

EFEITO IMUNOSSUPRESSOR DOS GANGLIOSÍDEOS: ESTUDO "IN VIVO"

Castro LC [1](#),
Barbieri CL [2](#),
VON Kossel K [3](#),
Nigro AJT [4](#),
Montero EFS [5](#)

Castro LC, Barbieri CL, Von Kossel K, Nigro AJT, Montero EFS. Efeito imunossupressor dos gangliosídeos: estudo "in vivo". Acta Cir Bras 2000; 15 (Supl 1):11-4.

RESUMO: Imunomodulação mais específica e eficaz é uma meta importante a ser atingida na área de órgão. Neste sentido, foi estudado previamente o papel imunomodulador dos gangliosídeos "in vitro". No presente trabalho objetivou-se avaliar este efeito agora "in vivo", mimetizando a situação do transplante alogênico. Foram utilizados 26 ratos Wistar 1 EPM, machos, com 3 meses de idade, pesando cerca de 250g, procedentes do Centro de Desenvolvimento de Pesquisa Experimental em Medicina e Biologia. Os animais foram mantidos por 5 dias, para adaptação, no biotério setorial da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UNIFESP-EPM, recebendo água e ração própria para a espécie. Os animais foram distribuídos em grupos conforme segue: grupos experimento (que receberam 1, 3 e 6 mg/kg/dia de gangliosídeos) e um grupo controle que recebeu veículo, todos por via intramuscular durante 7 dias consecutivos. No 8º dia, com os animais anestesiados com éter etílico foi feita a remoção cirúrgica do baço de todos os animais, os quais foram sacrificados por exsanguinação, ainda sob efeito anestésico. Os baços removidos foram processados para a obtenção de linfócitos os quais foram cultivados em placa de cultura com 96 poços, distribuídos da seguinte forma: $1,5 \times 10^5$ linfócitos viáveis de cada animal dos grupos experimento e controle foram cultivados com $1,5 \times 10^5$ linfócitos viáveis de um rato não tratado, sendo assim realizada a reação mista de linfócitos. Os linfócitos provenientes dos animais dos grupos controle e 1 mg apresentaram aumento da proliferação sem nenhuma alteração. Por outro lado, foi observada uma taxa de inibição ao redor de 70% sobre a proliferação linfocitária dos animais dos grupos 3 e 6 mg comparados aos animais dos grupos controle e 1 mg. O resultado desta investigação estimula a utilização dos gangliosídeos no tratamento da rejeição alogênica.







DESCRITORES: Glicolipídeos. Rato. Imunomodulação.

INTRODUÇÃO



O principal obstáculo ao sucesso do transplante de órgãos tem sido a rejeição ao aloenxerto. Uma maneira de se contornar este obstáculo é a utilização de drogas imunossupressoras para controlar esta rejeição. A

Services on Demand

Article





-  Article in xml format
-  Article references
-  How to cite this article
-  Curriculum ScienTI
-  Automatic translation
-  Send this article by e-mail

Indicators

-  Cited by SciELO
-  Access statistics

Related links

Share

-  More 
-  More
-  Permalink

investigação destas drogas em pesquisas experimentais faz-se necessária, uma vez que ainda não se atingiu o controle da rejeição alogênica nos transplantes.

Desta forma, tem surgido novas drogas, sendo que algumas atingiram inclusive aplicação clínica. Entretanto, apesar de todo o avanço na área do controle da rejeição, as drogas existentes ainda não obtiveram sucesso total no controle desta, além de causarem vários efeitos colaterais, alguns deles muito graves. Por esse motivo, tem sido constante a busca por novas drogas com maior eficácia e com menos efeitos colaterais.

Neste sentido, em nosso laboratório tem-se estudado a ação imunomoduladora dos glicosíngolipídeos (GSLs). Estes despertaram interesse por apresentarem algumas características relevantes: ser um componente integrante da membrana plasmática das células eucarióticas e pela sua ação imunomoduladora: no reconhecimento, sinalização e diferenciação celular, além da inibição da proliferação de linfócitos B e T, processos estes envolvidos na rejeição pós-transplante alogênico (Ryan & Shinitzky, 1979, MARCUS, 1984 e HAKOMORI, 1990).

Em estudos anteriores os GSLs mostraram inibir a linfoproliferação e a produção de IL-2 de ratos "in vitro" (MONTERO e col., 1994). Em nosso laboratório tem-se estudado a ação imunomoduladora de um subtipo de GSL, os gangliosídeos (Gang), que apresentam como característica a presença de um ou mais resíduos de ácido siálico em sua cadeia. Já foi demonstrada a sua ação imunomoduladora sobre linfócitos de ratos "in vitro", além de não provocar alterações morfológicas no rim e intestino delgado quando usado subagudamente (MONTERO e col., 2000).

Neste trabalho objetivou-se estudar a ação imunomoduladora dos gangliosídeos numa situação que mimetiza a situação do transplante alogênico.

MÉTODOS

Foram utilizados 26 ratos Wistar 1 EPM, machos, com 3 meses de idade, pesando cerca de 250g, procedentes do Centro de Desenvolvimento de Pesquisa Experimental em Medicina e Biologia. Os animais foram mantidos por 5 dias, para adaptação, no biotério setorial da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UNIFESP-EPM, recebendo água e ração própria para a espécie. Os animais foram distribuídos em grupos conforme segue: grupos experimento (que receberam 1, 3 e 6 mg/kg/dia de gangliosídeos) e um grupo controle que recebeu veículo, todos por via intramuscular durante 7 dias consecutivos. No 8º dia, com os animais anestesiados com éter etílico foi feita a remoção cirúrgica do baço de todos os animais, os quais foram sacrificados por exsanguinação, ainda sob efeito anestésico. Os baços removidos foram processados para a obtenção de linfócitos os quais foram cultivados em triplicata em placa de cultura com 96 poços, distribuídos da seguinte forma: $1,5 \times 10^5$ linfócitos viáveis de cada animal dos grupos experimento e controle foram cultivados com $1,5 \times 10^5$ linfócitos viáveis de um rato não tratado, sendo assim realizada a reação mista de linfócitos.

Estas células foram cultivadas por 96 horas, sendo que 18 horas antes do término era pulsada timidina tritiada para posterior contagem no contador beta cintilográfico. Os dados foram coletados em CPM e convertidos em porcentagem de inibição, como descrito anteriormente.

RESULTADOS

Os linfócitos provenientes dos animais dos grupos controle e 1 mg apresentaram aumento da proliferação. Por outro lado, foi observada uma taxa de inibição ao redor de 70% sobre a proliferação linfocitária dos animais dos grupos 3 e 6 mg comparados aos animais dos grupos controle e 1 mg ([Figura 1](#)).

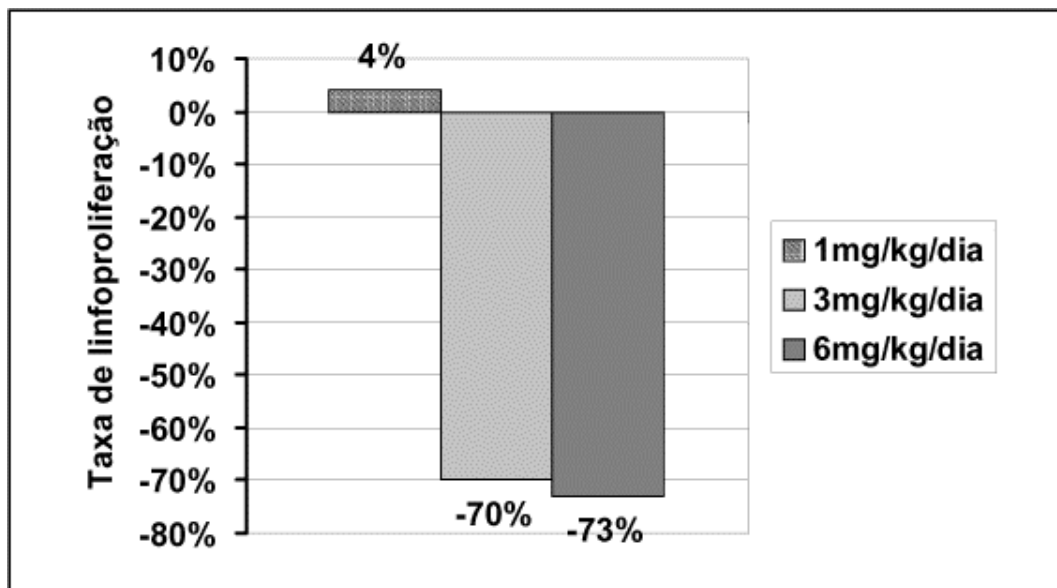


Fig.1- Taxa de linfoproliferação segundo a dose diária de gangliosídeo.

DISCUSSÃO

O efeito imunomodulador apresentado por GSLs neutros e Gang mostraram um comportamento diferente, uma vez que os GSLs inibem a linfoproliferação de uma maneira dose-dependente¹, enquanto o Gang estimulou a proliferação linfocitária quando presente numa dose baixa e promoveu uma inibição desta nas outras doses mais elevadas. Em estudos anteriores, observou-se diferenças na inibição da linfoproliferação quando em presença de GSLs extraídos de órgãos tais como, testículo e cérebro. Uma hipótese que pode explicar este comportamento é a diferença na composição dos GSLs presentes nestes órgãos, pois o cérebro apresenta uma maior concentração de Gang quando comparado ao testículo¹. Desta forma, verificar mais detalhadamente a ação dos componentes de glicolipídeos obtidos de diferentes órgãos sobre a linfoproliferação passou a ser importante. A conotação imunomoduladora apresentada pelos gangliosídeos abre perspectivas para a investigação do seu comportamento ao ser empregado como uma droga imunomoduladora no transplante alogênico de órgãos.

CONCLUSÃO

Os gangliosídeos apresentam um efeito estimulador da linfoproliferação em dose baixa e um efeito inibitório nas doses mais elevadas utilizadas, caracterizando, desta forma, um papel imunomodulador dos Gang sobre linfócitos estimulados por células alogênicas.

REFERÊNCIAS

1. Montero EFS; Barbieri CL; Giorgio S; Garcez-Silva MH; Sato H; Goldenberg S; Straus AH; Takahashi HK; Koh IHJ. Immunomodulatory effects of Glycosphingolipids on lymphoproliferation and IL-2 production in rodents. *Transplant Proc* 1994; 26:1597-8. [[Links](#)]
2. Montero EFS, Von Kossel K, Castro LC, Ferreira R, Marinho LC, Nigro AJT (2000) Kidney and small intestine Morphologic aspects following systemic use of gangliosides. *Transplant Proc* 2000; 32: no prelo. [[Links](#)]
3. Hakamori S .Bifunctional role of Glycosphingolipids. *J Biol Chem* 1990;265:18713-6. [[Links](#)]
4. Marcus DM. A review of immunogenic and immunomodulatory properties of glycosphingolipids. *Mol Immunol* 1984;21:1083-91. [[Links](#)]
5. Giorgio S; Jasiulionis MG; Straus AH; Takahashi HK; Barbieri CL. Inhibition of mouse proliferative response by Glycosphingolipids from *Leishmania (L.) amazonensis*. *Exp Parasitol* 1992;75:119-25. [[Links](#)]
6. Ryan JL; Shinitzky M (1979) Possible role for glycosphingolipids in the control of immune responses. *Eur J Immunol* 9:171-5. [[Links](#)]

¹ Aluno de Graduação em Medicina vinculado ao Programa de Iniciação Científica da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental – UNIFESP-EPM.

² Professora Doutora Adjunto da Disciplina de Parasitologia – UNIFESP-EPM.

³ Aluna de Graduação em Medicina vinculado ao Programa de Iniciação Científica da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental – UNIFESP-EPM.

⁴ Professor Titular do Departamento de Cirurgia - Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental- UNIFESP-EPM.

⁵ Professora Adjunto do Departamento de Cirurgia - Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental – UNIFESP-EPM.



**Al. Rio Claro, 179/141
01332-010 São Paulo SP Brazil
Tel./Fax: +55 11 3287-8814**



sgolden@terra.com.br