estar envolvidos na captação de parte da crotoxina irradiada, tornando-a mais facilmente reconhecível por parte de células apresentadoras de antígeno, possibilitando uma resposta imune mais rápida e duradoura, o que pode

Quinta Feira

IPEN / CNEN - SP
BIBLIOTECA
Produção Científica

IPEN - DOC - 2926