

ESTUDO DE TOXINAS IRRADIADAS COM RADIAÇÃO GAMA DE ^{60}Co - COMPORTAMENTO DO SISTEMA IMUNE

Priscila Caproni e Nanci do Nascimento

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares / Centro de Biologia Molecular

INTRODUÇÃO

A radiação ionizante consiste de ondas eletromagnéticas formadas por transições nucleares. Seus efeitos podem ser diretos ou indiretos. O primeiro é uma consequência da interação com componentes celulares como as proteínas. O efeito indireto se dá quando a radiação interage com moléculas de água presentes no meio intracelular, produzindo os chamados radicais livres. As alterações estruturais na molécula protéica acarretam mudanças nas suas propriedades enzimáticas, farmacológicas e imunológicas, sendo estas últimas as mais radioresistentes [1,2].

Venenos de serpentes são misturas complexas de proteínas, muitas destas com propriedades tóxicas, e que apresentam inúmeros efeitos bioquímicos, imunológicos e farmacológicos. No intuito de diminuir a toxicidade de venenos totais ou frações isoladas dos mesmos, a radiação gama (^{60}Co) se mostra muito eficaz por conseguir destoxificar essas proteínas, mantendo a capacidade das mesmas de induzir uma resposta imunológica [3,4].

O sistema imune é constituído por células e moléculas altamente especializadas no combate a agentes infecciosos, havendo dois tipos fundamentais de resposta imune: a inata e a adaptativa. Ambas, dependem da atividade dos leucócitos. A imunidade inata é mediada, principalmente, por granulócitos e macrófagos e as adaptativas são mediadas por linfócitos, que proporcionam a imunidade duradoura, que ocorre após exposição à doença ou vacinação [5,6].

Considerando-se que inúmeras pesquisas têm revelado o poder da radiação em modificar proteínas, melhorando seu potencial imunológico, e que estudos recentes indicaram a predominância de uma resposta de células Th1 para proteínas irradiadas, uma avaliação das citocinas envolvidas na resposta imunológica gerada contra uma proteína irradiada é de extrema importância,

principalmente nos casos onde a substância é um mau imunógeno.

OBJETIVO

Avaliar a resposta imune de camundongos imunizados com toxinas irradiadas com 2000Gy de radiação gama de ^{60}Co .

METODOLOGIA

O primeiro passo foi a irradiação da bothropstoxina-1 (BTHX-I). Em seguida, realizou-se uma eletroforese, em gel de poliacrilamida a 15%, para verificar prováveis modificações estruturais. Posteriormente, camundongos, divididos em grupos, foram imunizados com a toxina na forma nativa ou irradiada. O sangue destes animais foi colhido em determinados intervalos de tempo, o plasma foi separado e submetido ao processo de ELISA para a avaliação da produção de anticorpos.

RESULTADOS

Foi feita a eletroforese, em gel de poliacrilamida a 15%, da BTHX-1 nas formas nativa e irradiada (FIG.1).

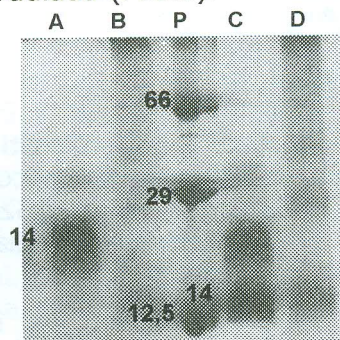


FIGURA 1 - Eletroforese em gel de poliacrilamida 15%. (A) BTHX-I nativa não reduzida; (B) BTHX-I irradiada não reduzida; (C) BTHX-I nativa reduzida; (D) BTHX-I irradiada reduzida. Padrão de peso molecular (P).

Observando os perfis das toxinas irradiadas FIG.1 verificamos que houve a formação de bandas de maior peso molecular.

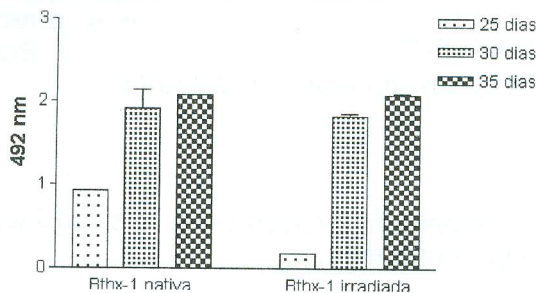


FIGURA 2 - Ensaio imunoenzimático para a avaliação da produção de anticorpos contra BTHX-1 nativa e BTHX-1 irradiada. Diluição do soro: 1/800.

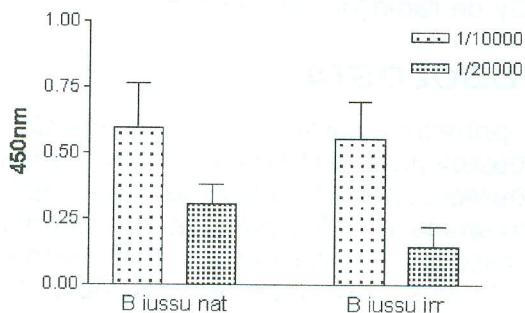


FIGURA 3 - Ensaio imunoenzimático para a avaliação da produção de anticorpos específicos contra veneno total de *Bothrops jararacussu*, nativo ou irradiado.

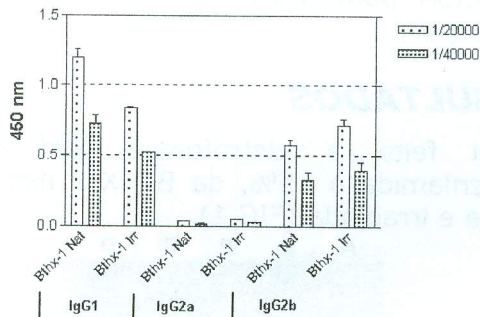


FIGURA 4 - Ensaio imunoenzimático para a avaliação da produção de anticorpos específicos (IgG1, IgG2a, IgG2b) contra BTHX-1 nativa ou irradiada.

Na FIG.2 e na FIG.3 pode ser observado que a BTHX-I e o veneno total de *Bothrops jararacussu*, nas formas nativa e irradiada, apresentaram densidade óptica detectável. Na FIG.4 observa-se que a BTHX-I, na forma nativa, apresentou títulos de anticorpos maiores que a proteína na forma irradiada para a dosagem de IgG1, e que a forma irradiada da proteína, mostrou títulos

superiores aos apresentados pela proteína na forma nativa para a dosagem de IgG2a e IgG2b.

CONCLUSÕES

A radiação γ de ^{60}Co , na dose de 2000 Gy causou alterações na molécula de BTHX-1 e do veneno total de *Bothrops jararacussu*.

BTHX-1, na forma irradiada, foi capaz de induzir resposta do sistema imune nos animais utilizados e os anticorpos formados reconheceram a toxina na forma nativa.

A resposta imunológica produzida contra a BTHX-1 irradiada foi predominantemente do tipo Th1.

A ativação preferencial de células Th1 ou Th2 depende, dentre outros fatores, se o antígeno está na forma nativa ou irradiada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Grosh, DS & Hoopywood, LE, (1979), *Biological effects of radiation*, 2nd ed., New York, Academic Press
- [2] Baptista, JÁ, (2004), Aspectos da Resposta Imune Frente a Antígenos Protéicos Irradiados com ^{60}Co . São Paulo, 47p. (Dissertação de Mestrado - IPEN-CNEN/SP).
- [3] Magalhães, RA, Ribeiro, MMF, Rezende, NA and Amaral, CFS, (1986), Rabdomiólise secundária a acidente crotálico (*Crotalus durissus terrificus*). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 28:228-233.
- [4] Nascimento N, (1995), *Caracterização bioquímica e imunológica dos principais produtos gerados pela irradiação de crotoxina*. São Paulo, 77p. (Tese de Doutorado- IPEN-CNEN/SP).
- [5] Delves, PJ & Roitt, IM, (2000), The immune System - First of two parts. *Advances in Immunology*, 343: 37-49.
- [6] Janeway CA, Travers, MW, Shlomchik, M, (2002), *Imunobiologia - O Sistema imune na Saúde e na Doença*. Artmed Editora, 767p.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

CNEN/PROBIC