

BRL 9127843

ISSN 0101-3084



CNEN/SP

ipen *Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares*

**AÇÃO RADIOPROTETORA DE COMPOSTOS NATURAIS ENDÓGENOS
E EXÓGENOS**

Nélida Lucia DEL MASTRO

IPEN-Pub-335

ABRIL/1991

SÃO PAULO

**AÇÃO RADIOPROTETORA DE COMPOSTOS NATURAIS ENDÓGENOS
E EXÓGENOS**

Nélida Lucia DEL MASTRO

DEPARTAMENTO DE APLICAÇÕES NA ENGENHARIA E NA INDÚSTRIA

**CNEN/SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
SÃO PAULO - BRASIL**

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

C14.00

**RADIOPROTECTIVE SUBSTANCES
IRRADIATION
GAMMA RADIATION
COBALT 60
LETHAL RADIATION DOSE
BIOLOGICAL RADIATION EFFECTS**

IPEN - Doc - 3962.

Aprovado para publicação em 21/03/91.

Nota: A redação, ortografia, conceitos e revisão final são de responsabilidade do(s) autor(es).

AÇÃO RADIOPROTETORA DE COMPOSTOS NATURAIS ENDÓGENOS E EXÓGENOS*

Nélida Lucia DEL MASTRO

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Caixa Postal 11049 - Pinheiros
05499 - São Paulo - Brasil

RESUMO

Na Divisão de Radiobiologia de nosso instituto, têm sido realizados diversos estudos nos últimos anos, com o objetivo de determinar a capacidade radioprotetora de determinados produtos naturais de origem microbiana, vegetal ou endógena. Essas substâncias foram escolhidas por possuírem características biológicas específicas tais como imunoestimuladoras (bacilo de Calmette-Guerin, Corynebacterium parvum), antiinflamatórias (Cordia verbenacea), anticarcinogênicas e antioxidantes (α -tocoferol). Os ensaios foram geralmente realizados em camundongos albinos previamente injetados intraperitonealmente com esses agentes e irradiados com doses letais de radiação gama de ^{60}Co . As curvas de sobrevivência e peso corporal foram estudadas durante 30 dias após a irradiação e comparadas com os grupos testemunhas. Dependendo das propriedades das substâncias ensaiadas foram concomitantemente analisadas a indução de esplenomegalia e o comportamento das células peritoneais.

* Trabalho apresentado no "II Workshop for Current Problems of Nuclear Sciences realizado em Havana, Cuba de 22 a 27 de outubro de 1990.

RADIOPROTECTIVE ACTION OF ENDOGENOUS AND EXOGENOUS NATURAL COMPOUNDS *

Nélida Lúcia DEL MASTRO


COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR - SP
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

Caixa Postal 11049 - Pinheiros

05499 - São Paulo - BRASIL

ABSTRACT

In last years at the Radiobiology Division of our Institute several studies have been performed to determine the radioprotective capacity of some natural products from microbial, vegetal or endogenous origin. These substances have been chosen for some of their specific biological characteristics, among them: immunostimulating (bacillus of Calmette-Guerin, Corynebacterium parvum), anti-inflammatory (Cordia verbanacea), anti-carcinogenic and anti-oxidant ones (α -tocopherol). Assays were performed using albino mice previously injected intraperitoneally with those agents and then irradiated with lethal doses of ^{60}Co gamma radiation. Survival and body weight curves after irradiation have been studied during 30 days comparing to normal controls. Depending on the specific properties of tested substances the induction of splenomegaly and the behavior of peritoneal cellularity were concomitantly analyzed.



* Paper presented at the III Workshop for Current Problems of Nuclear Science held in La Habana, Cuba, 22-27 October 1990.

INTRODUÇÃO

O dano ocasionado nos tecidos biológicos pela radiação ionizante é uma consequência da transferência de energia da radiação às moléculas biológicas críticas (DNA, proteínas, lipídios das membranas) seja direta ou indiretamente através da formação de espécies reativas pela interação com as moléculas de água (1). Na presença de oxigênio, são produzidas espécies reativas adicionais cuja concentração dependerá do grau de oxigenação do tecido irradiado (2) (3) (4).

As substâncias radioprotetoras não podem impedir a absorção de energia, extremamente rápida, pelas macromoléculas críticas ou pela água celular. A habilidade dos radioprotetores é o resultado da sua capacidade de inibir o dano indireto, de reparar o dano direto e indireto e de facilitar a recuperação das células danificadas ou diminuídas. Isto se realiza por meio de diversos mecanismos (2). A nível molecular inclui-se o aprisionamento de radicais livres, a transferência de hidrogênio, a formação de ligações reversíveis ou a formação de dissulfetos mixtos (2). A nível fisiológico-bioquímico, é necessário mencionar a indução de hipoxia (5), a liberação ou mobilização de compostos sulfidrílicos endógenos (6), a indução de choque bioquímico (7) ou hipotermia. A nível de órgãos, a radioproteção pode ser exercida aumentando a recuperação e renovação das populações de células precursoras radiosensíveis. Os mecanismos citados são na realidade complexos e não totalmente esclarecidos e mesmo que num determinado sistema algum fator apareça como mais importante, nenhum daqueles pode explicar isoladamente o conjunto dos efeitos protetores observados.

O objetivo do presente estudo foi estabelecer a capacidade radioprotetora de compostos agrupados segundo suas

propriedades em: imunoestimuladores, antiinflamatórios e anticarcinogênicos - antioxidantes. Por outro lado, interessa conhecer o grau de importância de cada um dos possíveis mecanismos envolvidos a nível químico, fisiolôgico-bioquímico ou de órgãos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais: Foram utilizados camundongos machos ou fêmeas albinos heterozigotos, BALB/C ou C57Bl/10 com idades entre 8 e 12 semanas, mantidos em caixas plásticas sob dieta normal de laboratório (Nuvilab CR1, Norital) e água ad libitum.

Irradiações: Os animais foram irradiados com ^{60}Co numa "Gammacell 220 Irradiation Unit, Atomic Energy of Canada Ltd" com uma taxa de dose média de 7Gy/min, dentro de um cilindro de papelão de 9 x 18cm em grupos de no máximo 3 animais, sem restrição de movimento durante a irradiação.

Tratamentos: a) bacilo de Calmette-Guérin, BCG, cepa brasileira, estirpe Moreau-Rio de Janeiro, da Fundação Ataulpho de Paiva, Instituto Viscondessa de Moraes, RJ, ou do Instituto Butantan, SP, liofilizada em ampolas de 5mg. Os camundongos foram injetados via subcutânea com a susensão dos microorganismos, imediatamente após sua reconstituição, 1mg BCG/0,5ml, 3 a 4 semanas antes da irradiação; b) Corynebacterium parvum, cepa IM 1583, microorga nismos inativados pelo calor e formol, sob a forma de preparação imunoestimulante, proveniente do Instituto Merieux, Lyon, França, em ampolas de 4mg de pó seco/2ml susensão aquosa; c) lipopolissacarídeo de Escherichia coli LPS, serotipo 055:B5 Sigma Chemical Co. St. Louis (USA) injetado intraperitonealmente (ip) 10 dias antes da irra

dição, 20mg/0,2ml ou 50mg/0,5ml para machos ou fêmeas respectivamente; d) extrato aquoso de Cordia verbenacea, obtido dissolvendo o pó seco (cedido pelo Dr. Jaime Sertié do Deptº de Farmacologia, Faculdade de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo) em agar-agar a 1%, 12,4mg/kg de peso corporal, uma administração oral forçada diariamente durante 7 dias antes da irradiação ou 1 dose única de 12,4mg/kg 1 hora antes da irradiação; e) extrato hidroalcoólico de Pfaffia paniculata (Martins), pó liofilizado (cedido pelo Dr. Akisue Cokithi da Faculdade de Farmácia, Universidade de São Paulo), dissolvido em agar-agar a 1%, 8mg/kg de peso corporal administrado via oral forçada, uma dose diária durante 7 dias antes ou 1 dose única de 800mg/kg de extrato de pó seco total 1 hora antes da irradiação; f) dimetil sulfóxido (DMSO) Merck, Darmstadt, 2000mg/kg, ip, 1 hora antes da irradiação; g) selenito de sódio, $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, grau analítico, Riedel de Haen H4D 3016 Seelze 1, dissolvido em água bidestilada, 0,5mg/kg peso corporal, injetado ip 2 horas antes da irradiação em camundongos fêmeas no 17º dia da prenhez; h) vitamina E ou acetato de dl- α -tocoferol Sigma, dissolvido em óleo de amendoim 8mg/0,2ml, 1 hora após a irradiação.

Curvas de peso e sobrevivida. Os 4 grupos de camundongos em cada experimento foram constituídos geralmente da seguinte maneira: controles ou testemunhas normais (10 animais), controles injetados (10 animais), controles irradiados (20 animais) e injetados e irradiados (20 animais). O número de sobreviventes após irradiação foi registrado diariamente durante 30 dias. Nesse período foram estabelecidas as curvas de peso corporal médio de cada grupo e quando necessário, foram estabelecidas paralelamente as variações de peso do baço e fígado em lotes de 10 animais para cada ponto.

Análise das células peritoneais. Em casos específicos, foram analisadas as modificações nas populações de células peritoneais (fagócitos mononucleares, macrófagos, polimorfonucleares e mastócitos). Para cada um dos grupos em experimentação, foram coletados exudatos provenientes de 5 animais para cada ponto, no dia da irradiação (1 hora após), 3 e 6 dias após esta, $t=0$, $t=3$ e $t=6$ respectivamente. A coleta do exudato peritoneal foi realizada 2 minutos após a injeção de 3ml de solução fisiológica (0,85% NaCl) heparinizada, nos camundongos anestesiados, submetendo estes a massagem branda abdominal durante esse intervalo. Foram recolhidas amostras de 0,9ml de exudato em tubos plásticos que continham 0,1ml de fixador e corante cristal violeta (0,5% de cristal violeta dissolvido em ácido acético glacial a 30%). As amostras foram guardadas na geladeira até o momento de sua avaliação, realizada através da contagem ao microscópio em câmara de Neubauer para contagem total ou de maneira diferencial utilizando 200 células por vez.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Imunoestimuladores. Todos os animais irradiados sofreram acentuada perda de peso nos primeiros dias, mas houve uma recuperação a partir da 2ª semana após a irradiação. Nos casos onde os tratamentos resultaram num maior número de sobreviventes, as curvas de peso tiveram um declínio menos pronunciado e uma recuperação mais rápida.

As figuras 1,2 e 3 mostram a sobrevida até o 30º dia após a irradiação de camundongos irradiados com 8,5Gy de ^{60}Co . Os dados indicam uma sobrevida de 70%, 69% e 55% dos animais irradiados tratados previamente com BCG, LPS e C. parvum, enquanto que dentre os que foram somente irradiados, nos correspondentes experimentos, sobreviveram

30%, 25% e 25% respectivamente (9). Ensaios prévios mos traram que a injeção isotônica de NaCl em camundongos, não induzia qualquer modificação na sobrevivência após irradiação. Assim, não foi necessário injetar os animais testemunhas, quando o excipiente utilizado foi solução salina. A figura 4 mostra a variação do peso do baço e fígado como consequência da administração desses estimuladores da resposta imunológica. É evidente a competência em induzir esplenomegalia, o que corrobora dados de outros autores (10) (11) (12). A letalidade que acontece entre 2 e 4 semanas após uma dose aguda de radiação é considerada decorrente da síndrome hematopoiética, que é a perda de habilidade das células proliferativas dos tecidos que dão origem às novas células funcionais do sangue (13). Por outro lado, a letalidade de camundongos que ocorre entre 4 e 5 dias após a irradiação, seria o resultado da síndrome gastrointestinal, produzida como consequência da destruição da capacidade proliferativa das células precursoras, que dão origem ao revestimento epitelial do intestino (14). Neste caso, a letalidade foi registrada entre os dias 40 e 280 após a irradiação, sugerindo o envolvimento de ambas as síndromes. Assim sendo, o efeito radioprotetor observado, pode ser atribuído fundamentalmente a uma ação de estímulo sobre a repopulação das células precursoras críticas.

BCG e C.parvum são agentes capazes de aumentar a atividade das células conhecidas como "natural killer cells", por meio de um mecanismo que envolve a liberação de interferon pelos macrófagos (15). Do mesmo modo, quantidades apropriadas de endotoxinas bacterianas são capazes de aumentar a resistência do hospedeiro, de maneira não específica, contra infecções bacterianas ou virais (16).

Em síntese, as propriedades radioprotetoras desses agentes imunoestimuladores podem ser atribuídas ao estímulo

lo exercido sobre as células precursoras bem como ao aumento da resposta imunológica inespecífica induzida por eles.

Antiinflamatórios. O extrato de folhas de Cordia verbenacea DC (Boraginaceae) é um remédio usado na medicina popular do Brasil como antiinflamatório e cicatrizante. De acordo com dados já publicados (17), sua administração oral é capaz de induzir atividade antiinflamatória, apresentando baixa toxicidade. O mecanismo de ação sobre o processo inflamatório não é conhecido, mas sabe-se que é mais eficiente topicamente do que por via oral, pelo menos em relação ao modelo de inibição de granuloma. Nos presentes experimentos, foi ensaiada sua capacidade radiomodificadora estudando sua influência na sobrevivência de camundongos irradiados. As figuras 5 e 6 mostram os resultados de 2 experimentos realizados com camundongos fêmeas. Neste caso, não houve efeito radiomodificador, porquanto o número de sobreviventes dos animais tratados e irradiados (45% e 50%) é da mesma ordem de grandeza que aquele dos somente irradiados (50% e 40%) respectivamente.

Os ensaios efetuados com extrato de Pfaffia paniculata, descrito como capaz de inibir a formação de granuloma (18), não mostraram propriedades radioprotetoras nas condições utilizadas, visto que os percentuais de sobrevivência dos animais tratados e irradiados (25% e 45%) são da mesma ordem ou menores do que aqueles dos controle irradiados (40% e 50%), como aparece representado nas figuras 7 e 8.

Na figura 9 estão os resultados do ensaio realizado com os animais injetados com DMSO. É notório neste caso o

efeito radioprotetor, visto que 100% dos animais sobreviveram perante 15% dos controles irradiados.

Na interação da radiação ionizante com os organismos vivos, estão envolvidas as espécies tóxicas do oxigênio que também estão presentes nos processos inflamatórios e provavelmente no processo de envelhecimento e indução do cancer (19) (20). Sendo estes processos de grande complexidade, não é possível afirmar a priori, se um determinada substância com propriedades antiinflamatórias, terá ou não ação radioprotetora. Nos experimentos em que foram utilizados extratos vegetais, não houve manifestação de radioproteção mas até de radiosensibilização, porém não significativa. Entretanto, quando do emprego de DMSO, um bem conhecido antiinflamatório (4), como tratamento prévio à irradiação, houve um pronunciado efeito radioprotetor. Neste caso, o aumento da radiorresistência dos animais pode ser atribuído primeiramente não à ação antiinflamatória mas a sua ação como "scavenger" de radicais (21) e inclusive a sua capacidade em induzir hipotermia (22).

Mesmo sendo considerado de grande importância o desenvolvimento de substâncias radioprotetoras para aplicações médicas ou industriais das radiações ionizantes, reveste-se igualmente de interesse a obtenção de radiosensibilizadores para serem utilizados como coadjuvantes nos tratamentos radioterapêuticos. Dentro desse contexto, há enorme procura por substâncias de baixa toxicidade, que sejam capazes de sensibilizar os tecidos tumorais preservando as células normais. Serão necessários, ainda, estudos ulteriores para determinar o potencial dos extratos vegetais tais como aqueles de Cordia verbenacea e Pf. paniculata que já vem sendo usados informalmente.

Antioxidantes e anticarcinogênicos. Foram estudados os efeitos da radiação e do selênio (Se) sobre a taxa de aumento do peso corporal, em camundongos recém-nascidos, irradiados no ventre materno no 17º dia de gestação, com 1,5 e 3,0Gy de ^{60}Co (24). O incremento de peso em função da idade dos animais diminuiu com o aumento da dose de radiação (figura 10). Entretanto, os animais somente injetados com 0,5mg de Se/kg peso corporal, tiveram um significativo declínio no ganho de peso em relação aos controles injetados somente com água (0,65 e 0,27 respectivamente). Se levamos em consideração esse decréscimo, houve um efeito relativo de proteção do Se contra o dano produzido pela radiação, sendo mais pronunciado para a dose de 1,5Gy (Tabela I). O retardo no crescimento em ratos, por ação do Se, já foi descrito em trabalhos anteriores (25). Além disso, outros autores observaram um efeito radioprotetor produzido por um suplemento de selênio na dieta, medido pela diminuição do número de fetos mal formados em camundongos (26). Por outro lado, certos experimentos fornecem evidências da falta de radioproteção induzida pelo Se na dieta, em ratos expostos a irradiação crônica (27).

Há referências na literatura, que indicam que tanto o Se quanto a vitamina E atuam, seja isoladamente ou de maneira aditiva, como radioprotetores ou quimioprotetores, o primeiro através da indução ou ativação de sistemas celulares de aprisionamento de radicais livres e a vitamina E por meio de um mecanismo complementar alternativo (28).

Tabela I - Efeito do Se (0,5mg/kg) sobre o peso da progênie de camundongos irradiados. Taxas de aumento do peso em função da idade, segundo figura 10.

Tratamento	Valor da tangente	Valores relativos
H ₂ O	0,56 ± 0,03	1
Se	0,27 ± 0,01	
1,5Gy	0,33 ± 0,01	3,14
Se + 1,5Gy	0,42 ± 0,01	
3,0Gy	0,25 ± 0,01	2,57
Se + 3,0Gy	0,26 ± 0,01	

O selênio é um dos elementos traços essenciais, que vem despertando grande interesse. Experimentalmente, é capaz de substituir, dentro de certos limites à própria vitamina E na dieta de animais, prevenindo alguns dos efeitos provocados pela deficiência dessa vitamina. Há indícios de que a deficiência de Se na dieta levaria a um aumento de doenças coronárias e a uma maior probabilidade de desenvolvimento de cancer.

Até o presente, o único composto de selênio identificado nos tecidos animais, que tem uma função fisiológica específica, é a glutathione peroxidase, enzima envolvida junto com a vitamina E, a superóxido-dismutase e a catalase, no mecanismo protetor contra o dano celular causado por espécies de oxigênio altamente reativas (26). Esses produtos intermediários:



estão envolvidos nos processos inflamatórios, no envelhecimento, na indução do cancer e nas lesões provocadas nos tecidos pela interrupção circulatória ou isquemia (19) , além de serem responsáveis pelas lesões produzidas pela radiação ionizante nos tecidos.

A vitamina E está amplamente difundida no reino vegetal. Recebe essa denominação qualquer um dos compostos relacionados no grupo dos tocoferóis e tocotrienóis que tenham propriedades antioxidantes. Considera-se que estabilizam as membranas celulares prevenindo a oxidação dos ácidos graxos insaturados que as constituem. O tocoferol mais potente é o α -tocoferol. É extremamente utilizado na prática médica em casos de ameaça ou abortos repetidos, infertilidade masculina, distrofia muscular e doenças cardíacas. Nem todas essas aplicações, entretanto, estão rigorosamente comprovadas do ponto de vista científico.

Trabalhos realizados na última década, demonstraram que a vitamina E é capaz de potenciar a ação anticarcinogênica do selênio (29).

Em nosso laboratório, foi estudado o efeito da administração oral de acetato de alfa-tocoferol sobre a sobrevivência de camundongos irradiados com ^{60}Co (30). Sendo uma vitamina lipossolúvel, foi escolhido como veículo o óleo de amendoim, que é um óleo comestível, utilizado em farmácia como veículo para medicações intramusculares, que contém 56,0% de ácido oléico, 26,0% de linoléico e de 0,022 a 0,059% de tocoferóis. Os resultados desses experimentos mostram que tanto o veículo quanto (junto) com a vitamina E são capazes de induzir ação radioprotetora (figura 11, 12 e 13), quando administrado por via oral após a irradiação ($P=0,05$). O mecanismo envolvido neste caso não está esclarecido, mas supõe-se que haveria uma contribuição aos sistemas endógenos de defesa contra o estresse oxidativo produzido pela radiação.

Tabela II - Cômputo de células peritoneais totais. Número de células/ml vs. dias após a irradiação com 9Gy de ⁶⁰Co. Em parêntes, porcentagem relativa a macrófagos.

Tratamento	1 hora após o tratamento		Dias após a irradiação			
			3		6	
(F) Nenhum	419±18	100% (29)	419±18	100% (29)	419±18	100% (29)
Vitamina E (em óleo)	443±64	100% (40)	501±72	113% (47)	530±32	120% (52)
Irradiação	314±25	100% (48)	227±17	72% (48)	116±28	37% (62)
Irrad + vit E (em óleo)	398±35	100% (48)	240±23	62% (47)	284±25	73% (58)
(M) Nenhum	397±33	100% (36)	396±33	100% (35)	396±33	100% (35)
Vitamina E (em óleo)	424±36	100% (49)	425±52	100% (47)	440±62	104% (52)
Óleo	421±47	100% (35)	404±38	96% (44)	440±26	105% (40)
Irradiação	373±23	100% (28)	197±24	53% (48)	146±30	39% (57)
Irrad. óleo	435±40	100% (35)	274±46	63% (45)	243±12	56% (53)
Irrad.+ Vit.E (em óleo)	359±53	100% (49)	253±32	70% (43)	325±17	91% (60)

As células fagocíticas constituem a principal linha de defesa na resistência contra infecções. Sendo a irradiação um poderoso imunodepressor, tem grande importância a influência dela sobre esse tipo de células. Na tabela II encontram-se os resultados do cômputo de células peritoneais totais e em particular de macrófagos, 1 hora, 3 dias e 6 dias após exposição à radiação dos animais em estudo. É evidente o declínio de leucócitos como consequência da radiação ao 3º dia, bem como a consequente recuperação nos animais tratados previamente com esses agentes lipossolúveis, especialmente na presença de α -tocoferol. Paralelamente, é possível perceber um aumento relativo de macrófagos induzido pela radiação, indicando sua radiosensibilidade bem como uma possível ação estimulante sobre eles.

CONCLUSÃO

A reversibilidade da perturbação num sistema de vários níveis de organização está ligada à existência de mecanismos eficientes de proteção. No caso da interação da radiação com os sistemas biológicos, um meio de proteção são as defesas enzimáticas contra agentes potencialmente letais, tais como os radicais de oxigênio formados pela deposição da energia de radiação ionizante. Existem também mecanismos de reparo dentro das células, capazes de substituir, por exemplo, as moléculas de ácidos nucleicos danificadas. Um terceiro mecanismo é aquele capaz de substituir as estruturas perdidas cuja função seja primordial ao organismo. Os mecanismos de defesa, reparo e substituição também operam a nível de tecidos ou órgãos, através da ação do sistema imunológico, com estímulo da divisão celular, diferenciação e maturação.

Os agentes utilizados nestes estudos, exemplificam ações nos diferentes níveis de organização do organismo

do mamífero escolhido.

Para propósitos de proteção radiológica, interessa o conhecimento de substâncias capazes de proteger dos efeitos deletérios da radiação. Na terapia do cancer, por outro lado, interessa também aumentar a ação destrutiva sobre as células tumorais. Cada uma das substâncias descritas, entretanto, merecem um estudo mais profundo, para poder estabelecer o potencial de aplicação nos diversos sistemas experimentais e inclusive no homem.

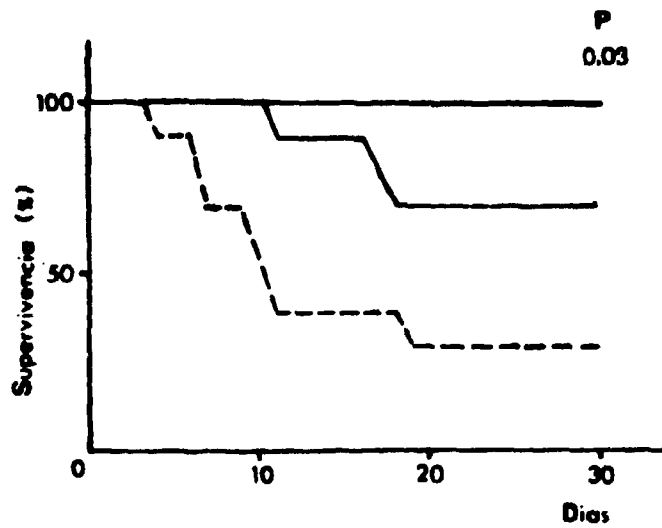


FIG. 1 - Sobrevida de camundongos machos após exposição a 8,5y de ^{60}Co . Camundongos somente irradiados (---) ou previamente tratados com 200mg/0,1ml de BCG (—).

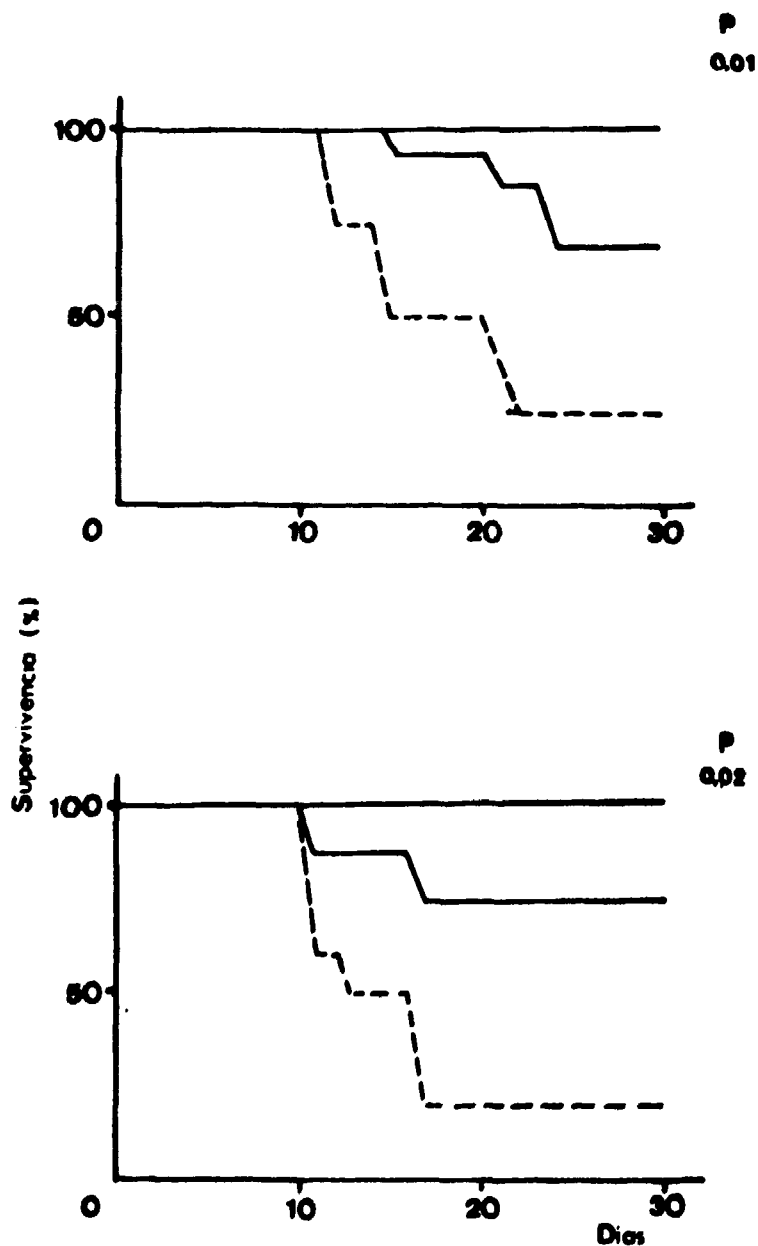


FIG. 2 - Sobrevida de camundongos machos após exposição a 8,5Gy de ^{60}Co . Camundongos somente irradiados (----) ou previamente tratados com LPS (—).
A) Machos (50 µg/0,25ml); B) fêmeas (20 µg/0,20ml).

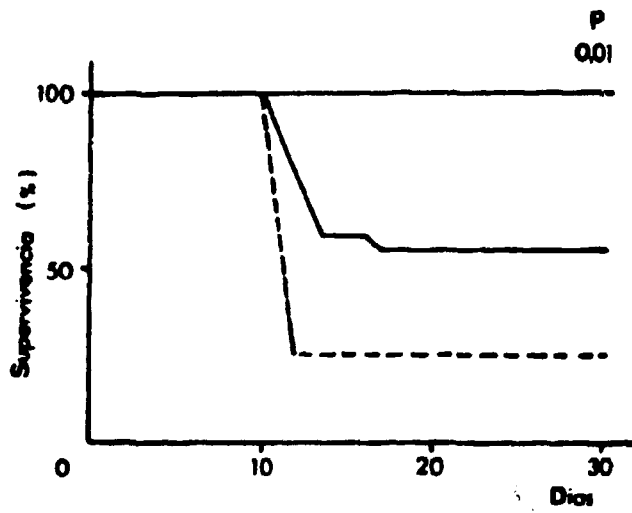


FIG. 3 - Sobrevida de camundongos após exposição a 8,5Gy de ^{60}Co . Camundongos somente irradiados (---) ou tratados previamente com *C.parvum* (—).

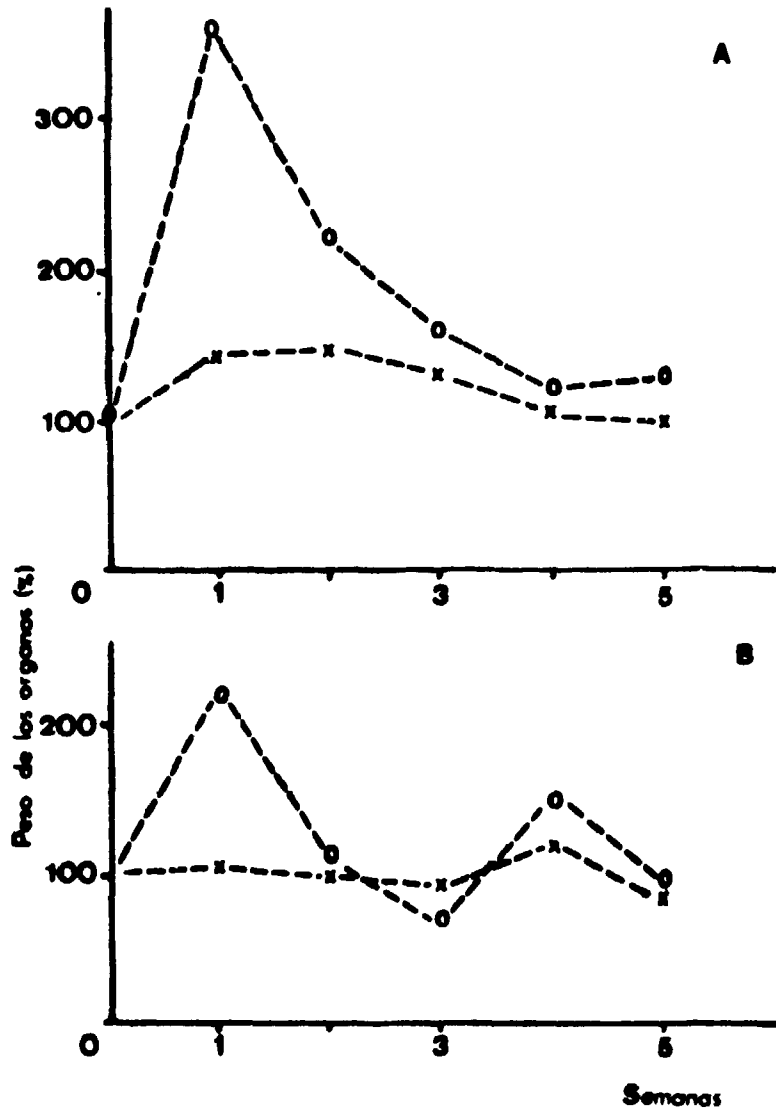


FIG. 4 - Pesos normalizados de órgãos de camundongos machos após injeção de: A) C. parvum; B) BCG. Fígado (x—x); Baço (o---o).

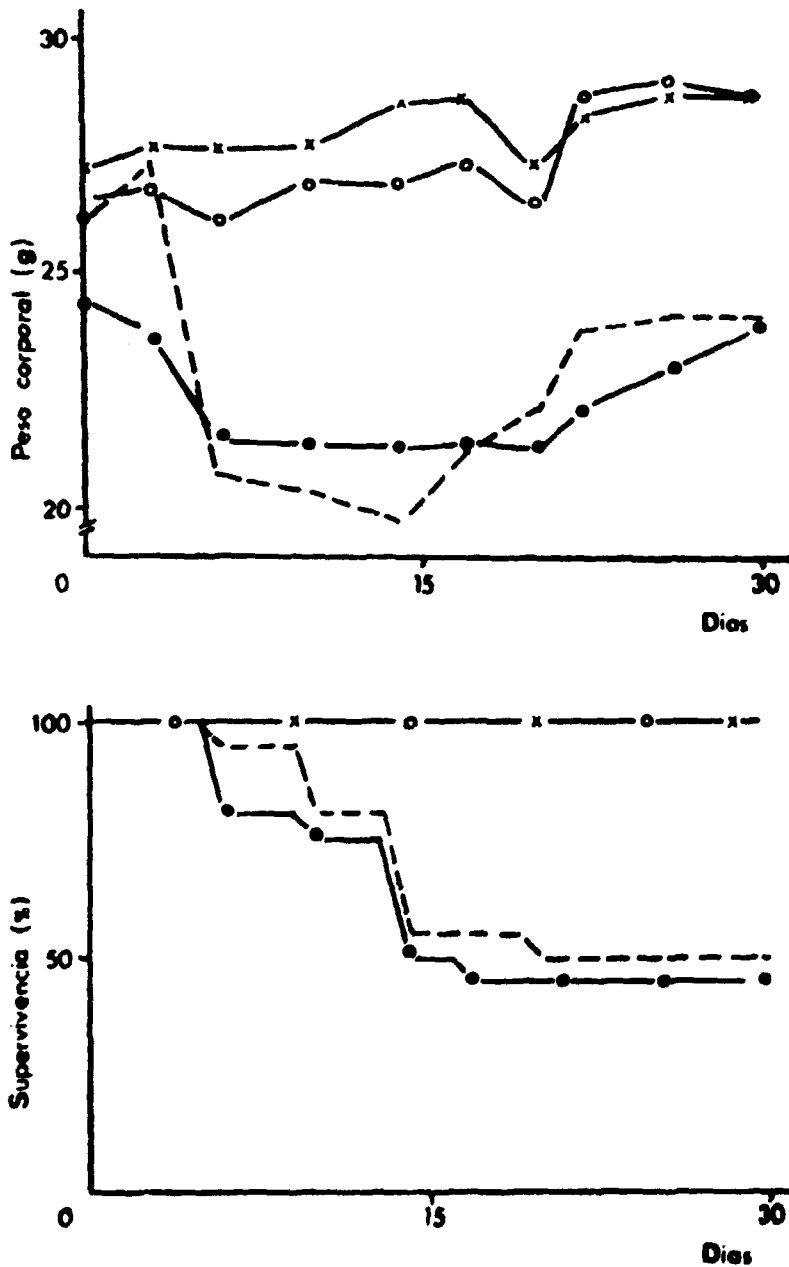


FIG. 5 - Efeito da administração oral de *C. verbenacea* (12,4mg/kg em camundongos fêmeas, por 7 dias antes da irradiação com 9Gy de ^{60}Co . Curvas de peso corporal e sobrevivência vs tempo após irradiação. (o—o) controles normais; (- - -) somente irradiados; (x—x) somente pre-tratados; (●—●) tratados e irradiados.

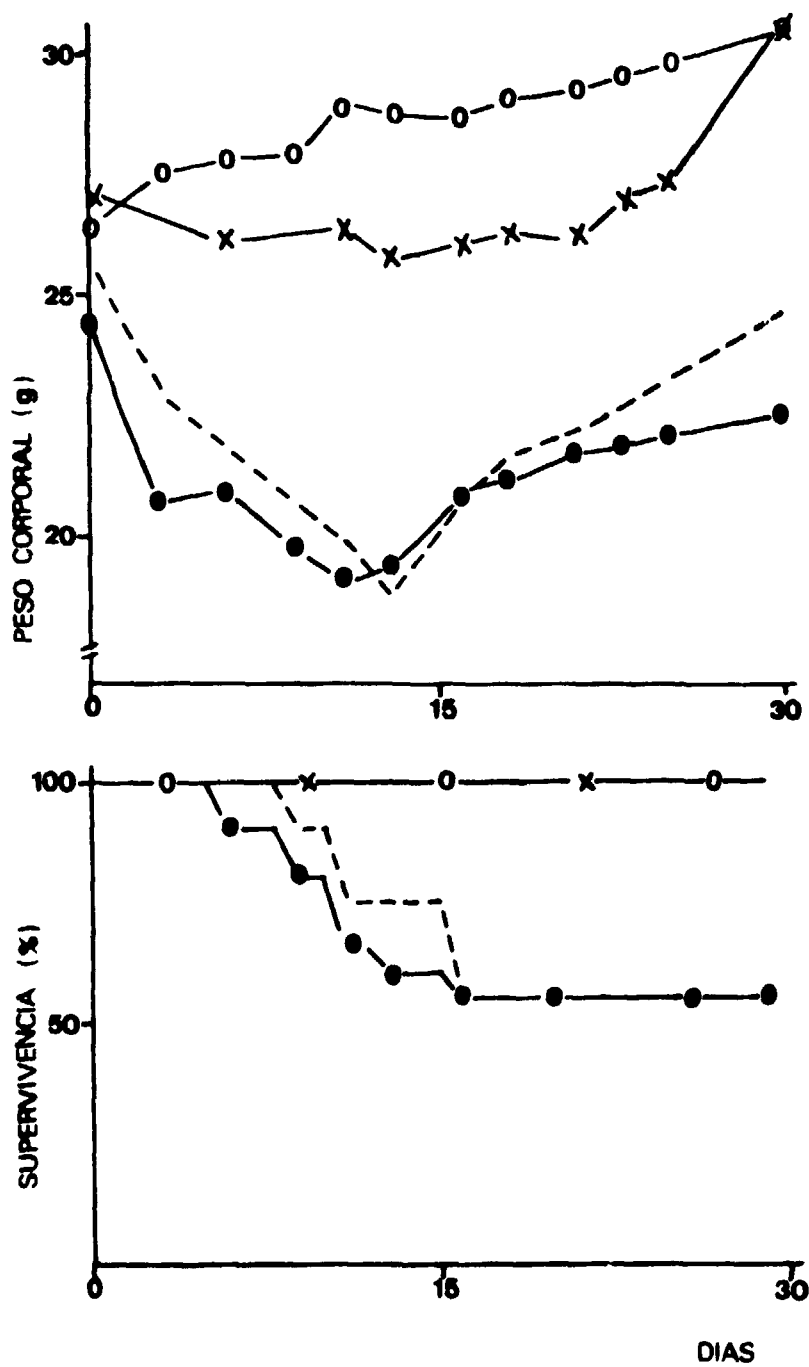


FIG. 6 - Efeito da administração oral de *C. verbenacea* (12,4mg/kg) em camundongos, 1 h antes da irradiação com 9Gy de ^{60}Co . A) Curvas de peso corporal; B) Sobrevida vs tempo após a irradiação. Legendas, ver fig. 5.

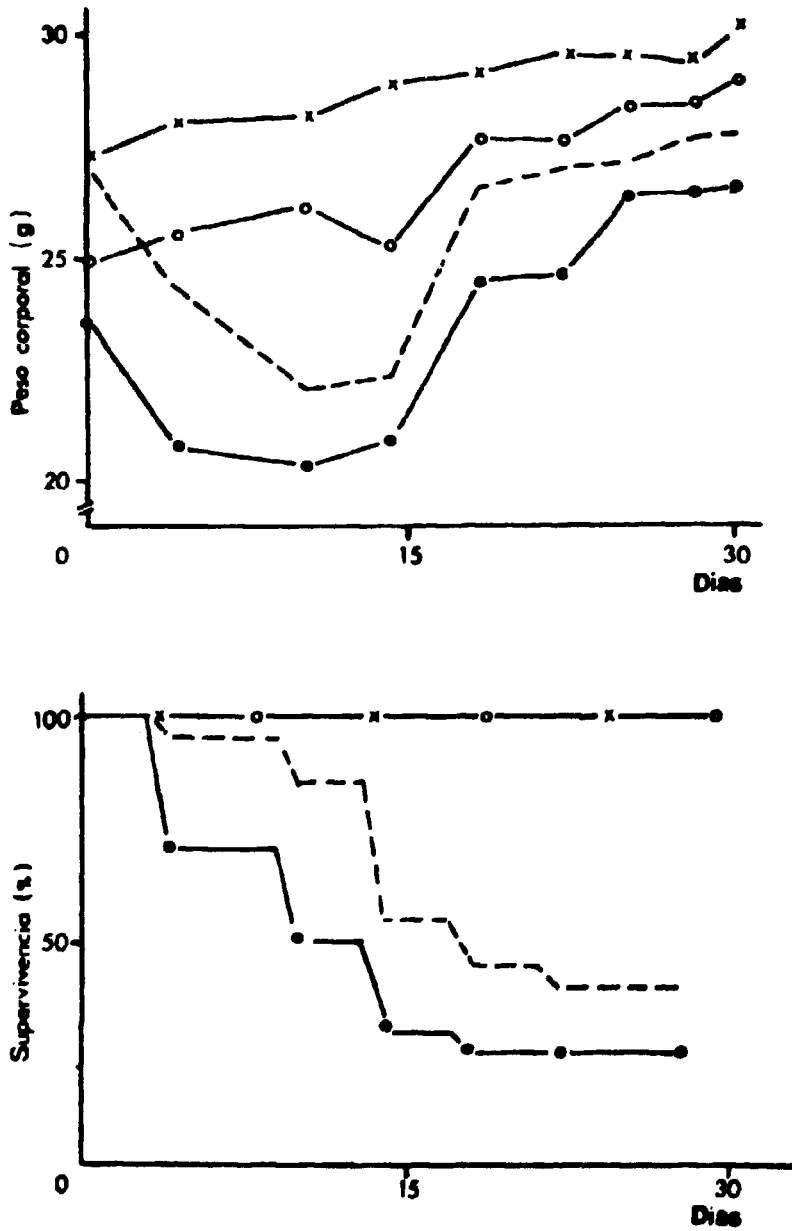


FIG. 7 - Efeito da administração oral de Pfaffia paniculata de extração hidroalcoólica, (8mg/kg) em ca mundongos fêmeas por 7 dias antes da irradiação com 9Gy de ^{60}Co . Legendas ver fig. 5.

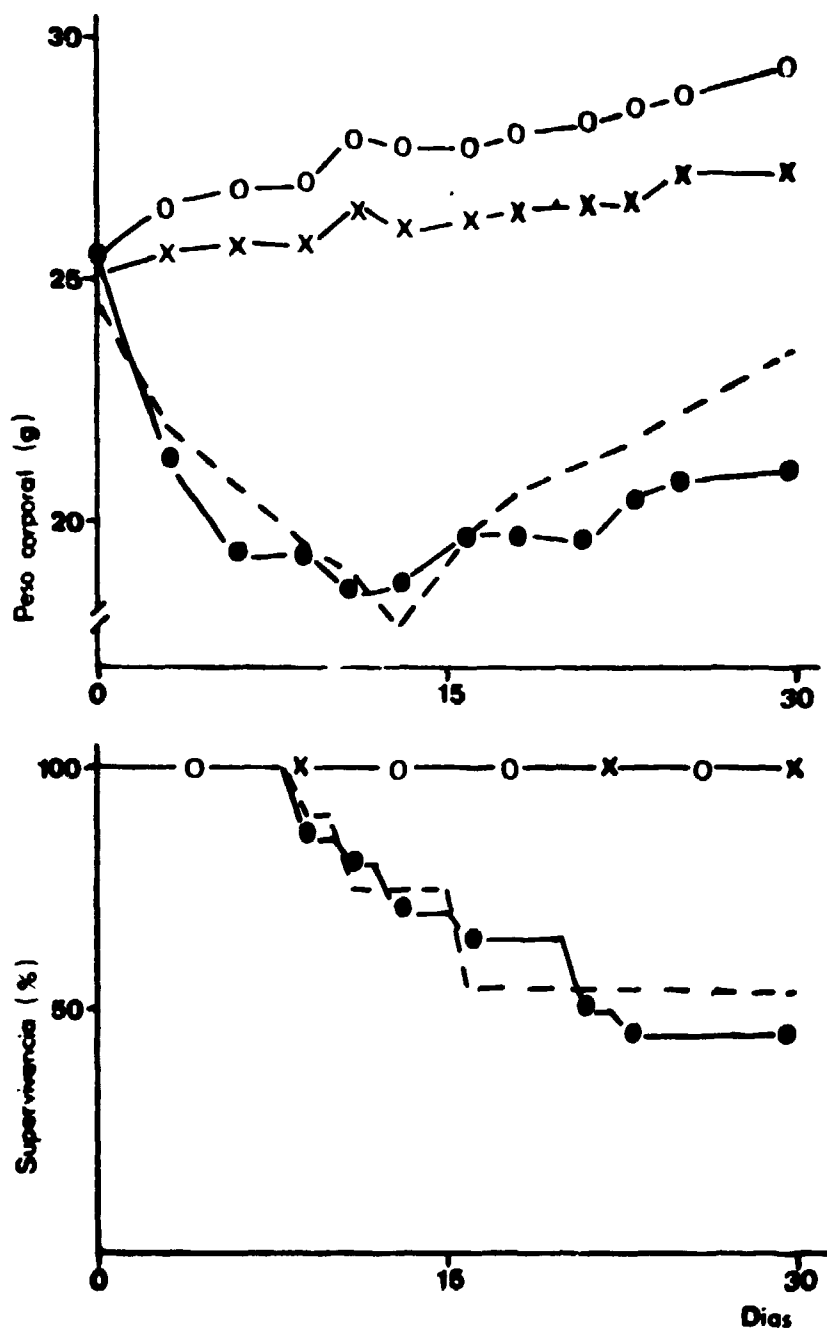


FIG. 8 - Efeito da administração oral de Pfaffia paniculata proveniente da extração alcoólica, (8mg/kg), em camundongos, 1 h antes da irradiação com 9Gy de ^{60}Co . A) Curvas de peso corporal; B) Sobrevida vs tempo. Legendas, ver fig. 5.

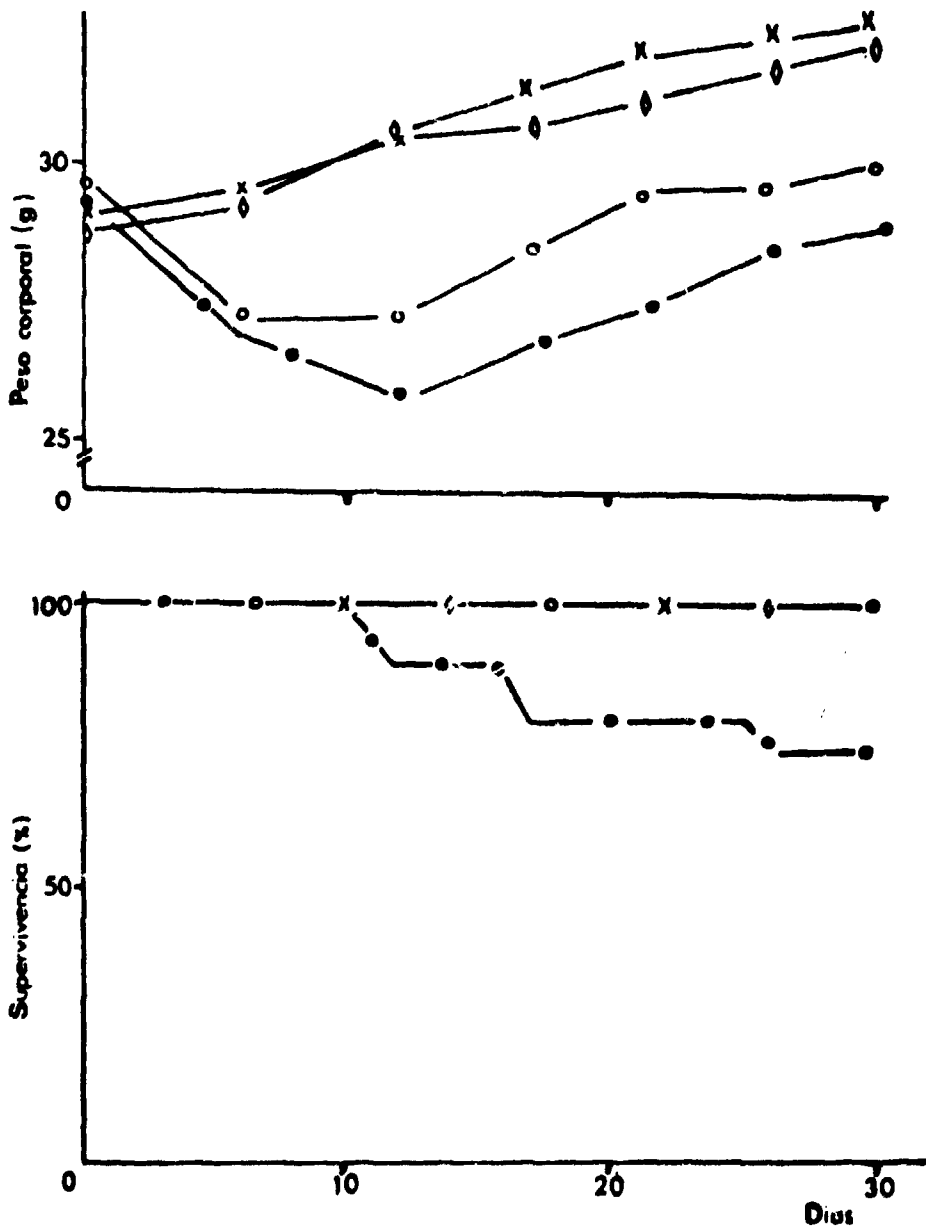


FIG. 9 - Efeito da administração ip. de 60mg DMSO/0,2ml de salina em camundongos fêmeas submetidas a 9Gy de ^{60}Co . (x—x) controles normais; (◊—◊) controles injetados; (●—●) somente irradiados; (○—○) injetados e irradiados.

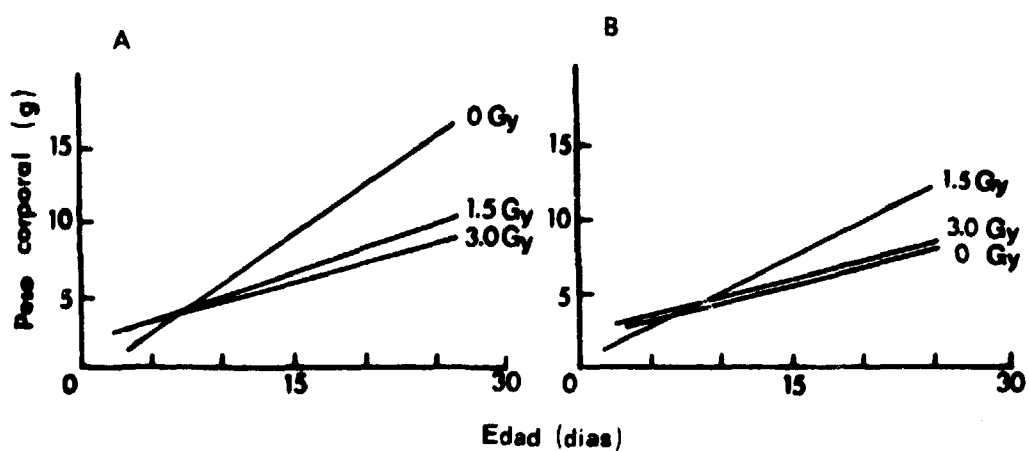


FIG. 10 - Ganho de peso corporal em função da idade de camundongos irradiados previamente no 17º dia de gestação. A) Injetados com água; B) Injetados com 0,5mg Se/kg.

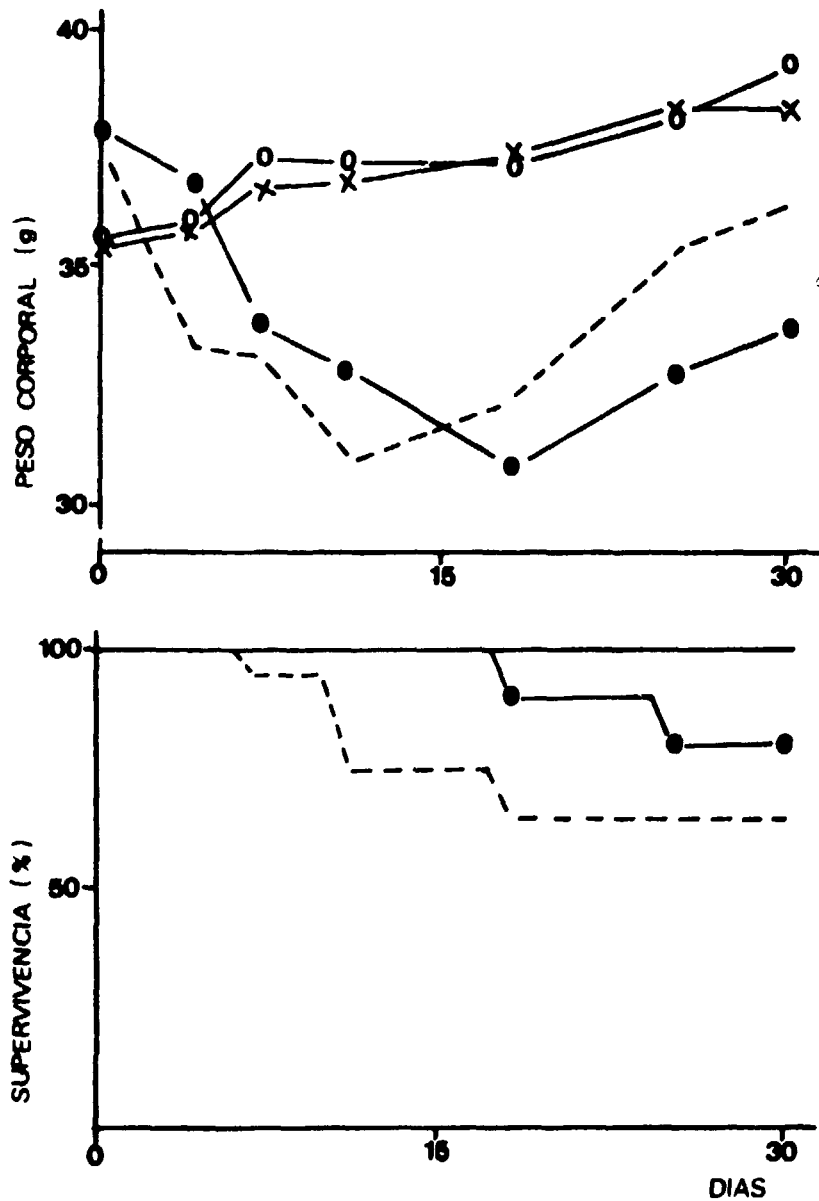


FIG. 11 - Efeito da administração oral de 8mg/kg de acetato de α -tocoferol, (Vit E) em óleo de amendoim, 1 h após a irradiação com 9Gy de ^{60}Co em camundondos machos. (x—x) controles; (---) somente irradiados; (o—o) tratados com vit E; (●—●) vit E + irradiados; (o—.—o) óleo + irrad.

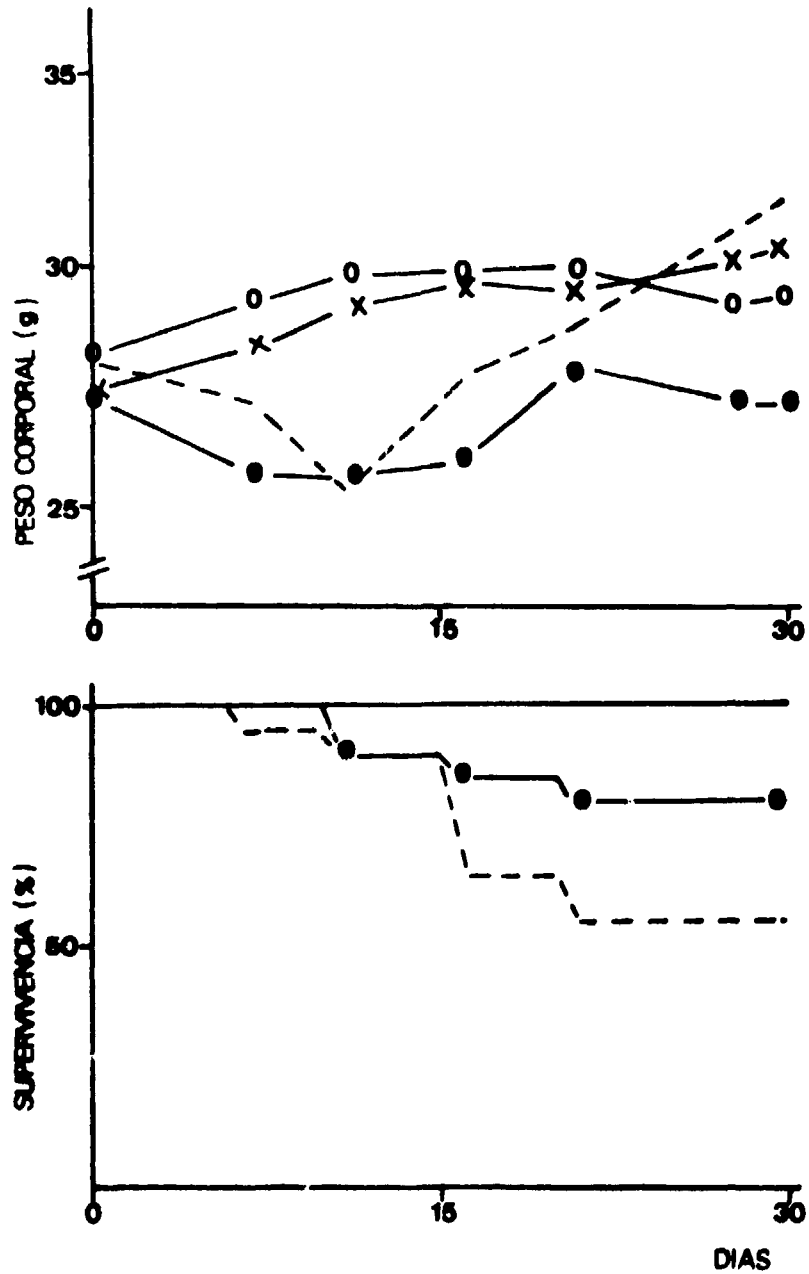


FIG. 12 - Efeito da administração oral de 8mg/kg de vit E, 1 h após a irradiação com 9Gy, em camundongos fêmeas. Legendas, ver fig. 5.

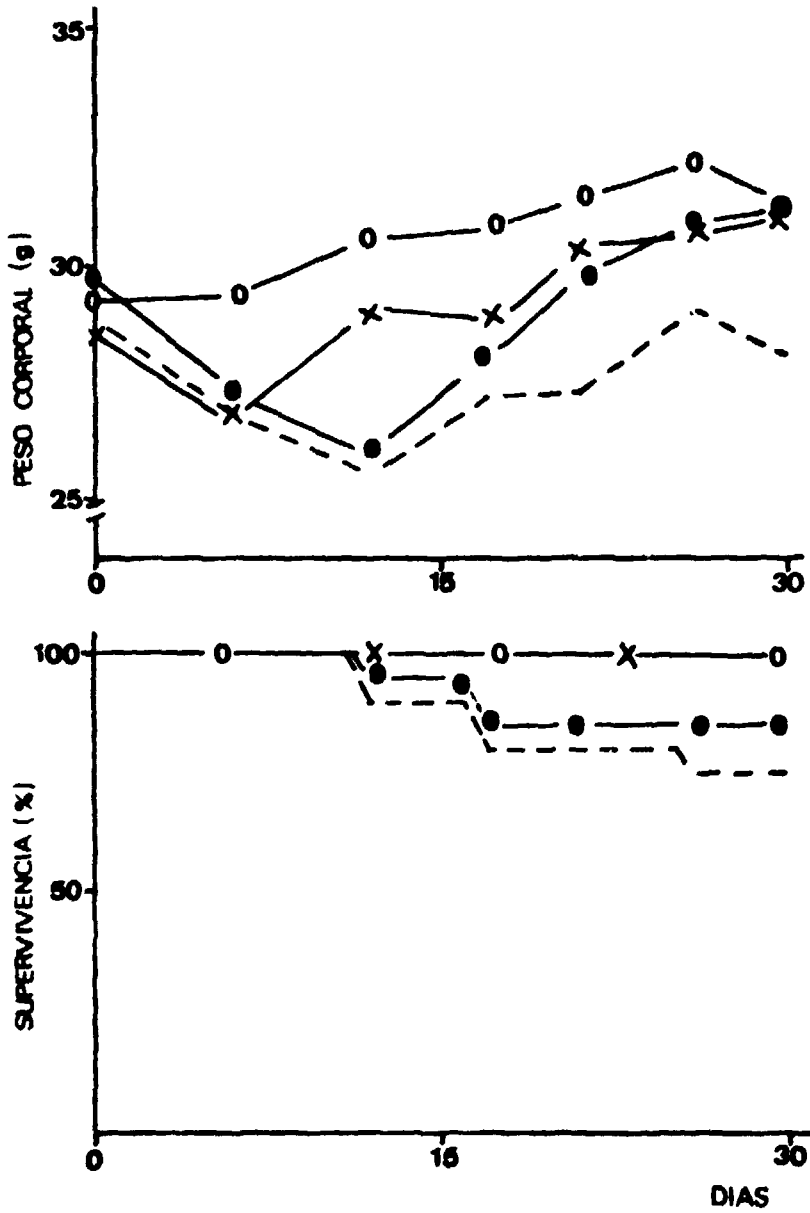


FIG. 13 - Efeito da administração oral de 8mg/kg de vit E emulsionado em água, 1 h após a ir radiação com 9Gy de ^{60}Co em camundongos fêmeas. Legendas, ver fig. 5.

REFERÊNCIAS

- 1 - PRASAD K.N. CRC Handbook of Radiobiology. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1984.
- 2 - COKLIN J.J. & WALKER R.I. Military Radiobiology. Orlando, Flórida. Academic Press, 1987.
- 3 - GROSCH D.S. & HOPWOOD L.E. Biological Effects of Radiations. N.Y., Academic Press, 1979.
- 4 - HALL E.J. Radiobiology for the Radiobiologist. Hagerstown, Maryland, Harper & Row Publishers, 1978.
- 5 - PIZZARELLO D.J. & COLOMBETTI L.G., eds. Radiation Biology. Boca Raton, Flórida. CRC, 1982.
- 6 - REVESZ, L. & MODIG H. Cystamine-induced increase of cellular of glutathione level: A new hypothesis of the radioprotective mechanism. Nature (London), 207: 430-1, 1965.
- 7 - BACQ ZOR & VAN CANEGHAM P. The shock produced by large doses of radioprotective SH or SS substances. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Radiation damage: panel proceedings ... held in Vienna, 1968. Vienna, 1968. p. 141-7.
- 8 - COPELAND E.S. Mechanism of radioprotection - A review Photochem. Photobiol, 28, 839-44, 1978.
- 9 - DEL MASTRO- GARCIA AGUDO N.L. Aspectos Bioquímicos da ação de imunomoduladores nas sobrevida de camundongos irradiados com radiação gama de ^{60}Co . São Paulo, 1983.(Tesis de doctorado, Instituto de Química, Universidade de São Paulo).
- 10- BLANDEN R.V., LEFFORD M.J. & MACKANESS G.B. The host response to Calmette-Guerin bacillus infections in mice. J. Exp. Med., 129-1079-108, 1969.

- 11 - DOE W.F. & HENSON P.M. Macrophage stimulation by bacterial lipoly saccharides. 1. Catalytic effect on tumor target cells. J.Exp. Med, 148:544-6, 1978.
- 12 - HALPERN B.N., FRAY A., CREPIN Y., PLATICA O., LORINET A.M., RABOURDIN A., SPARROS L.; ISAAC R. Corynebacterium parvum a potent immunostimulant in experimental infections and in malignancies. In: KNIGHT J., ed. Immunopotentialion. Amsterdam, Ass. Scientific Publishers, 1973, p. 217-36. (Ciba Foundation Symposium, 18).
- 13 - QUASTLER, M. Studies of Roentgen death in mice. Ann. J. Roentg., 54:449-56, 1945.
- 14 - QUASTLER; H. The nature of intestinal radiation death. Radiat. Res. 4:303-20, 1956.
- 15 - DJEU J.T., HEINBAUGH J.A., HOLDEN H.T., Heberman R.B. Role of macrophages in the augmentation of mouse natural Killer cell activity by Poly I : C. and interferon. J. Immunol., 122(1):182-8, 1979.
- 16 - WAGNER, R.R., SNYDER R.M., HOOK E.W. & LUTTRELL C.N. Effects of bacterial endotoxin on resistance of mice to viral encephalitis: J. Immunol., 83:98 , 1959.
- 17 - BASILE A.C., SERTIÉ J.A.A., OSHIRO T & CALY K.D.V. Tropical anti-inflammatory activity and toxicity of Cordia verbenacea. Fitoterapia, 60(3):260-3, 1988.
- 18 - OGA, S.; AKISUE G.; FUJII E., STEPHAN M., TANIGUSHI S. F. Triagem farmacológica de Pfaffia paniculata e pfaffia stenophilla. In: SOCIEDADE DE FARMÁCIA E QUÍMICA DE SÃO PAULO. Farmacêuticos: Anais do 6º Congresso Paulista de ... , realizado em São Paulo. 15-18 dezembro, 1987. p.40.

- 19 - MENECHINI, R. A toxicidade do oxigênio. Ciência Hoje, 5 (28):57-62, 1987.
- 20 - DEL MASTRO, N.L. Noções de química da radiação em sistemas biológicos. São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, outubro 1989. (Publicação IPEN 276).
- 21 - WINDHOLZ M. Ed. The Merck Index. Rahway N.J. USA, Merck & Co, 1976, p.433.
- 22 - LAPPENBUSCH, W.L. On the mechanism of radioprotective action of dimethyl sulfoxide. Radiat. Res., 46:279-89, 1971.
- 23 - ASHWOOD SMITH; M.J. The radioprotective action of dimethyl sulphoxide and various other sulphoxides. Int. J. Radiat. Biol., 3 (1): 41-8, 1961.
- 24 - BELLINI, M.H. & DEL MASTRO, N.L. Biological ^{60}Co radiation effects on mouse embryos in the presence of sodium selenite. São Paulo, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN-CNEN/SP, setembro 1988. (Publicação IPEN 210).
- 25 - THORLACIUS - USSING O., FLYBERG A., DAUNN JORGENSEN K. & ORSKOV H. Growth hormone restores normal growth in selenium-treated rats without increase in circulating somatomedin A. - Acta Endocrinol., 117 (1) : 65-72, 1988.
- 26 - CEKAN E., TRIBUKAIT B., VOKAL-BORCK H. Protective effects of selenium against ionizing radiation - induced malformations in mice. Acta Radiol. Oncology, 24(3):261-71, 1985.

- 27 - HURT H.D., CARY E.E., ALLAWAY W.H., VISEK W.J. Effects of dietary selenium on the survival of rats exposed to chronic whole-body irradiation. J. Nutr. 101 - 363, 1971.
- 28 - BORCK C., ONG A., MASON H., DONAHUEL, BIAGLOW J.E. Selenium and vitamin E inhibit radiogenic and chemically induced transformation in vitro via different mechanisms. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83:149-94 , 1986.
- 29 - HORVATH P.M. & Ip C. Synergistic effect of vitamin E and selenium in the chemoprevention of mammary carcinogenesis in rats. Cancer Res., 43:5335-41, 1983
- 30 - DEL MASTRO N.L. & VILLACICENCIO A.L. C.H. Defesas contra a radiação ionizante em camundongos: ação do - tocoferol e óleo de amendoim. In: FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL. Biologia experimental: anais da 5ª Reunião da Federação de Sociedades de ... , realizada em Caxambu, MG, Brasil , 24-28 de agosto, 1990. p.621.