

GRAXOS ENCONTRADOS...  
DE ANTIGENOS METABÓLICOS DE 4 AMOSTRAS DE *Bipolaris sorokiniana*. Mercedes Passos Geimba\*\*, Valeriano A. Corbellini, Maria Lúcia Scroferneker. (Departamento de Microbiologia, Instituto de Biociências, UFRGS).  
Bipolaris sorokiniana é um fungo causador de doenças em plantas tais como a mancha marrom, mancha borrada da folha, helmintosporiose e ponta preta dos grãos. Objetivos: Caracterizar quimicamente os antígenos das 4 amostras.  
Métodos: Foram obtidos antígenos metabólicos de 4 amostras de *B. sorokiniana* cultivados por 15 dias em meio de Smith, segundo Scroferneker (1982). Antígenos não liofilizados foram analisados para a determinação de proteínas (Lowry et alii, 1951) e carboidratos (Morris, 1948).  
Conclusões: A concentração de proteínas variou entre 570 e 1330 µg/ml e a de carboidratos entre 80 e 730 µg/ml nos antígenos metabólicos. Os carboidratos são compostos basicamente de hexoses em todos os antígenos. \*\* bolsista CNPq

DEVOLVER AO BALCAO DE EMPRESTIMO

O crescimento de fungos pode acompanhar-se as modificações na composição bioquímica de lipídeos (ácidos graxos) da membrana plasmática e que podem ser secretados no meio de cultura. Também as variações nas condições de cultivo (nutrientes, temperatura, pH) podem alterar o tipo de ácido graxo produzido. A análise do perfil de ácidos graxos secretados torna-se interessante porque pode refletir o padrão fisiológico do fungo e, indiretamente, a sua suscetibilidade à ação de drogas antifúngicas. Este trabalho tem como objetivo otimizar a análise de ácidos graxos de antígenos metabólicos (secretados no meio de cultura) de quatro amostras de *Bipolaris sorokiniana*.

**Métodos e Resultados:** A fração lipídica de antígenos metabólicos de quatro amostras de *Bipolaris sorokiniana* foi preparada segundo HUNTER E ROSE (1972). Os ácidos graxos presentes foram identificados e quantificados empregando-se dois métodos de derivatização e de extração, seguidos de análise por Cromatografia Gasosa com detector por ionização em chama. No método I a metilação foi realizada com metanol e catalizada com BF<sub>3</sub>, seguida de extração com clorofórmio. No método II a metilação foi realizada com metanol, porém catalizada com o dimetoxipropano, seguido por extração com hexano. Em ambos os métodos foi possível a identificação dos ácidos graxos. Os ácidos graxos presentes em maior concentração foram principalmente o ácido palmítico (C16:1) e o ácido oleico (C18:1). As concentrações C16:1 e de C18:1 determinadas pelo método I apresentaram-se 10% superiores em relação àquelas encontradas pelo método II.

**Conclusão:** Os resultados obtidos permitem concluir que o método I apresentou maior eficácia com relação ao isolamento de ácidos graxos.

**Referências bibliográficas:**  
Hunter, K. & Rose, A.H., Biochim. Biophys. Acta 260, 639, 1972. **Apoio financeiro:** CNPq / UNISCT

**26.035**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA PARCIAL DE ANTÍGENOS METABÓLICOS DE 4 AMOSTRAS DE *Bipolaris sorokiniana*.** Mercedes Passos Geimba\*\*, Valeriano A. Corbellini, Maria Lúcia Scroferneker. (Departamento de Microbiologia, Instituto de Biociências, UFRGS).  
*Bipolaris sorokiniana* é um fungo causador de doenças em plantas tais como a mancha marrom, mancha borrada da folha, helmintosporiose e ponta preta dos grãos. Objetivos: Caracterizar quimicamente os antígenos das 4 amostras.  
Métodos: Foram obtidos antígenos metabólicos de 4 amostras de *B. sorokiniana* cultivados por 15 dias em meio de Smith, segundo Scroferneker (1982). Antígenos não liofilizados foram analisados para a determinação de proteínas (Lowry et alii, 1951) e carboidratos (Morris, 1948).  
Conclusões: A concentração de proteínas variou entre 570 e 1330 µg/ml e a de carboidratos entre 80 e 730 µg/ml nos antígenos metabólicos. Os carboidratos são compostos basicamente de hexoses em todos os antígenos. \*\* bolsista CNPq

**Radiobiologia e Fotobiologia**

29.001 a 29.018

**29.001**

**AÇÃO DA RADIAÇÃO GAMA DE <sup>60</sup>Co SOBRE EMBRIÕES DE BIOMPHALARIA GLABRATA**

(SAY,1818). <sup>1,2</sup>MELO, A.M.M.A.\*\*; <sup>1</sup>OKAZAKI, K., <sup>2</sup>KAWANO, T. 1- Dep. Radiobiologia - IPEN/SP e 2- Lab. Biol. Celular - Inst. Butantan/SP

**Introdução e Objetivos:** Os seres vivos estão expostos à radiação ambiental de origem cósmica, em aparelhos para diagnóstico ou acidentes nucleares. Esta radiação ionizante pode induzir danos ao organismo, gerando lesões congênitas ou de transmissão vertical. Os modelos experimentais ideais para seu estudo devem ter grandes proles, de vida livre, com morfologia de fácil definição e conhecida embriogênese. Os moluscos apresentam estas características, além de existirem espécies de importância médica. Em vista disso, propusemo-nos analisar os efeitos da radiação gama de <sup>60</sup>Co sobre a *Biomphalaria glabrata*, verificando macroscopicamente morte, malformação e eclosão dos embriões, para usos na monitoração ambiental ou em controle de reservatórios.

**Métodos e Resultados:** Usamos no experimento desovas de *B. glabrata* fornecidas pelo Lab. Biologia Celular do Inst. Butantan, SP. Os espécimes foram mantidos em aquários com água deionizada, aerada, a temperatura ambiente e alimentados com alfaca fresca (*Lactuca sativa crispata*). Os embriões coletados dos aquários foram submetidos a dose de 20 e 25 Gy de radiação gama <sup>60</sup>Co da Atomic Energy of Canada LTD, modelo GC-220 do IPEN/SP (378 Gy/h.) As desovas de mesmo estágio embrionário, trocófora, véliger jovem e véliger, foram irradiadas. A contagem de embriões mortos, malformados e não eclodidos foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópico SZ-ST5 (Olympus-Japan). As malformações induzidas pela radiação (25 Gy) foram de 36,2% para trocófora, 4,2% para véliger jovem e 1,37% para véliger (20Gy), não sendo detectadas nos controles não irradiados, entretanto não houve eclosão em 61,8% de trocófora, 80,5% véliger jovem e 57% véliger irradiados. Os embriões malformados não chegam a eclodir morrendo dentro da cápsula do ovo dias após da irradiação (~19 dias para trocófora irradiada).

**Conclusão:** verificamos que a radiosensibilidade dos embriões está diretamente ligada com o estágio de desenvolvimento embrionário onde ocorre a exposição. Como não foram identificadas malformações e houve inibição de eclosão na maioria dos embriões irradiados, existe a possibilidade de dano somático no sistema de eclosão, cujo mecanismo deve ser explorado.

**Apoio financeiro** IB, IPEN/CNEN/SP, CAPES e CNPq

**29.002**

**ANTICORPOS DE CAMUNDONGOS CONTRA PROTEÍNAS DE MEMBRANAS DE HEMÁCIAS HUMANAS IRRADIADAS POR <sup>60</sup>Co RECONHECEM PREFERENTEMENTE SUPERFÍCIE DE HEMÁCIAS IRRADIADAS ÍNTEGRAS.** Amancio, F.F.\*\*; <sup>2</sup>Cardoso, R.P.A. & <sup>2</sup>Andrade Jr., H.F. - 1-Depto. Biofísica e Radiobiologia, UFPE, 2-Lab. Protozoologia/IMTSP e S. Radiobiologia IPEN/SP

**Introdução e Objetivos:** A radiação gama apresenta vários usos pacíficos pela sua comprovada ação modificadora de proteínas e ácidos nucleicos. Seu uso criterioso não é isento de riscos e apresenta uma quantificação efetiva difícil nas doses usadas em terapia. As hemácias são as células circulantes mais abundantes, sendo ideais para uma mensuração mais efetiva do dano ou efeito da radiação. Outra vantagem é a simplicidade de sua membrana com poucas e caracterizadas proteínas de superfície. A radiação age sobre proteínas pela ação de radicais livres consequentes a radiólise da água, com reações oxidativas, de quebras de pontes dissulfeto e ligações intra- e inter-moleculares. Aqui analisamos a ação da radiação gama de <sup>60</sup>Co sobre proteínas de membranas de hemácias humanas, através de estudos bioquímicos e imunológicos, visando a obtenção de anticorpos capazes de identificar os danos induzidos pela radiação.

**Métodos e Resultados:** Membranas de hemácias humanas A Rh<sup>+</sup> foram obtidas por lise hipotônica e centrifugação diferencial. Sua pureza foi avaliada pela migração de proteínas em SDS-PAGE. Hemácias lavadas e membranas purificadas foram submetidas à radiação gama de <sup>60</sup>Co em doses de 1600Gy em ar e temperatura ambiente, a uma taxa de dose 0,391kGy/h, em uma GammaCell 220. As hemácias não apresentaram hemólise significativa. Por SDS-PAGE, modificações radioinduzidas como formação de agregados e desaparecimento de bandas em função da dose foram observadas nas preparações de membrana irradiada, em uma forma dose-dependente. Camundongos Balb/C foram imunizados com doses quinzenais sc de 50 µg de proteínas de membranas irradiadas a 1600 Gy. Após 60 dias, os camundongos foram sangrados por via caudal e anticorpos detectados contra hemácias íntegras, irradiadas ou não, por imunofluorescência indireta, utilizando-se como revelador anti-IgG de camundongo conjugado a fluoresceína. Dos dois comportamentos reprodutíveis observados, um apresentava títulos baixos para ambas as preparações antigênicas (<160) enquanto a maioria dos animais apresentava títulos elevados (>160) para hemácias irradiadas, com reação fraca (<50) para hemácias nativas.

**Conclusões:** Os resultados indicam que anticorpos induzidos em camundongos por proteínas de membranas de hemácias humanas purificadas e irradiadas são capazes de reconhecer preferencialmente hemácias íntegras irradiadas. Assim, a ação da radiação gama sobre as proteínas purificadas de membrana poderiam promover a formação de novos epitopos, que estariam, também presentes na superfície de hemácias irradiadas.

**Apoio Financeiro:** CAPES-PICDT, LIMHCFMUSP49 e IPEN/CNEN/SP

**29.003**

**ESTUDO DO MECANISMO DE DANOS PRODUZIDOS EM CÉLULAS DE MÚSCULO LISO LONGITUDINAL DE ÍLEO DE COBAIA QUANDO IRRADIADAS COM FOTONS DE ALTA ENERGIA.** Santos, S.C.\*\*; Pereira, A.J.<sup>1</sup>; Raapalainen, E.F.<sup>1</sup>; Ferreira, A.T.<sup>1</sup>. Depto. Biofísica-UNIFESP EPM, C.P. 20388, 04034-970 São Paulo, SP.

**Objetivo:** Observar o efeito da radiação ionizante em células radioresistentes de músculo liso longitudinal de intestino delgado de ileo de cobaia (CMLL).

**Métodos e Resultados:** As CMLL foram irradiadas com radiação ionizante cuja energia média é de 1,25 MeV e doses da absorção que variaram de 1000 à 5000 cGy. Mediu-se os radicais livres pelo método de Ohkawa e col. (1975) e J.A. Buege (1978), com a formação de um aldeído malondialdeído (MDA), produzido pela peroxidação lipídica das membranas celulares. Di Corleto e col. (1984). O aumento da peroxidação lipídica foi notória para doses acima de 4000 cGy com 40% de MDA formado em relação a um controle. Comparou-se este resultados com a viabilidade celular medida pelo método tripan blue e este comparou-se com a liberação da enzima desidrogenase láctica (LDH), que é uma enzima produzida intracelular e que age nos espaços extracelular e fluidos cuja atividade está envolvida com a necrose do tecido e com neoplasias e estados patológicos. Weirberg & Adder (1964). A determinação da atividade de LDH é feita espectrofotometricamente, Warberg (1938) onde foi constatado a liberação de LDH correlacionada com a dose absorvida de ftons, na forma crescente pelo método modificado de F.W. Roblewski & Ladue (1954) e J.F. Wytaker (1968). A unidade da atividade de LDH é dada por Henry e col. (1960). O com portamento funcional destas células foi obtido estudando-se a sua resposta ao agonista peptídico Angiotensina-II (A-II) Farber (1992), que tem como segundo mensageiro o ion cálcio. O aumento do cálcio citosólico (Ca<sub>i</sub>), determinado através do indicador óptico fura-2 pelo método usado fluorimétrico de Gryniewicz e col. (1985), induzido pela ação da A-II utilizando o fura-2 como fluoróforo. Observou-se uma redução da