

DETECÇÃO NA PRODUÇÃO DE ANTICORPOS FRENTE A DIFERENTES ADJUVANTES.

Alessandra Leite¹; Ana Amélia F. Bevilacqua¹; Kélin Maria Rennó Teixeira¹; Mônica Renata Reinaldo¹; Maria Angélica Gargione Cardoso²

¹Curso de Graduação em Biomedicina. Faculdade de Ciências da Saúde (FCS). Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP). Av. Shishima Hifumi, 2.911 – Urbanova, São José dos Campos – SP, Brasil, 12244-000. Fone: +55 12 3947-1000

²Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D). Laboratório de Imunologia. Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP). Av. Shishima Hifumi, 2.911 – Urbanova, São José dos Campos – SP, Brasil, 12444-000. Fone: +55 3947 1169 Fax: +55 3947 1121 magcard@univap.br

Resumo - Imunidade significa proteção contra doenças infecciosas e sua resposta coletiva e coordenada à introdução de antígeno (substâncias estranhas) no organismo é chamada de resposta imune, que inclui a formação de anticorpos. Com isso propusemos um ensaio onde foram feitas imunizações em camundongos com albumina bovina (BSA) variando-se a substância adjuvante. O adjuvante completo de Freund (ACF) e vaselina líquida (VL) em emulsão com a BSA foram aplicadas em 2 grupos de camundongos para a obtenção de anticorpos específicos. Para a verificação dos resultados foi realizada a técnica de imunodifusão dupla a partir dos soros coletados dos animais. O ACF foi mais eficaz.

Palavras-chave: Albumina, Adjuvante, Antígeno, Anticorpo, Imunodifusão.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas.

Introdução

Historicamente, a imunidade significa proteção contra doenças infecciosas. As células e moléculas responsáveis pela imunidade constituem o sistema imune, e sua resposta coletiva e coordenada à introdução de substâncias estranhas no organismo é chamada resposta imune.

Existem dois tipos de imunizações. Pode ser natural, que é aquela que todos os seres normais têm que protegem as pessoas contra infecções e doenças, e as imunizações adquiridas por vacinas ou soros. Uma das funções do sistema imune é a produção de proteínas que contribuem para a proteção contra as substâncias estranhas. Essas proteínas são chamadas de anticorpos, conhecidas como imunoglobulinas (ROITT *et al.*, 2001)

Os antígenos são substâncias que não são reconhecidas pelo sistema imunológico como próprio do corpo. Um antígeno pode ser uma bactéria ou um fragmento dela, um vírus ou até uma substância qualquer. Quanto mais estranha a substância, mais imunogênica ela se torna.

A Albumina é uma proteína presente em quase todos os seres vivos, porém diferenciada em cada espécie. Quando esta é aplicada em espécie diferente, é reconhecida como um corpo estranho (antígeno) produzindo assim uma resposta imune.

Para aumentar as respostas imunes são utilizados aditivos junto com os antígenos, os adjuvantes. Eles permitem a liberação do antígeno

no organismo do hospedeiro de forma gradual e por um período de tempo prolongado, conferindo imunidade mais duradoura (BENJAMINI *et al.*, 2002; JANEWAI & TRAVERS, 1997)

Entre eles o que mais se destaca é o ACF que consiste em uma emulsão de água e óleo adicionada de *Mycobacterium tuberculosis*.

O presente experimento tem como finalidade realizar alguns testes para avaliar a produção de anticorpos sobre a BSA através de diferentes tipos de adjuvantes (ACF e VL) comprovando assim sua eficácia.

Materiais e Métodos

Animais Experimentais

Foram utilizados 4 camundongos da espécie Swiss (4 a 5 semanas de vida). Os animais foram condicionados no laboratório de Fisiologia e Farmacologia (IP&DII) com o consentimento do Prof^o Wellington. Foram alojados em duas caixas forradas com maravalha sendo uma contendo 3 animais e a outra contendo apenas um. Estes foram mantidos a temperatura ambiente com exaustão de ar, acesso livre a alimentação (ração e água) e ritmo normal de dia-noite.

Preparação do antígeno e imunização

Foi preparada uma solução estoque de BSA a 2 mg/mL. Em seguida foram preparadas duas misturas de BSA com AFC ou VL v/v.

Foi aplicada em cada animal 200 μ L da mistura de BSA+AFC ou BSA+VL pela via intraperitoneal num total de 5 animais.

As aplicações foram feitas semanalmente durante 4 semanas em todos os animais.



Figura 1– Imunização dos camundongos por via intraperitoneal.

Após esse período os animais foram sacrificados e sangrados. O sangue foi centrifugado a 1000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente para a obtenção do soro.

Detecção de anticorpos por Imunodifusão Dupla

Foi preparada um gel de agarose (1%) com água destilada e colocada em Placas de Petri. Nelas foram feitos 2 orifícios, um contendo o soro de cada animal e o outro com o antígeno (BSA). As placas incubadas a temperatura ambiente em repouso e observadas por 24 a 48 horas para a possível formação de uma linha de precipitação (reação antígeno-anticorpo).

Resultados

O adjuvante Completo de Freund descrito na literatura é citado como um dos aditivos mais eficazes para a resposta imune, assim sendo, fizemos um teste em paralelo com a vaselina líquida.

O soro dos animais imunizados com BSA+AFC (Figura 2) formou linha de precipitação visível, no gel de agarose, a partir de 24 horas e mais evidente com 48 horas, quando submetidos a reação de imunodifusão. O soro dos animais imunizados com BSA+VL (Figura 3) não formou linha de precipitação visível, no gel de agarose, mesmo após 48 horas de incubação.

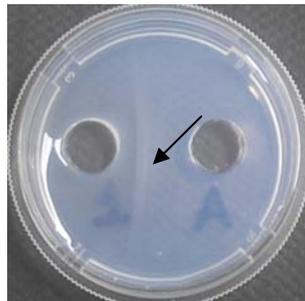


Figura 2 – Reação de Imunodifusão dupla, no poço 1: soro de animais imunizados com BSA+AFC e no poço A: BSA somente.

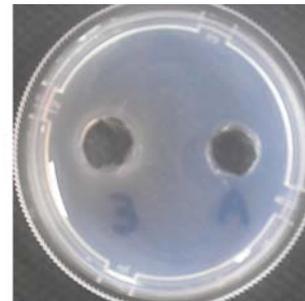


Figura 3 – Reação de Imunodifusão dupla, no poço 3: soro de animais imunizados com BSA+VL e no poço A: BSA somente.

Discussão

Como descrito na literatura, o AFC se destaca por sua ação de intensificar a resposta de anticorpos por meio de estímulos que liberam o antígeno lentamente. Devido a sua ação comprovada, ele se mostrou mais eficaz do que a VL.

Conclusão

Dois grupos de animais foram utilizados na pesquisa: o primeiro grupo tratado com uma emulsão de BSA+AFC e o outro grupo com BSA+VL. Foi constatado por meio de imunodifusão dupla que o primeiro grupo produziu visivelmente anticorpos. Já o grupo que foi aplicado a BSA+VL não observamos a formação de linha de precipitação no gel, o que nos leva a crer que não foram produzidos anticorpos a níveis detectáveis pela imunodifusão dupla.

Referências

- BENJAMINI ELI, COICO RICHARD, SUNSHINE GEOFFREY. *Imunologia*, 4. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan S. A., 2002.
- ROITT IVAN, BROSTOFF JONATHAN, MALE DAVID. *Immunology*, 6 ed. London: Ed. Mosby, 2001.
- JANEWAY CHARLES A., TRAVERS PAUL. *Immuno Biology*, 3 ed. New York: Ed. Garland Publishing Inc, 1997