

DETERMINAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DO RESVERATROL E DA DOSE LETAL 50% DA RADIAÇÃO GAMA, EM CÉLULAS DE MAMÍFEROS

Nathália Vaz Reiter e José Roberto Rogero
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN

INTRODUÇÃO

O resveratrol (3,4',5-trihidroxiestilbeno) é um polifenol sintetizado por diversas plantas em resposta a exposição à radiação ultravioleta (UV) ou pelo estresse mecânico produzido pela ação de patógenos, agentes químicos e físicos [1][2].

Este polifenol tem várias propriedades medicinais, como diminuir a incidência de doenças cardiovasculares, prevenir doenças alérgicas, é antiinflamatório e devido ao seu potencial antioxidante é antineoplásico, entre outras [3][4][5].

A biologia e medicina nuclear possuem grande interesse na busca de produtos que possam proteger a célula dos produtos tóxicos, tornando-se relevante o estudo radioprotetor do resveratrol, por possuir baixa atividade tóxica intrínseca, grande capacidade de captar radicais livres e sendo facilmente obtido na forma natural e sintética.

Para o estudo da atividade radioprotetora do resveratrol foi necessário o estudo da determinação da dose letal 50% da radiação gama (DL_{50%}), assim como a citotoxicidade do resveratrol em células de mamíferos.

OBJETIVO

Determinar o índice de citotoxicidade (IC_{50%}) do resveratrol e a dose letal 50% (DL_{50%}) da radiação gama, ambos em células de mamíferos.

METODOLOGIA

Os ensaios foram realizados de acordo com a norma ISO [6] e metodologia de incorporação do vermelho neutro publicada anteriormente [7].

A linhagem celular utilizada foi NCTC Clone 929, tecido conectivo de camundongo, ATCC.

No ensaio de DL₅₀ as células foram irradiadas em fonte de Co-60 (Gammacell modelo 220) nas doses de 0 a 1000 Gy e taxa de dose de 2,75 kGy/h. Após a irradiação das microplacas o procedimento foi o mesmo do teste de citotoxicidade.

RESULTADOS

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados do ensaio de citotoxicidade do resveratrol e as projeções das curvas de viabilidade celular na Fig. 1. O índice de citotoxicidade IC_{50%} obtido foi de 50 µM, significando que esta foi a concentração do resveratrol que provocou a morte de 50% da população celular no ensaio. A concentração maior que o IC_{50%} é considerada tóxica e abaixo, não tóxica.

Os resultados do ensaio de DL₅₀ estão na Tabela 2 e projetando-se em gráfico temos a curva de viabilidade celular apresentada na Fig. 2. A DL₅₀, dose de radiação gama que promove 50% de morte nas células utilizadas no ensaio, foi de 350 Gy, obtida na Fig. 2.

Tabela 1. Resultados da % viabilidade celular do resveratrol no ensaio de citotoxicidade pelo método de incorporação do vermelho neutro.

Concentração Extrato (%)	% de Viabilidade Celular + cv		
	Controle negativo	Controle Positivo	Resveratrol
100	97 ± 6	2 ± 16	11 ± 1
50	113 ± 11	83 ± 3	3 ± 8
25	109 ± 7	100 ± 11	23 ± 9
12,5	99 ± 12	96 ± 4	103 ± 10
6,25	102 ± 14	107 ± 9	96 ± 9

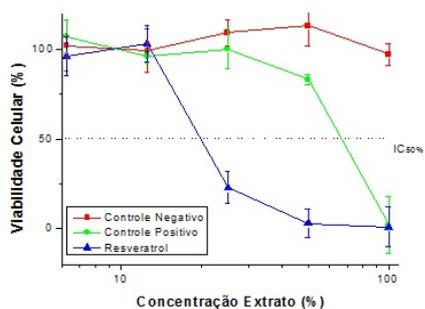


Figura 1. Curvas de viabilidade celular obtidas no ensaio de citotoxicidade do resveratrol pelo método de incorporação do vermelho neutro

Tabela 2. Resultados das medias das porcentagens de viabilidade celular, obtidas nas diferentes doses de radiação gama.

Dose de radiação gama (Gy)	% Viabilidade celular
0	100 ± 17
250	65 ± 19
500	32 ± 18
750	16 ± 20
1000	14 ± 20

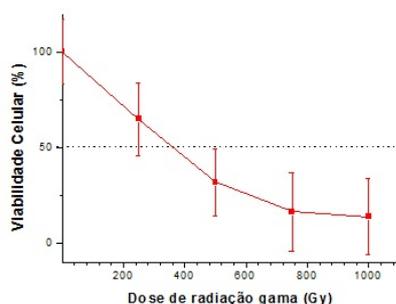


Fig. 2. Curva de viabilidade celular obtida no estudo da DL₅₀ da radiação gama

CONCLUSÕES

Determinou-se o índice de citotoxicidade do resveratrol e a dose letal 50% da radiação gama. O índice de citotoxicidade (IC_{50%}) do resveratrol foi de 21, correspondendo à concentração de 50 µM.

A dose de radiação gama que induz 50% de morte celular, DL₅₀, foi de 350 Gy.

Os ensaios *in vitro*, em cultura celular apresentaram vantagens metodológicas como: rapidez na execução do ensaio, reprodutibilidade, baixo custo além de reduzir o uso de animais em testes laboratoriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] JEANDET, P.; DOUILLET-BREUIL, A.C.; BESSES, R.; DEBORD, S.; SBAGHI, M. J. Agric. Food Chem., v. 50, p. 2731-2741, 2002.
- [2] VAN ETEN, H.D.; MANSFIELD, J.W.; BAILEY, J.A.; FARMER, E.E. Plant Cell, v.6, p. 1191-1192, 1994.
- [3] GOLDBERG, D.M.; HAHN, S.E.; PARKES, J.G. Clin. Chim. Acta, v. 237, p. 155-187, 1995a.
- [4] LEONARD, S.S.; XIA, C.; JIANG, B.H.; STINEFELT, B.; KLANDORF, H.; HARRIS, G.K.; SHI, X. Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 309, p. 1017-1026, 2003.
- [5] PERVAIZ, S. Drug Resist. Updat., v.7, p. 333-344, 2004.
- [6] ISO document 10993-5, 1992
- [7] MORENO, C.S. Dissertação de Mestrado no IPEN: Estudo do efeito radioprotetor do resveratrol, v.1, p. 33-47, 2009.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNPq