

Identificou atrofia tímica apenas em uma das camundongos fêmeas. No presente estudo, visando uma maior compreensão da histofisiologia tímica em animais portadores de neoplasia em camundongos fêmeas de Ehrlich em condições semelhantes às dos doentes humanos, foram utilizados 45 camundongos fêmeas com 50 dias de idade, divididos em controle negativo, controle positivo e grupo tratado no peritônio com uma suspensão de células tumorais de Ehrlich, um carcinoma mamário transplantável de camundongos fêmeas. Os animais foram sacrificados aos 7, 14 e 21 dias de experimento, colhendo-se o timo que foi pesado e imerso em solução de Carnoy, sendo posteriormente realizados cortes corados pelos métodos de H/E, Gordon & Sweets e Picrosirius. A quantificação do crescimento tumoral foi realizada através de mensuração da celularidade do líquido ascítico em câmara de Neubauer. Identificou-se progressiva involução tímica em paralelo ao crescimento tumoral, mais acentuada no segundo e terceiro períodos experimentais. Em região cortical observou-se queda na celularidade, particularmente por depleção de tímocitos. Em região medular identificou-se dessanranjo arquitetural progressivo com o predomínio de células epiteliais pleomórficas. Não foi evidenciada metastatização tumoral para o timo.

Conclusões: O desenvolvimento de tumor de Ehrlich na forma ascítica induziu marcante atrofia tímica em camundongos, com alteração da relação córtex/medula, caracterizada pela depleção linfocitária cortical e distorção na arquitetura epitelial medular.

28.019

INFLAMMATION AND RESISTANCE TO EHRlich ASCITES TUMOR **Bergami, P.C.; Mariano, M.; Barbuti, J.A.M. Department of Immunology, ICB, USP, Brazil.

Objectives: We have previously reported that Swiss mice show a higher susceptibility to the development of Ehrlich Ascites Tumor (EAT) than mice of hybrid strain CAF1 (Balb/c x A/J). In this work we describe the inflammatory reaction induced by EAT in mice of both strains.

Methods and Results: Groups of 10 mice of each strain were injected ip with either EAT (1.5×10^5 cells/mice), glycogen 5% and Phosphate Buffer Saline. After 6 and 24 hours, 5 mice of each group were killed and peritoneal cells obtained, counted and analyzed as to spontaneous and PMA-induced hydrogen peroxide production. Six hours after stimulus, mice of the Swiss strain (Susceptible) showed a more intense inflammatory response to both EAT and glycogen than mice of the CAF1 strain (resistant). This was noted by the higher total cell counts (2.5×10^5 cells/mice after glycogen injection), higher number of polymorphonuclear cells (4.5×10^5 cells/mice after EAT injection) and by higher levels of H_2O_2 production (20 nmoles after EAT injection and 110 nmoles after glycogen injection) by cells obtained from Swiss mice, contrasting with the maintenance or low decrease observed in CAF1 mice.

Conclusion: These data suggest that an initial strong response to tumor cells does not correlate with resistance to tumor growth (as occurs in the susceptible Swiss mice). Rather, resistance to EAT growth could be related to the ability of hosts to sustain an inflammatory response to the tumor, as observed in CAF1 mice.

Radiobiologia e Fotobiologia

29.019 a 29.031

29.019

AValiação DA LESÃO RADIOINDUZIDA NO DNA DE LINFÓCITOS HUMANOS PELO MÉTODO DO

COMETA ("SINGLE CELL GEL ASSAY"). Nascimento, P.A. e Okazaki, K. Supervisão de Radiobiologia, IPEN-CNEN/SP, SP.

Objetivos: O método do Cometa ("Single cell gel assay"), também chamado de microeletroforese de gel, permite visualizar diretamente as lesões induzidas no DNA por agentes genotóxicos em nível de células individuais. O presente trabalho consiste em desenvolver o método do Cometa em linfócitos periféricos humanos, irradiados com várias doses de radiação gama, objetivando na construção de curvas dose-resposta para dosimetria biológica e biomonitoramento populacional.

Métodos e Resultados: As amostras sanguíneas de doadores saudáveis, ambos os sexos, não fumantes, foram coletadas, fracionadas e irradiadas numa fonte de ^{60}Co GAMMACELL 220, nas doses únicas de 10 a 400 cGy (1 Gy/min.), na presença de O_2 e à temperatura ambiente. Foi utilizada a técnica de eletroforese alcalina descrita por Hartmann, A. and Speit, G. (Mutat. Res., 346: 49-56, 1995) com algumas modificações. As amostras sanguíneas (5 μ l) foram embebidas entre duas camadas de gel de agarose, submetidas a lise e expostas ao álcali para desenvolvimento da fita de DNA e expressão de sítios álcali lábeis. A seguir, as células foram submetidas à corrida eletroforética (25V, 300mA), neutralizadas e coradas com brometo de etídio para análise de imagem ao microscópio de fluorescência equipado com filtro de excitação de 515-560nm e filtro de barreira de 590nm. As imagens resultantes foram medidas por meio da escala calibrada na ocular do microscópio. Foram analisadas imagens de 50 células escolhidas ao acaso para cada dose de radiação. Para cada célula, o comprimento da imagem (diâmetro do "núcleo" mais distância de migração de DNA da cauda) foi medido em um aumento de 200 vezes. Ensaios preliminares realizados mostraram que houve um aumento na distância de migração de DNA do "núcleo" em direção ao ânodo em função da dose de radiação, mostrando estreita relação entre o comprimento da imagem e a magnitude do dano ocorrido no DNA.

Conclusão: Pode-se concluir que o método do Cometa é relativamente simples, rápido e de boa sensibilidade que permite quantificar as radiolesões induzidas no DNA em nível de células individuais, além de apresentar outras vantagens intrínsecas do método: requer uma quantidade pequena de células, relativa facilidade na obtenção de dados e não requer proliferação celular.

Apoio Financeiro: CNPq

29.020

EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO COM PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO EM CÉLULAS DE *Escherichia coli* TRATADAS COM CUMENO HIDROPERÓXIDO. Asad, L.M.B.O**, Silva, A.B., Asad, N.R. e Leitão, A.C. Lab. Rad. Molecular-IBCCF-UFRJ-RJ.

Objetivos: Pré-tratamento com concentrações micromolares de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) induz a síntese de um grupo de proteínas, controlado pelo sistema OxyR, em *E. coli* e *S. typhimurium*, entre estas a alquil hidropéroxido redutase (Ahp). A Ahp é uma enzima que atua reduzindo peróxidos orgânicos, como o cumeno hidropéroxido (CH). Desta forma, células de *E. coli* pré-tratadas com concentrações micromolares de H_2O_2 ficam protegidas contra os efeitos letais do CH. Contudo, *in vitro*, concentrações milimolares de H_2O_2 inativam a enzima Ahp. Com objetivo de avaliar se este efeito ocorreria *in vivo*, causando um efeito sinérgico entre H_2O_2 e o CH, células selvagens de *E. coli* foram pré-tratadas com 2,5 mM de H_2O_2 e posteriormente tratadas com diferentes concentrações de CH.

Métodos e Resultados: Os resultados mostram que um efeito sinérgico não é observado, ao contrário, células pré-tratadas com H_2O_2 ficam protegidas contra os efeitos do CH. Este efeito não é causado pela indução do sistema OxyR, já que no mutante *oxyR* também observamos este efeito. No entanto, este efeito não é observado no mutante

deficiente em Ahp. É sabido que o H_2O_2 é capaz de alterar diversas proteínas na célula. Com o objetivo de verificar se o H_2O_2 em concentrações milimolares estaria alterando a Ahp *in vivo*, as proteínas de extratos celulares de *E. coli* foram separadas em géis de poliacrilamida-SDS. Os resultados mostram que as células tratadas com 2,5mM de H_2O_2 apresentam alteração em uma banda proteica de 22kD, correspondente ao peso molecular da subunidade menor de Ahp. Contudo, concentrações micromolares de H_2O_2 não causam esta alteração. Além disto, esta alteração não é observada no mutante deficiente em Ahp.

Conclusões: Estes resultados sugerem que esta alteração possivelmente está relacionada ao efeito protetor observado quando as células são pré-tratadas com 2,5mM de H_2O_2 e posteriormente tratadas com CH.

Auxílio financeiro: FINEP, CNPq, CEPEG-UFRJ.

29.021

EFEITO DA INTERAÇÃO ENTRE A AÇÃO FOTODINÂMICA DO AZUL DE METILENO E UVC (254 nm) NA REATIVAÇÃO WEIGLE EM *E. COLI* K12AB1157. Charão, C.C.T. Dept. Ciências Fisiológicas UFSC, Menezes, S. IBCCF, UFRJ.

Introdução: A ação fotodinâmica (AF) é um processo de fotooxidação de moléculas quando um sensibilizador é iluminado em presença de oxigênio molecular. Nossos estudos indicam que a AF do azul de metileno (AM) interfere na Reativação Weigle (RW). Neste trabalho procuramos averiguar se há alguma modificação na inibição da RW pela AF-AM quando invertemos a ordem dos tratamentos empregados na hospedeira e permitimos que decorra algum tempo entre os tratamentos.

Metodologia: As culturas bacterianas foram incubadas com 2 μ g/ml de AM a 42°C por 60 min, iluminadas com lâmpada branca Madzdar F150W 250V, irradiadas com 254nm com uma lâmpada UV germicida GE30T8-30W e infectadas com o bacteriófago λ 15 irradiado com UV. A ordem dos tratamentos foi invertida e dado um intervalo de tempo com incubação por até 240 min entre os mesmos.

Resultados: Nossos resultados indicam que: a) AF-AM inibe a RW; b) O efeito inibitório ocorre independente da ordem dos tratamentos; c) a inibição da RW é permanente quando primeiro tratamos a hospedeira com AF, incubamos por até 240 min em TF e então irradiamos. Já quando a cultura é incubada em meio rico entre a AF e UV, a inibição é permanente enquanto não ocorre divisão celular (no caso 90 min) mas diminui a medida que aumenta o número de células indicando que as células-filhas não apresentam mais os efeitos inibitórios da AF. d) A inibição da RW também é permanente quando as culturas são primeiramente irradiadas, incubadas por até 60min e então tratadas com AF.

Conclusão: O efeito inibitório da AF-AM na RW é constante mesmo quando a cultura tem condições de síntese proteica e mesmo quando a cultura é pré-tratada com UV e as funções SOS são induzidas. Talvez a AF possa agir também (ou somente) nos estágios finais da expressão SOS como na transcrição e/ou tradução da mesma.

Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ e FINEP.

29.022

AValiação DOS EFEITOS BIOLÓGICOS INDUZIDOS PELO CLORETO ESTANOSO ($SnCl_2$), ASSOCIADO AO ÁCIDO GLUCOHEPTÔNICO (AGH), EM *Escherichia coli* AB 1157 E PLASMÍDEO PUC 9.1 Assis, M.L.B.; Dantas, F.J.S.; De Mattos, J.C.P.; Caldeira-de-Araújo, A. e Bernardo-Filho, M. Departamento de Biofísica e Biometria - Instituto de Biologia, UERJ/Rio de Janeiro

Objetivos: A grande utilização do íon estano em vários setores da atividade humana, em particular naqueles relacionados à medicina nuclear, onde se encontra associado a outros agentes químicos ("kits" ou jogo de reativos), exige um aprofundamento dos

IPEN - DOC - 2932

11ª Reunião Anual da Federação de Biologia Experimental, Caxambu, 24 de Agosto, 1996

IPEN/CNEN-SP
BIBLIOTECA
Produção Científica 313