

## IMUNO-COMPLEXOS NA ESQUISTOSSOMOSE

### III — Caracterização das imunoglobulinas e dos antígenos implicados no IC

Daniel BOUT, Ferruccio SANTORO, Yves CARLIER e André CAPRON

#### RESUMO

Imunoglobulinas G, M e E foram caracterizadas nos imuno-complexos (IC) circulantes precipitados pelo polietileno-glicol (P.E.G.) à 3% dos soros de pacientes infectados por *Schistosoma mansoni*. Uma fração antigênica específica do parasita (F4) foi demonstrada. Efetuou-se também a dosagem global dos antígenos presentes nos IC circulantes. Estes resultados preliminares são discutidos em termos de imuno-patologia.

#### INTRODUÇÃO

Os depósitos granulosos observados ao nível renal dos esquistossomóticos hepatoesplênicos, são traduzidos clinicamente pela instalação de uma glomerulo-nefrite<sup>1,4,13,16</sup>.

Se os imuno-complexos (IC) são os responsáveis diretos por esses depósitos, como suspeitaram diversos Autores, poderíamos concluir que eles são dotados de um relativo poder patogênico, ao menos quando depositados.

Uma etapa anterior ao depósito de IC, seria sua circulação sob forma solúvel. Recentemente os Autores<sup>14,15</sup> demonstraram, através de vários métodos de dosagens, que os IC circulantes aparecem em quantidade nos esquistossomóticos portadores de formas benígnas da infecção, logo, antes do aparecimento dos depósitos glomerulares.

Apesar da especificidade das técnicas utilizadas na detecção dos IC circulantes em esquistossomóticos<sup>14,15</sup>, é muito difícil de afirmar categoricamente que os IC que foram dosados, eram em efeito, formados por frações antigênicas específicas do *S. mansoni* e seus anticorpos correspondentes. Outros complexos poderiam ser dosados ao mesmo tempo.

Atualmente, nenhum dos métodos propostos poderia dosar os IC circulantes específicos de uma única doença.

Nós nos propomos, no presente trabalho, a caracterizar alguns dos constituintes imunoglobulínicos e antigênicos específicos do *Schistosoma mansoni*, dos IC circulantes precipitados em P.E.G. dos soros de esquistossomóticos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

##### Antígenos

Extratos antigênicos de *S. mansoni* foram preparados segundo os métodos anteriormente descritos<sup>5</sup>. A purificação de uma fração específica de *S. mansoni* (F4) foi obtida graças à utilização de técnicas de cromatografia de afinidade empregando imuno-adsorbentes segundo a técnica descrita anteriormente no líquido hidático<sup>3</sup>.

##### Soros

**Experimentais** — Imuno-soros de coelhos foram preparados segundo as técnicas

Service d'Immunologie et de Biologie Parasitaire de la Faculté de Médecine — 59000 LILLE (France) et Laboratório Central Gonçalo Moniz — 40000 SALVADOR (Bahia)

Endereço: Ferruccio SANTORO — Service d'Immunologie et de Biologie Parasitaire — Faculté de Médecine — Place de Verdun — 59000 LILLE (France)

descritas anteriormente<sup>5</sup>, por imunização com os extratos antigênicos de *S. mansoni* ou com a fração F4 específica do verme. Os imunossoros anti-imunoglobulinas G, M e A foram fornecidos pelo Laboratório HYLAND.

**Humanos** — Soros de 10 pacientes originários do Estado da Bahia portadores de esquistossomose crônica. A infecção por *S. mansoni* foi verificada pela presença de ovos nas fezes e pelos testes sorológicos de diagnóstico da esquistossomose.

Utilizaram-se como controles, soros humanos normais de dois indivíduos indenes, sem qualquer infecção parasitária.

### Métodos

A caracterização das imunoglobulinas G, M e A foi realizada pelo método de dupla difusão em gel<sup>12</sup>. A dosagem das imunoglobulinas E foi praticada pelas técnicas radio-imunológicas (Kit Phadebas IgE — test de Pharmacia).

Os antígenos presentes no IC precipitado em P.E.G. a 3% e 10%, foram caracterizados após dissociação do complexo em tampão glicocol HC1 pH 2,8, por dupla difusão<sup>12</sup> e imuno-eletroforese<sup>9</sup>, onde a migração foi efetuada em agarose a 1% no tampão Veronal 0,05 M, pH 8,2 e a diferença de potencial foi de 3V/cm-1.

Realizou-se um estudo preliminar da presença global dos antígenos presentes no IC precipitado em P.E.G. a 3% pela dissociação dos complexos em tampão glicocol HC1 pH 2,8 e pela reassociação em salina tampoadada pH 8,4 em presença do antígeno bruto de *S. mansoni* marcado por iodo<sup>125</sup> numa dose de 5000 cpm. A marcação do antígeno foi efetuada segundo a técnica descrita por MC CONAHAY & col.<sup>10</sup>.

## RESULTADOS

### 1) Caracterização das imunoglobulinas

As imunoglobulinas G e M foram caracterizadas nos precipitados em P.E.G. a 3% dos soros de 10 doentes (Tabela I).

TABELA I  
Classe de Ig. no I.C.

Ig nos precipitados em PEG 3%	
Nº de casos	10
IgG	8
IgM	5
IgA	0

Notaremos a presença de IgG em 8 casos, a presença de IgM em 5 casos, e a ausência de IgA.

A dosagem radio-imunológica das IgE, realizada de maneira comparativa nos precipitados em P.E.G. a 3% e nos soros totais de 4 pacientes, revelou quantidade apreciável de IgE nos IC (Tabela II).

TABELA II

Dosagem radio-imunológica das IgE no soro e nos I.C.

Taxa de IgE (UI/ml)		
Doentes	Soro total	Soro precipitado em P.E.G. 3%
1	65	15
2	902	36
3	5058	36
4	6816	43

### 2) Caracterização dos antígenos

O método de dissociação dos IC em pH ácido e reassociação a pH neutro foi realizado em 4 esquistossomóticos e 2 controles (Tabela III).

TABELA III

Evidenciação de Ag. parasitário nos I.C.  
Dissociação e Reassociação em presença do Ag. *S. mansoni* -I<sup>25</sup> (5000 cpm)

Doentes	1	1392
	2	960
	3	826
	4	714
Controles	1	396
	2	567

Neste estudo preliminar, podemos observar que a radioatividade obtida nos precipitados em P.E.G. após reassociação do IC em presença do antígeno marcado foi superior nos soros dos doentes do que nos dos controles.

A utilização de métodos de dupla difusão e imunoeletroforese (IEF) permitiu caracterizar, após dissociação a pH 2,8 dos IC precipitados em P.E.G. a 10%, a existência de antígenos específicos do verme. Um imunossoro dirigido contra o extrato total de *S. mansoni* não produz nenhum arco de precipitação quando testado em IEF contra a precipitado dissociado em pH ácido. Por outro lado, a utilização particular de um hiperimuno-soro preparado contra a fração antigênica N.º 4 do *S. mansoni* específica do gênero *Schistosoma*, permitiu revelar a presença deste antígeno ao nível dos IC (Fig. 1).



Fig. 1 — Caracterização em I.E.F. do Ag. n.º 4 de *S. mansoni* no IC.

## DISCUSSÃO

Poucos são os trabalhos relacionados com a caracterização dos componentes dos IC. Ao que nos consta, existem os trabalhos de DIXON & col.<sup>8</sup> que tratam da caracterização dos IC em doenças experimentais, e em patologia humana, a publicação sobre o Lupus Eritematosus Disseminado através da evidênciação do DNA ao nível do IC<sup>11</sup>. Nesta pesquisa demonstramos pela primeira vez a presença de antígenos específicos do parasita em um IC circulante. Esta evidênciação efetuada por diferentes métodos, permitiu a apreciação global, assim como a apreciação específica de antígenos presentes nos IC.

A não-revelação da fração n.º 4 do verme pelo imunossoro anti-*S. mansoni* total (Fig. 1) pode ser devida a problema de concentra-

ção de anticorpos. A quantidade de anticorpos anti-F4 em um hiperimuno-soro dirigido contra a F4 é bem maior que em um imunossoro anti-*S. mansoni* total.

Embora ainda não seja possível afirmar de maneira categórica a participação de IC com antígenos parasitários na patogenia das nefropatias tropicais e outras doenças, seria interessante observar, que a presença de antígenos circulantes nas urinas de pacientes esquistossomóticos, foi demonstrada recentemente pelos Autores<sup>6</sup>.

Por outro lado, é importante notar a participação afirmativa das IgE em relação às IgG e IgM detectadas nos IC. A presença de IgE, a qual sabemos ter função de anticorpo anti-parasita<sup>7</sup> deve desempenhar papel importante na patogenia da doença, a julgar pelos estudos realizados por DIXON<sup>8</sup> e BENVENISTE<sup>9</sup>.

Em conclusão, resta-nos dizer que apesar do pouco material que utilizamos neste trabalho, foi-nos possível caracterizar algumas imunoglobulinas e uma fração antigênica específica do *Schistosoma*.

Será interessante para o futuro, poder dosar as diferentes classes de imunoglobulinas em relação às diversas formas clínicas da esquistossomose. Esperamos poder fazer brevemente uma análise mais completa sobre o assunto, visando inclusive a evidênciação de outras frações específicas do verme ao nível dos IC circulantes.

## SUMMARY

**Immune complexes in schistosomiasis. III — Characterization of the immunoglobulins and antigens involved in the immune complexes**

IgG and M were characterized by immunoprecipitation and IgE were quantified in the immune complexes (IC) obtained by 3% P.E.G. precipitation of sera of patients infected by *Schistosoma mansoni*.

Specific schistosome antigen was identified within these IC.

These preliminary results are discussed in terms of immune pathology.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos Fabienne DERBAUDREN-GHIEN e Christiane DANET pela assistência técnica neste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, Z. A.; ANDRADE, S. G. & SADI-GURSKY, M. — Renal changes in patients with hepatosplenic schistosomiasis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 20: 77, 1971.
2. BENVENISTE, J. — Definition expérimentale d'un rôle nouveau pour l'IgE. Déclenchement immunologique de la déposition des immuns complexes. *Nouvelle Presse Méd.* 2: 703, 1973.
3. BOUT, D.; FRUIT, J. & CAPRON, A. — Purification d'un antigène spécifique de liquide hydatique. *Ann. Immunol. Inst. Pasteur 125C*: 775-778, 1974.
4. BRITO, T. de; GUNJI, J.; CAMARGO, M. E.; PENNA, D. O. & SILVA, L. C. da — Advanced kidney disease in patients with hepatosplenic manson's schistosomiasis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12: 225-235, 1970.
5. CAPRON, A.; BIGUET, J.; VERNES, A. & AFCHAIN, D. — Structure antigénique des helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. *Path. Biol.* 16: 121-125, 1968.
6. CARLIER, Y.; BOUT, D.; BINA, J. C.; CAMUS, D.; FIGUEIREDO, J. F. M. & CAPRON, A. — Immunological studies in human schistosomiasis. I) Parasitic antigen in urine. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 24: 949-954, 1975.
7. DESSAINT, J. P.; CAPRON, M.; BOUT, D. & CAPRON, A. — Quantitative determination of specific IgE antibodies to schistosome antigens and serum IgE levels in patients with schistosomiasis (*S. mansoni* or *S. haematobium*). *Clin. Exp. Immunol.* 20: 427, 1975.
8. DIXON, F. J.; FELDMAN, J. D. & VAZQUEZ, J. J. — Experimental glomerulonephritis: the pathogenesis of a laboratory model resembling the spectrum of human glomerulonephritis. *J. Exp. Med.* 113: 899, 1961.
9. GRABAR, P.; BURTIN, P. & Col. — In: *Analyse Immunoelectrophorétique*. Paris, Masson et Cie, 1960.
10. MC CONAHAY, P. J. & DIXON, F. J. — A method for trace iodination of proteins for immunologic studies. *Int. Arch. Allergy* 29: 185-189, 1966.
11. NYDEGGER, U. E.; LAMBERT, P. H.; GERBER, H. & MIESCHER, P. A. — Circulating immune complexes in the serum in Systemic Lupus Erythematosus and in carriers of Hepatitis B antigen. *J. Clin. Invest.* 54: 297-300, 1974.
12. OUCHTERLONY, O. — Diffusion in gel methods for immunological analysis. *Progr. Allergy* 6: 30, 1962.
13. QUEIROZ, F. P.; BRITO, E.; MARTINELLI, R. & ROCHA, H. — Nephrotic syndrome in patients with *Schistosoma mansoni* infections. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 22: 622-626, 1973.
14. SANTORO, F.; BOUT, D.; WATTRE, P. & CAPRON, A. — Imuno-complexos na esquistossomose. I — Utilização da fixação do complemento para sua detecção. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 18: 152-156, 1976.
15. SANTORO, F.; BOUT, D. & CAPRON, A. — Imuno-complexos na esquistossomose. II — Dosagem radio-imunológica da ligação do C<sub>1q</sub> — I<sup>125</sup> ao IC. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 18: 293-297, 1976.
16. SILVA, L. C. da; BRITO, T. de; CAMARGO, M. E.; BONI, D. de, LOPES, J. D. & GUNJI, J. — Kidney biopsy in the hepatosplenic form of infection with *S. mansoni* in man. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 42: 907, 1970.

Recebido para publicação em 18/7/1975.