

uma maior utilização de vários tipos de radiação nas suas 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 sangüíneos 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 suscetibilidade 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  $^{60}\text{Co}$  e de  $^{137}\text{Cs}$  (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  $^{60}\text{Co}$ .** 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  $^{60}\text{Co}$ . 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 reação 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

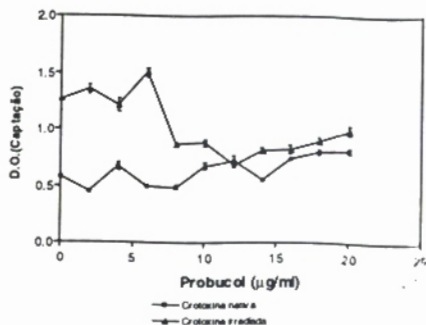
## 29.007

**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.; IPEN/CNEN-SP. <sup>2</sup>Lab. Protozool./IMTSP/FMUSP.

**Objetivos:** Demonstramos que macrófagos peritoneais de camundongos endocitam mais intensamente crotoxina irradiada por  $^{60}\text{Co}$  (Cardí e Andrade Jr., XXXI Cong. Soc. bras. Med. Trop. 35:1ABS: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  $4 \times 10^5$  células/poço em placa de 96 poços para cultura, foram ensaiados com 5µg/poço de crotoxina, nativa ou irradiada com 2000Gy  $^{60}\text{Co}$ , 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/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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