

AURO NOMIZO



CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FUNCIONAL DE EXSUDATO
PERITONEAL INDUZIDO PELA JACALINA EM CAMUNDONGOS

Trabalho de Tese apresentado ao
Instituto de Biologia - UNICAMP
como parte dos quesitos neces
sários para a obtenção do grau
de Mestre em Ciências Biolôgi
cas (Imunologia).

ANTONIO CAMPOS NETO †
Orientador


CAMPINAS- SP,
1991

N728c

14699/BC

Este exemplar corresponde a redação final da Tese
defendida pelo candidato AURO NOMIZO e aprovada pela
comissão julgadora.

Campinas 16/8/91


ANTONIO CAMPOS NETO

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E FUNCIONAL DE EXSUDATO
PERITONEAL INDUZIDO PELA JACALINA EM CAMUNDONGOS

Trabalho de Tese apresentado ao
Instituto de Biologia - UNICAMP
como parte dos quesitos neces
sários para a obtenção do grau
de Mestre em Ciências Biológi
cas (Imunologia).

ANTONIO CAMPOS NETO
Orientador

CAMPINAS- SP.
1991

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Imunologia Celular do Departamento de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Para tanto, contamos com o apoio financeiro das seguintes Instituições:

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - (CAPES).
- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - (FAPESP).
- Conselho Nacional de Pesquisa - (CNPq).
- Financiadora de Estudos e Projetos - (FINEP).

A Minako, Tsutomu, Sato, Minoru ("In Memorium"),
Toku e Yataro.

A Regina, Rui, Américo, Andrea, Junko e Shizue.

A Prof.^a Dr.^a Izabel Yoko Ito.

Ao Dr. Antonio Campos Neto.

AGRADECIMENTOS

- À Dr.^a Izabel Yoko Ito, pelo estímulo ao caminho da vida Unversitária.
- Ao Dr. Antonio Campos Neto, pela sua personalidade e liberdade de pensar, criar e agir.
- Ao Dr. João Santana da Silva, pela sensibilidade, humildade e acolhida em seu Laboratório de Pesquisa.
- Ao Francisco M. Monteiro Fortes, Virmondes Rodrigues Junior, José Orivaldo Menguele Junior, Florêncio Figueiredo, Maristela Delgado, Matilde Kanesiro, Alexandrina Sartori, Fabíola Cardillo, Isabel K. M. Santos, Maria M. O. Rossi, Nancy Starobinas, Maria Cristina R. A. Barreira, Irene R. Pelá, Silvia Gatti, Glória M. P. da Silva, Ricardo R. dos Santos, Montchillo Russo, Marcos Garcia Costa, Maurício Bacci Junior, Ronaldo S. Campanini, Antonio José C. de Souza, Marcelo Dias Baruffi, pela crítica construtiva, estímulo e companheirismo.
- Aos Docentes e Funcionários do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP e do Departamento de Microbiologia e Imunologia da UNICAMP pelo apoio e simpatia.
- Aos Docentes e Colegas do Curso de Pós-Graduação em Imunologia - UNICAMP - um exemplo de luta por dias melhores para a Imunologia.
- À Universidade de Campinas - UNICAMP - , pela oportunidade de estar em contato com uma comunidade dinâmica e eclética.
- À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP, pela confiança em mim depositada.
- Ao Departamento de Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP, pelo crédito, companheirismo e liberdade de pensamento.
- À Lídia Teresa de Abreu Pires, Rosmarie Hajjar e Sup Tae, pela convivência fraterna e amizade.

- Ao Adelino Rodrigues, Valter Aguilar, Ivo Mazucato, Domingos de Cario e Edinelson Mazzoto, pela dedicação e responsabilidade.
- À Gláucia Vespa, pelo carinho, afeto e compreensão.
- Aos meus amigos por eles serem o que são.
- À Rita de Cássia Figueiró, pela datilografia deste trabalho.

S U M Á R I O

- PREFÁCIO	01
- INTRODUÇÃO	04
- MATERIAIS E MÉTODOS	61
- RESULTADOS	72
- DISCUSSÃO	91
- CONCLUSÕES	99
- SUMMARY	100
- RESUMO	101
- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102

PREFÁCIO

Os organismos vivos habitam ambientes que sofrem transformações constantes. Os seres unicelulares são os primeiros seres a apresentarem uma membrana que delimita o espaço entre o compartimento celular e o meio exterior. Ao longo do processo evolutivo muitos seres começaram a agrupar células, levando a organização dos seres multicelulares. Vários são os fatores que contribuíram para a diversidade de formas de vida e para a formação dos diferentes órgãos e sistemas. Vários fatores como as adversidades ambientais, necessidade alimentar, e os fatores químicos, físicos e biológicos presentes no ambiente propiciaram, ao longo do tempo, os organismos a adequarem seus mecanismos genéticos, bioquímicos, fisiológicos, anatômicos e imunológicos para obter melhor homeostase interna, bem como, as suas inter-relações com o meio externo (RATCLIFFE, 1989).

O princípio básico para o entendimento do advento da multicelularidade bem como as interações das células com outras células e das células com moléculas regulatórias, se deve ao fato que as células possuem membrana citoplasmática e que nelas estão contidas processos de reconhecimento ou adesão. Para explicar essas interações, evidências bem fundamentadas mostram que o mecanismo de complementariedade é fundamental nessas interações. A teoria da complementariedade pelo sistema chave-fechadura proposto por FISCHER, 1897, (citado por SHARON & LIS, 1989), para explicar a interação da enzima com o substrato, vem sendo utilizado como base para a explicação de vários fenômenos biológicos como a teoria para a interação do antígeno com o anticorpo EHRLICH, 1900 - (citado por SILVERSTEIN, 1989); a organogênese (TOWNES & HOLTGRETER, 1955); a teoria da seleção clonal para explicar a formação de anticorpos

específicos (BURNET, 1957; JERNE, 1955); a ingestão de microrganismos pelos fagócitos via anticorpo e complemento (BERKEN & BENACERRAF, 1966; RABINOVITCH, 1967) e via lectinas (SHARON & LIS, 1989); regulação do sistema imunológico através da rede idiopática (JERNE, 1974); e manutenção da arquitetura tissular (ALBERNA & BUCK, 1990).

Um dos campos da ciência que permite estudar a relação entre as partes, da parte com o todo e do todo com outros mais abrangentes é a imunologia, que pode ser definida como sendo: a ciência que estuda a capacidade de distinção pelo organismo entre o que é seu ou constitutivo ("self") daquilo que não é seu ou estranho ("not self") (BURNET, 1957). Os processos de reconhecimento das células do sistema imunológico entre si, bem como dessas células com o endotélio, matriz extracelular, neoplasias, e microrganismos, se faz através moléculas de adesão como às integrinas, que fazem parte da superfamília das imunoglobulinas (SCHEVACH, 1989; ALBERNA & BUCK, 1990); das caderinas, que são as moléculas de adesão dependentes do íon cálcio (ALBERNA & BUCK, 1990); e das lectinas ou selectinas, que são moléculas que reconhecem monossacarídeos presentes nas macromoléculas como as glicoproteínas e glicolipídeos (SHARON & LIS, 1989; ALBERNA & BUCK, 1990).

Nos seres invertebrados, as lectinas são consideradas as principais moléculas de opsonização de microrganismos, bem como, de interação com o sistema complemento e com os amebócitos de forma semelhante as moléculas de anticorpo nos vertebrados (YEALTON, 1981; ROBERTSON, 1983; RATCLIFFE, 1985; VALEMBOIS e cols., 1986; MARCHALONIS & SCHUTER, 1989). Nos seres vertebrados, as lectinas presentes na membrana dos leucócitos participam na função dessas células como: na remoção de restos celulares e destruição de microrganismos, nos processos de hematopoiese (OFEK & SHARON, 1988; SHARON & LIS, 1989) e

na sua interação com endotélio e com a matriz extracelular (ALBERNA & BUCK, 1990). Um outro fato, ainda não muito bem compreendido, é que lectinas solúveis existentes nos fluidos biológicos dos seres invertebrados possuem idiotipos que também estão presentes nas imunoglobulinas de mamíferos (MARCHALONIS e cols., 1989). Os estudos das lectinas presentes ou ligados nos macrófagos, têm mostrado que elas participam de várias funções dessas células (ver adiante lectinas e macrófagos).

Baseado nas informações que mostram a participação das lectinas em fenômenos imunológicos e o fato destas moléculas estarem presentes associadas às células e/ou na forma solúvel nos flúidos biológicos de vertebrados, somadas às evidências de que a Jacalina, uma lectina vegetal D-gá lactose específica derivada de sementes de Artocarpus intergrifolia, ter propriedades biológicas importantes que a tornam um interessante material para estudos nas áreas de imunquímica e imunologia celular, propusemo-nos investigar neste trabalho o efeito "In vivo" pela injeção intraperitoneal em camundongos da lectina Jacalina, bem como, verificar o seu possível efeito "In vitro" sobre as propriedades funcionais dos macrófagos.

I. INTRODUÇÃO.

O SISTEMA FAGOCÍTICO MONONUCLEAR.

O sistema fagocítico mononuclear é um dos mais primitivos componentes de defesa, que persiste até os dias de hoje como um dos mais importantes grupos de células do nosso organismo. As células desse sistema foram descritas pela primeira vez por **METCHINIKOFF** em 1908, (citado por **SILVERSTEIN**, 1989).

Esse sistema é constituído pelos monócitos do sangue periférico, por seus precursores monoblastos e pró-monócitos, existentes na medula óssea e os diversos macrófagos tissulares (**van FURTH**, 1988) (Tabela 1).

Em camundongos, os progenitores de macrófagos aparecem ao redor do quinto dia de vida embrionária, os macrófagos diferenciados somente são detectados no nono dia, próximos ao saco vitelino. Subseqüentemente ao longo da organogênese, os macrófagos são detectados no fígado fetal, baço e medula óssea, respectivamente (**GORDON**, 1986). Os monócitos do sangue circulante podem migrar para órgãos e tecidos onde diferenciam em macrófagos (**van FURTH**, 1982). Os macrófagos são encontrados em vários tecidos no camundongo adulto, especialmente nos órgãos hematopoiéticos e órgãos linfóides como medula óssea, fígado, baço, linfonodo, entre outros (**van FURTH**, 1982; **van FURTH**, 1988). Estas células podem ser encontradas ainda abaixo da lâmina própria do intestino; na epiderme e no tecido sub-cutâneo, ao longo de superfícies como o trato broncoalveolar e gênito-urinário, (**van FURTH**, 1988; **GORDON**, 1986); nos rins junto aos túbulos da medula renal e ao complexo justaglomerular; em vários órgãos endócrinos como a adrenal e hipófise; nos órgãos reprodutores como testículo, ovário e útero, onde

TABELA 1 - SISTEMA FAGOCÍTICO MONONUCLEAR

<u>MEDULA ÓSSEA</u>	<u>TECIDO</u>
Monoblastos	Macrófagos do
Promonócitos	tecido conectivo (histiócitos)
Monócitos	Pele (histiócitos)
	Fígado (células de Kupffer)
<u>SANGUE</u>	Baço (macrófagos da polpa vermelha)
Monócitos	Linfonodo (macrófagos livres e fixados)
	Timo
<u>CAVIDADES DO CORPO</u>	Medula óssea (macrófagos residentes)
Macrófagos pleurais	Tecido ósseo (osteoclastos)
Macrófagos peritoneais	Sinovia (células do tipo A)
	Pulmão (macrófagos tissulares e alveolar)
	Orgãos linfóides associados à mucosa
<u>SÍTIOS INFLAMATÓRIOS</u>	Trato gastro-intestinal
Macrófagos do exsudato	Trato gênito-urinário
Células epitelióides	Orgãos endócrinos (hipófise, adrenal)
Células gigantes multinucleadas	Sistema nervoso central (macrófagos, células da microglia (reativos))

Adaptado de R. Van Furth, 1989, Gordon, 1986

há mudanças na atividade macrofágica durante o ciclo menstrual; no sistema nervoso central e periférico (GORDON, 1986). As cavidades serosas como a pleural e peritoneal apresentam os chamados macrófagos residentes (van FURTH, 1982). Os macrófagos residentes tem um tempo de vida relativamente longo, variando de meses a anos (GORDON, 1986). Na cavidade peritoneal e pleural pode haver repovoamento de macrófagos o qual se faz através de monócitos (van FURTH, 1988). Em alguns sítios como a cavidade peritoneal, baço e linfonodo pode ocorrer proliferação local de macrófagos (GORDON, 1986; van FURTH, 1988). Os macrófagos podem recircular como os linfócitos, migrando das

cavidades para o sangue periférico e do sangue periférico para os órgãos linfóides secundários como o baço, linfonodo e órgãos linfóides associados à mucosa (van FURTH, 1988).

A proliferação, o recrutamento e a recirculação de macrófagos podem ser dramaticamente alterados no peritônio via estímulo exógeno. A injeção de substâncias irritantes e microrganismos na cavidade, induz um forte influxo de células. Os macrófagos recém diferenciados dos monócitos do sangue, são denominados macrófagos elicitados ou macrófagos inflamatórios (van FURTH, 1988). Vários agentes podem elicitar macrófagos no peritônio: bacilo de Calmette-Güerin (BCG), (NATHAN & ROOT, 1977), *Listeria monocytogenes*, (BELLER e cols., 1980), lipo polissacarídeo extraído da parede celular de bactérias gram-negativas - (LPS), sulfato de berílio, sulfato de dextrana, adjuvante de Freund incompleto, adjuvante de Freund completo (BENBEHANI e cols., 1986) tioglicolato de sódio (STEEG e cols., 1980), proteose-peptona (STEINMAN e cols., 1980), hialuronidato de sódio (PONZIN e cols., 1986) fitohemaglutinina (NAGAOKA e cols., 1988), concanacalina-A (RAZ e cols., 1977), arabinogalactana (LUETTIG e cols., 1989), carragenina (VIJAYA KUMAR e cols., 1989). Sabe-se no entanto que a atividade funcional desses macrófagos varia dependendo do agente inoculado (ver adiante ATIVAÇÃO DE MACRÓFAGOS).

Os macrófagos que são estimulados "in vivo" ou "in vitro" e que possuem a capacidade de matar células tumorais, reduzida capacidade de apresentar antígenos e de secretar intermediários reativos do oxigênio e fator de necrose tumoral, e que geralmente estão presentes nas reações de hipersensibilidade tardia são denominados de MACRÓFAGOS ATIVADOS (MACKNESS, 1971). Um exemplo clássico de macrófagos ativados, são os macrófagos obtidos após a injeção de BCG no peritônio de camundongos (NATHAN e cols., 1979).

O desenvolvimento dos macrófagos se dá a partir de uma célula progenitora comum para os granulócitos e monócito/macrófago, denominada de unidade formadora de colônia de granulócito-monócito (UFC-GM) (NICOLA & METCALF, 1986). A maturação e crescimento de macrófagos pode ser induzida na UFC-GM, através de 4 fatores hematopoiéticos distintos denominados de: fator estimulador de colônia-1 (FEC-1) ou fator estimulador de colônia de macrófagos (FEC-M); fator estimulador de colônia de granulócitos e monócitos (FEC-GM); interleucina-3 (IL-3) ou fator estimulador de colônia multipotente e o fator estimulador de colônia de granulócitos (FEC-G) (NICOLA, 1987; SIEFF, 1987). O modo de ação desses fatores na maturação fisiológica dos macrófagos ainda é pouco conhecida.

MARCADORES MOLECULARES DE MEMBRANA PRESENTES NOS VÁRIOS ESTÁGIOS DE MATURAÇÃO DO FAGÓCITO MONONUCLEAR.

Um dos mais simples métodos de caracterização dos fagócitos mononucleares é através da citoquímica de esterase-não-específica, que é uma enzima presente somente no citoplasma dessas células (LI e cols., 1973).

No entanto, com a utilização de anticorpos monoclonais ou policlonais, vários marcadores moleculares foram caracterizados e estudados nas diferentes fases de maturação do fagócito mononuclear; o F4/80, uma molécula presente na membrana de fagócitos mononucleares de camundongo (AUSTYN & GORDON, 1981) e faz parte da família das integrinas (ALBERNA & BUCK, 1990); o Mac-1, que é o receptor para C3bi, é encontrado em fagócitos e sub-populações de linfócitos B (SPRINGER e cols., 1979); o Mac-2, presente em fagócitos mononucleares de camundongos e humanos (HO & SPRINGER, 1982); as lectinas (Ver LECTINAS E MACRÓFAGOS) e as moléculas de classe II do complexo

principal de histocompatibilidade (KLEIN e cols., 1978).

Van FURTH (1988), utilizando anticorpos monoclonais específicos contra as moléculas F4/80, Mac-2, FcRyII, Mac-1 e Ia em promonócitos, monócitos, macrófagos peritoneais residentes e macrófagos alveolares de camundongos, mostraram que promonócitos expressam menos moléculas F4/80, FcRyII e Mac-2 que monócitos, mas o percentual de monócitos que expressam Mac-2 e FcRyII é menor que o da população de promonócitos. Os macrófagos peritoneais residentes tem mais marcadores Mac-1 e Mac-2 que os monócitos e menos moléculas Ia que os macrófagos alveolares. Os macrófagos alveolares expressam menos FcRyII que as demais células testadas. Outros estudos ainda mostraram que a diferenciação de promonócitos para monócitos é acompanhado pelo aumento de expressão de marcadores como o F4/80, FcRyII, Mac-1 e Mac-2, mas não de antígenos Ia (NIBBERING e cols., 1987a). Já a diferenciação de monócitos em macrófagos tissulares não segue um padrão distinto, havendo grandes variações (NIBBERING e cols., 1987b).

EZEKOWITZ e cols., (1981); ALLAN e cols., (1983), avaliando a expressão de: receptor ligante de manose-fucose (RMF), FcRyII, F4/80, Mac-1 e Ia, em macrófagos com diferentes estágios de maturação demonstraram que os macrófagos e inflamatórios apresentam grande expressão de RMF, FcRyII, F4/80 e Mac-1 e pouca expressão de antígenos Ia, enquanto que os macrófagos ativados apresentam expressão de Mac-1 inalterado, diminuição de expressão dos receptores RMF, FcRyII e F4/80 e aumento de expressão de antígenos Ia.

As moléculas de Mac-2, estão ausentes em macrófagos de medula óssea, baço, timo, linfonodos, peritoneais residentes e peritoneais elicitados com: *Listeria monocytogenes*, concanavalina-A e lipopolissacarídeo (LPS). Apresentam fraca expressão em macrófagos peritoneais elicitados com peptona e

grande expressão em macrófagos peritoneais elicitados pelo tio glicolato de sódio (HO & SPRINGER, 1982).

BENBEHANI e cols., (1985), mostram que, macrófagos peritoneais de camundongos que expressam antígenos Ia são fortemente positivos para receptores para Fc para moléculas de IgG 2a (FcγI) e Mac-1.

ATIVIDADE FUNCIONAL E PRODUTOS SECRETADOS PELOS MACRÓFAGOS.

Os macrófagos são caracterizados por serem uma população bastante heterogênea quanto a sua atividade funcional, bem como no padrão de secreção de substâncias. A única função característica e comum às diferentes populações de macrófagos é a capacidade de realizar fagocitose (van FURTH, 1988). Os macrófagos tem uma atividade básica ou constitutiva, que é a manutenção da homeostase local. Ao receber um sinal de anormalidade, o macrófago é capaz de modular as suas funções. Essas células diferem bastante de outros sistemas de células diferenciadas como os linfócitos B, que uma vez ativadas podem ou não secretar anticorpos. A capacidade que o diferencia funcionalmente das demais células é a sua habilidade de induzir ou reprimir, vias metabólicas e genes, adaptar ou modificar seu comportamento em resposta às mudanças ao seu redor. Para tanto, o macrófago pode expressar grande variedade de fenótipos dependendo do seu estágio de maturação e/ou estímulo recebido. Como exemplo, na inflamação induzida no peritônio de camundongos, os macrófagos residentes ou recém-migrados, mobilizados pelo agente irritante, se tornam ativos funcionalmente percebendo mudanças no microambiente, tais como variação na tensão de oxigênio, presença de determinadas células como os linfócitos e polimorfonucleares, materiais estranhos, microorganismos ou mudanças no padrão de proteínas plasmáticas e hor

mônios (WERB, 1983a).

A sua habilidade de adaptação, traduzidas pelas mudanças estruturais do citoesqueleto e das propriedades funcionais que ocorrem com os macrófagos durante a sua ativação podem ser reversíveis (WERB, 1983a; WERB e cols., 1986a).

As principais atividades funcionais exercidas pelo macrófago incluem: indução da fase aguda da inflamação (DINARELLO, 1987; BENDATZEN, 1988); regulação da hemopoiese (SIEFF, 1987); ativação e modulação do sistema imunológico adaptativo (UNANUE & ALLEN, 1987) e sistema de coagulação (PRYDZ & ALLISON, 1978); eliminação de agentes infecciosos (SHARMA & REMINGTON, 1981; ADAMS & HAMILTON, 1988) e células tumorais (HAMILTON & ADAMS, 1987b); atuar nos processos de remodelamento tissular e reparo (KORN e cols., 1980; WERB, 1983a; WERB e cols., 1986a) e organogênese (SOKOL e cols., 1989). Ver Tabela 2.

Para exercer suas atividades funcionais, os macrófagos podem secretar mais de 100 substâncias biologicamente ativas (NATHAN, 1987). Dentre elas temos: enzimas, inibidores de enzimas, lipídeos bioativos, citocinas, proteínas plasmáticas, hormônios, outras proteínas e substâncias inorgânicas (WERB, 1986a; NATHAN, 1987; ADAMS & HAMILTON, 1988). Ver Tabela 3.

Os produtos liberados por macrófagos não são secretadas simultaneamente por uma única célula, mas são reguladas pelo microambiente e possuem padrão de secreção quantitativa e qualitativa diferentes, dependendo do seu grau de ativação ou diferenciação (WERB, 1983a; WERB e cols., 1986a). Alguns produtos como a lisozima, são constitutivamente secretados pelo macrófago em qualquer fase do processo de ativação ou maturação (GORDON e cols., 1974), já o ativador de plasminogênio é secretado por macrófagos inflamatórios e ativados (WERB

TABELA 2 - FUNÇÕES GERAIS DOS MACRÓFAGOS

REGULAÇÃO

- Inflamação aguda e crônica
- Proliferação de células
- Organogênese
- Coagulação e fibrinólise
- Linfócitos T e B
- Hemopoiese
- Metabolismo de lipídeos e ferro
- Proteases

PROTEÇÃO

- Contra vírus , bactéria e parasitas
 - Contra tumores
 - Detoxificação e estocagem de resíduos endógenos e exógenos
 - Remoção de células e moléculas lesadas
-

Adaptado de: Werb , 1983 ; Adams e Hamilton , 1988 ;
Auger , 1988

& CHIN, 1983b). Outros, somente são secretados por macrófagos ativados, como o peróxido de hidrogênio (NATHAN & COHN, 1980). Alguns, são secretados em resposta a um estímulo específico, como é o caso do fator de angiogênese, que é secretado pelo macrófago somente em condições de hipoxia (KNIGHTON e cols., 1983).

O macrófago desempenha papel importante no processo inflamatório, através da produção secreção de componentes do sistema complemento, interleucina-1, interleucina-6, interleucina-8, fator de necrose tumoral e metabólitos do ácido aracdônico (DINARELLO, 1987; AUGER, 1989). Essas substâncias levam a um quadro característico de fase aguda dos processos inflamatórios como: febre, edema, quimiotaxia de polimorfonucleares e aumento da produção de proteínas da fase aguda pelo fígado. Em inflamações sistêmicas, podem induzir choque hipo

TABELA 3 - PRODUTOS SECRETADOS POR MACRÓFAGOS

<u>ENZIMAS</u>	<u>PROTEÍNAS REGULATÓRIAS</u>
Lisozima	TNF - α
Ativador de plasminogênio	IL - 1
Colagenase	IL - 6 , IL - 8
Elastase	Fatores estimuladores de colônia (CSF)
Angiotensina convertase	Eritropoetina
Proteases ácidas	Interferon α e β
Lipases ácidas	PGDF
Nucleases ácidas	TGF - β
Fosfatase ácidas	Timosina B ₄
Glicosidase ácidas	<u>OUTRAS PROTEÍNAS</u>
Sulfatases ácidas	Trasferrina
Arginase	Transcobalamina II
Lipase lipoprotéica	Fibronectina
Fosfolipase A ₂	Apolipoproteína E
Proteinase citolítica	Substância amilóide A
<u>INIBIDORES DE ENZIMAS</u>	Substância amilóide P
α -2 Macroglobulina	Haptoglobina
α -1 Antiprotease	<u>INTERMEDIÁRIOS REATIVOS DO OXIGÊNIO</u>
Lipocortina	O ₂
α -1 Antiquimiotripsina	H ₂ O ₂
<u>FATORES DA COAGULAÇÃO</u>	• OH
Fator X	OCL-
Fator IX	<u>LIPÍDEOS</u>
Fator VII	PGE ₂
Fator V	PGF ₂ α
Proteína Kinase	Prostaciclina
Tromboplastina	Tromboxana A ₂
Protombina	Leucotrienos B,C,D e E
Trombospondina	Mono-HETES
Inibidor de fibrinólise	DI - HETES
<u>COMPONENTES DO SISTEMA COMPLEMENTO</u>	PAF
C ₁	<u>MOLÉCULAS PEQUENAS</u>
C ₄	Purinas
C ₂	Pyrimidinas
C ₃	Glutathione
C ₅	Nitritos
Fator B	
Fator D	
Properdina	
Inativador de C3b	
β IH	

Adaptado de Adams e Hamilton, 1988, Nathan, 1987, Werb e Cols, 1986

volêmico. Já nas inflamações crônicas podem levar ao quadro de mialgia e caquexia (DINARELLO, 1987; BENDTZEN, 1988; AUGER, 1989; WILLEMS e cols., 1989). Ainda nos processos inflamatórios, os macrófagos podem agir na hemostasia, pois, são capazes de ativar a cascata de coagulação através da síntese e secreção da tromboplastina, o mais potente ativador da via extrínseca da coagulação (DEAN e cols., 1984).

Nos traumatismos com injúria tissular e nas in

fecções, que induzem "ESTRESSE" no organismo, os macrófagos induzem hematopoiese através da secreção de fatores de crescimento hematopoiético como o fator estimulador de colônia de granulócitos (FEC-G) e fator estimulador de crescimento de macrófagos (FEC-M) ou indiretamente através da produção de fator de necrose tumoral e interleucina-1, que ativam linfócitos T para a secreção de interleucina-3 e fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos (SIEFF, 1987).

Se o processo inflamatório não conseguir eliminar o agente agressor, os macrófagos exercem função importante na indução da resposta imunológica específica, onde contribui fazendo a função de célula apresentadora de antígenos para linfócitos T. Para tanto, os macrófagos adquirem capacidade de processar antígenos captados bem como, de expressar moléculas de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (as moléculas de classe I são constitutivas) que são as moléculas capazes de se ligar aos determinantes antigênicos e apresentá-los aos linfócitos T $CD4^{+}$ via moléculas de classe II (ZIEGLER & UNANUE, 1981). Os macrófagos apresentam antígenos aos linfócitos T $CD8^{+}$ via molécula de classe I (HIRAYAMA e cols., 1988 ; ZIEGLER & UNANUE, 1981). O macrófago também faz parte da resposta imune como célula acessória, que através da liberação de citocinas como a interleucina-1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral, etc., modulam a ativação e a proliferação de linfócitos T e B (UNANUE, 1989).

Os macrófagos, após ativação por linfocinas ou via contato com substâncias presentes no foco inflamatório se tornam altamente efetivos para realizar fagocitose, portanto importante na imunidade contra agentes infecciosos e neoplasias. O reconhecimento dos organismos a serem fagocitados é feito através de receptores para Fc de imunoglobulinas, de fragmentos do componente C3 do sistema complemento e de lecti

nas. Após a endocitose dos organismos, os macrófagos podem matá-los, utilizando dois mecanismos distintos: um dependente de oxigênio e um outro não dependente. Geralmente os macrófagos utilizam os dois mecanismos. O mecanismo dependente de oxigênio, requer a produção e liberação intracelular de intermediários reativos do oxigênio. Já o mecanismo independente de oxigênio consiste na acidificação do fagolisossomo com a ação das enzimas: hidrolase ácida e lisozima (GABIG & BABIOR, 1981).

As atividades anti-tumorais dos macrófagos tem despertado grande interesse nos dias de hoje. Estas células podem suprimir o crescimento de tumores via liberação de fatores como as prostaglandinas. Para matar as células tumorais, os macrófagos não precisam realizar a fagocitose mas podem fazê-lo através da secreção de substâncias como enzimas lisossomais, intermediários reativos do oxigênio, proteases citolíticas, fator de necrose tumoral e interferons. (HAMILTON & ADAMS, 1987; NATHAN, 1987). Pode também fazê-lo, através de enzimas proteolíticas presentes em sua membrana (JOHNSTON, Jr., 1988).

Além de participar do processo inflamatório, dos processos de indução da resposta imune, da imunidade contra microorganismos e tumores, os macrófagos são importantes nos processos de reparo e remodelamento tissular. Os macrófagos presentes ao redor das feridas degradam as células e tecidos lesados, as fibras da matriz extracelular e produtos decorrentes da ativação da cascata de coagulação. Este processo é feito através da liberação de proteases, anti-proteases, collagenase, elastase e fatores fibrinolíticos. Em seguida efetua a remoção de células lesadas e moléculas degradadas pelas enzimas via fagocitose e por fim secretam fatores que induzem a ativação dos fibroblastos e substâncias que induzem angiogênese reparando assim o tecido lesado. (WERB, 1983a; WERB e cols.,

1986a; NATHAN, 1987).

ATIVACÃO FUNCIONAL DOS MACRÓFAGOS

A atividade funcional dos macrófagos é dependente do seu estágio de maturação, alterações no microambiente e/ou de sinais provenientes de células do sistema imunológico (ADAMS & HAMILTON, 1984; ADAMS & HAMILTON, 1988). As funções gerais dessas células se tornam mais evidentes durante a sua maturação de pró-monócitos para monócitos. Os macrófagos tissulares residentes geralmente tem um potencial funcional menor que o dos monócitos, devido a supressão exercida por substâncias existentes no microambiente local. Os macrófagos de focos inflamatórios ou elicitados por agentes, tem uma atividade funcional maior ou são mais responsivos a agentes que os macrófagos residentes e monócitos (ADAMS & HAMILTON, 1987; ADAMS & KOERNER, 1989).

As bases biomoleculares que fundamentam as várias alterações nos macrófagos durante a sua ativação tem sido demonstrados nos últimos anos. A capacitação funcional (ativação), bem como a sua regulação podem ser mediadas por um número grande de substâncias exógenas como o lipopolissacarídeo (LPS) proveniente de bactérias e protozoários e substâncias endógenas como as citocinas, lipídeos bioativos, hormônios e linfocinas como o interferon γ (IFN- γ) (ADAMS & HAMILTON, 1988; MILON e cols., 1988; ADAMS & KOERNER, 1989).

A ativação dos macrófagos traz como consequência alterações nessas células como o aumento ou diminuição de receptores de membrana; secreção de produtos e capacitação metabólica transdutora de sinais e de efetuação de resposta. Como exemplo, o aumento de endocitose e a atividade secretória observada nos macrófagos inflamatórios é devido ao aumento do nú

mero de receptores e aumento de síntese dos produtos de secreção. Já a capacitação dos macrófagos inflamatórios de responderem aos peptídeos N-formilados e ao IFN- γ , se deve ao fato da mudança de afinidade dos receptores para essas substâncias, bem como, da alteração e/ou síntese de proteínas intra-celulares com função regulatória (ADAMS & KOERNER, 1989). O processo de ativação de macrófagos inclui ainda a ativação de genes como os protooncogenes c-fos, c-myc, JE e KC (ADAMS & HAMILTON, 1987; HAMILTON & ADAMS, 1987a).

As vias de ativação dos macrófagos podem ser classificadas em cascatas de sinalização, que estão divididas em cascata I, II, III e IV. A cascata I resulta em uma estimulação tardia na atividade da proteína quinase C e um lento influxo de íons cálcio. O IFN- γ é o principal ativador desta cascata. A cascata II, consiste em quebra de polifosfatidilinositois, produção de diacilglicerol, produção de inositol tri e tetra-fosforilado, estimulação rápida da proteína quinase C e rápido influxo de íons cálcio e sódio. Os principais ativadores dessa cascata são: LPS, fator agregador de plaquetas (FAP), peptídeos N-formilados e com atividade parcial o fator de necrose tumoral (FNT). A cascata III, induz genes envolvidos na fase precoce de ativação dos macrófagos e incluem entre outros os genes: KC, p-38, 57, 75, 80 e 85. Os principais ativadores desta cascata são o LPS, maleilato de albumina bovina e com atividade parcial o FNT. A cascata IV, induz um aumento rápido de níveis de adenina-monofosfato cíclico dentro da célula. A principal ativadora desta cascata é a prostaglandina E_2 . A expressão de antígenos Ia e monocinas como o FNT e a interleucina-1, por exemplo, é consequente da ativação das cascatas I, II e III (ADAMS & KOERNER, 1989).

Dentre as diversas substâncias capazes de ativar o macrófago, as mais conhecidas e estudadas são: IFN- γ e LPS. O

IFN- γ , induz entre outras, a atividade fagocítica e a morte de micróbios patogênicos através de mecanismos dependentes de oxigênio (NATHAN e cols., 1983) e por mecanismos independentes de oxigênio (MURAY e cols., 1983). Ele tem ainda a capacidade de ativar o macrófago para secretar intermediários reativos do oxigênio (IRO) (NATHAN e cols., 1984); aumentar a expressão de moléculas de classe I do complexo principal de histocompatibilidade (CPH) e de induzir a expressão de moléculas de classe II do CPH (STEEG e cols., 1982; KING & JONES, 1983); aumentar a expressão de receptores para Fc de imunoglobulina G (GUYRE e cols., 1983); induzir atividade anti-viral (VOGEL e cols., 1986); inibir a capacidade proliferativa em linhagem de macrófagos (GOLDBERG e cols., 1985; secretar o componente C₂ e fator B do sistema complemento (STRUNK e cols., 1986); diminuir a expressão de receptores para transferrina (WEIEL e cols., 1987); diminuição da secreção de apolipoproteína E (WERB e cols., 1986b) e potencializar o efeito do LPS na produção e secreção de FNT (BEUTLER e cols., 1986).

A expressão de moléculas de classe II do CPH em macrófagos, pode ser induzido por outras substâncias além do IFN- γ . A interleucina 4 (IL-4) também induz expressão de moléculas de classe II (RENNICK e cols., 1987; FEHLING e cols., 1989). O FNT- α sinergiza com o IFN- γ na indução de moléculas de classe II (CHANG & LEE, 1986). Alguns elicitadores de macrófagos peritoneais "in vivo" induzem macrófagos com grande expressão de moléculas de classe II, capacidade de secretar interleucina-1 e capacidade de apresentar antígenos. Dentre estes agentes, temos: o bacilo de Calmette-Guérin (BLUMENTHAL e cols., 1983), sulfato de berílio, LPS (E. coli e S. typhimurium), adjuvante de Freund completo (BEHBEHAMI e cols., 1985), concanavalina-A (SHAPIRO e cols., 1985) e fator estimulador de colônia de granulócitos e macrófagos

(FEC-GM) (MORRUSSEY e cols., 1988).

A ativação do macrófago para a atividade tumoricida depende de um mecanismo complexo para tornar o macrófago capaz de capturar o tumor via Fc de imunoglobulinas ou lectinas, secretar substâncias citotóxicas como os IRO, proteases, FNT, interleucinas e interferons (HAMILTON & ADAMS, 1987). Para tanto, são necessários pelo menos dois sinais para tornar o macrófago capaz de matar a célula tumoral. O primeiro ativador é o IFN- γ . Após a exposição de macrófagos ao IFN- γ , estes se tornam reponsivos ao LPS, que é considerado como o segundo sinal ou ativador. Os macrófagos estimulados primeiro com o IFN- γ e depois com LPS se tornam excelentes células capazes de destruir a célula tumoral (HAMILTON & ADAMS, 1987). Assim como o LPS, algumas substâncias podem atuar como segundo sinalizador, dentre elas temos: a *Listeria monocytogenes* mortas por autoclavação, o muramil-dipeptídeo e maleinato de albumina bobina (JONHSON e cols., 1982; SCHREIBER e cols., 1983; FIDLER, 1985; PACE e cols., 1985). Já substâncias capazes de mimetizar o efeito do IFN- γ não tem sido descrito na literatura.

A atividade de citotoxicidade celular dependente de anticorpo (CCDA) em macrófagos, pode ser induzida por várias citocinas como: IFN- α , β e γ , interleucina 2 (IL-2), interleucina 1 (IL-1), FNT e fator estimulador de colônia de macrófagos (FEC-M) (RALPH & NAKOINZ, 1987; RALPH e cols., 1988).

O estudo da ativação de macrófagos utilizando fatores endógenos é bastante recente e é muito importante para o entendimento da modulação da atividade funcional dos macrófagos nos diversos processos imunológicos, inflamatórios e imunopatológicos. Citaremos a seguir, alguns dados referentes as ações de diferentes citocinas sobre os macrófagos. O fator de estimulação de colônia de granulócitos e macrófagos (FEC-GM),

induz em macrófagos peritoneais residentes o aumento de expressão de receptores para Fc de imunoglobulina G, expressão do antígeno Mac-1 e interleucina 1 de membrana (MORRISSEY e cols., 1988). A interleucina 2 (IL-2) é capaz de estimular "in vitro" a capacidade tumoricida de monócitos, bem como a secreção de IRO (MALKOVSKY e cols., 1987; WAHL e cols., 1987) e FNT (ECONOMOU e cols., 1989). Pode também atuar como cofator de IFN- γ em capacitar a atividade parasiticida (*Leishmania major*) de macrófagos peritoneais residentes e da medula óssea de camundongos (BELOSEVIC e cols., 1990).

A interleucina 3 (IL-3) é capaz de induzir a transcrição do RNAm para IL-1 e em combinação com o LPS induz a sua secreção para meio extracelular (FRENDL e cols., 1990). Induz também mudanças morfológicas (aspecto dendrítico e aderência) e aumenta a capacidade fagocítica dos macrófagos peritoneais residentes (CRAPPER e cols., 1985). A interleucina 4 (IL-4), induz em macrófagos peritoneais elicitados a expressão de antígenos de classe II do CPH e capacidade de apresentação de antígeno (RENNICK e cols., 1987; CRAWFORD e cols., 1987). O IFN- γ , FEC-GM, FNT- α e o FAP estimulam os macrófagos a secretar IRO (SOLBACH e cols., 1991).

A ativação do macrófago pode trazer consequências que não são benéficas ao organismo, sendo necessário um sistema que leva a diminuição ou supressão da atividade funcional dos macrófagos. Várias substâncias endógenas e exógenas tem efeito modulatório sobre os macrófagos. O LPS pode suprimir parcialmente a expressão de moléculas de classe II do CPH induzidos pelo IFN- γ (STEEG e cols., 1982), bem como a capacidade dos receptores para Fc de induzir secreção de IRO (JONHSTON e cols., 1985). Os complexos imunes suprimem a função tumoricida (ESPARZA e cols., 1983) e a capacidade dos macrófagos de apresentar antígenos (VIRGIN e cols., 1985). Os glicocorti

cóides inibem a produção de IL-1 (SNYDER & UNANUE, 1982), FNT (BEUTLER e cols., 1986), prostaglandinas e collagenase (WAHL & WAHL, 1985), bem como, suprimem a expressão de antígenos de classe II do CPH induzidos pelo IFN- γ (WARREN & VOGEL, 1985).

A anti-protease α_2 - macroglobulina (α_2 -M), inibe os macrófagos ativados de secretarem proteases neutras e citolíticas, de libertar IRO e de expressar moléculas de classe II do CPH (ADAMS & HAMILTON, 1984; FELDMAN e cols., 1985). A prostaglandina E_2 inibe a capacidade tumoricida e a capacidade de apresentação de antígenos dos macrófagos (GEMSA, 1981). Já o fator transformador de crescimento (FTC) α e β e o fator desativador de macrófagos (FDM), suprimem a secreção de IRO e intermediários reativos do nitrogênio (IRN) em macrófagos ativados estimulados pelo IFN- γ (TSUNAWAKI e cols., 1988; SRIMAL & NATHAN, 1990; DING e cols., 1990).

RECEPTORES EM MACRÓFAGOS.

Como os macrófagos possuem a versatilidade de regular eficazmente sua maquinária bioquímica, bem como, modificá-la para exercer as suas funções biológicas, é de se esperar que essas células sejam eficientes na captura de sinais provenientes do microambiente que os cerca. Para tanto, é necessário que essas células expressem receptores de membrana capazes de traduzir a mensagem para o meio intra-celular, possibilitando assim ativar ou reprimir genes e vias metabólicas para responder ao estímulo recebido.

Os macrófagos podem ter em sua membrana plasmática, mais de 50 receptores específicos para ligantes, que foram testados quanto a sua especificidade e saturabilidade de ligação ao ligante (WRIGHT & SILVERSTEIN, 1986; ADAMS & HAMILTON, 1988). (Tabela 4). Cabe lembrar que um macrófago não expressa todos esses receptores ao mesmo tempo. A expressão do receptor está relacionado a fatores como nível de diferenciação das células, estado de ativação, a atividade funcional e principalmente ao microambiente onde se encontra (WERB, 1983; WRIGHT & SILVERSTEIN, 1986; ADAMS & HAMILTON, 1988).

Os receptores de macrófagos são bastante diversificados e abrangem os envolvidos na endocitose como: receptores para Fc de imunoglobulinas, receptores para vários componentes do sistema complemento, receptores para açúcares específicos (lectinas), e receptores para lipoproteínas modificadas quimicamente ou não e proteínas como transferrina e lactoferrina (NATHAN, 1987; ADAMS & HAMILTON, 1988). Há também uma grande variedade de receptores para moléculas com função regulatória como os fatores hematopoiéticos, citocinas, neuropeptídeos, agentes adrenérgicos, agentes colinérgicos, histamina, etc. Cabe lembrar, que a natureza molecular, bem como, a ati

TABELA 4 - LIGANTES A RECEPTORES DE MACRÓFAGOS

<u>PROTEÍNAS REGULATÓRIAS</u>	<u>GLICOPROTEÍNAS E CARBOIDRATOS</u>
IFN α e IFN β	Glicoproteínas com manose / fucose terminal
IFN γ	Glicoproteínas com manose-6-fosfato terminal
CSF-1	Glicoproteínas com galactose terminal
TNF	Heparina
α -2 Macroglobulina	
Insulina	
Glicocorticóides	
PAF	
MIF	
IL-2	
IL-3, IL-4	
<u>IMUNOGLOBULINAS</u>	<u>PEPTÍDEOS E MOLÉCULAS PEQUENAS</u>
IgG _{2a}	Substância P
IgG _{2b} / IgG ₁	Angiotensina
IgG ₃	Encefalinas / endorfinas
IgA	Arg-vasopressina
IgE	Histamina (receptores H ₁ e H ₂)
	Peptídeos - N formilados
	1,2,5-Dihidroxi vitamina D ₃
	Serotonina
<u>COMPONENTES DO SISTEMA COMPLEMENTO</u>	<u>LÍPIDEOS E LIPOPROTEÍNAS</u>
C1q	LDL
C3b	β VLDL
C3bi	Leucotriena C
C3d	Leucotriena D ₄
C5a	Leucotriena B ₄
	Prostaglandina E ₂
<u>OUTRAS PROTEÍNAS</u>	<u>OUTRAS MOLÉCULAS</u>
Transferrina	Agonistas colinérgicos
Lactoferrina	Agonistas α adrenérgicos
Fibrina	Agonistas β adrenérgicos
Fibronectina	
Produtos do fibrinogênio	
Fator VII da coagulação	
Fator VIII da coagulação	
Proteínas conjugadas com malinato	
α ₁ -Antitrombina	
Laminina	

Adaptado de Adams e Hamilton, 1988, Wright e Silverstein, 1986, Nathan, 1987

vidade modulatória que estas moléculas exercem sobre os macrófagos é pouco conhecida (NATHAN, 1987; ADAMS & HAMILTON, 1988).

Adiante, descreveremos com maior profundidade os receptores que interessam ao nosso trabalho, como os receptores para Fc de imunoglobulina G, componentes C3 do sistema complemento e com atividade de lectina.

RECEPTORES PARA A PORÇÃO Fc DA IMUNOGLOBULINA G (Fc γ R).

Os receptores que reconhecem o domínio Fc das imunoglobulinas estão presentes em vários tipos de células do sistema imune, como nos: macrófagos, linfócitos T e B, células matadoras naturais e polimorfonucleares, (RAVETCH e cols., 1986). Os primeiros estudos que demonstram a existência de receptores para Fc de IgG (Fc γ R) em macrófagos, foram realizados por BERKEN & BENACERRAF, (1966). Os FcR são membros da superfamília dos genes que codificam as imunoglobulinas, (RAVETCH e cols., 1986).

Os camundongos e humanos têm três receptores para IgG: Fc γ RI, Fc γ RII e Fc γ RIII, (UNKELESS e cols., 1988). Os receptores diferem entre si e são definidos pela sensibilidade à tripsina, afinidade pelos diferentes isótipos de imunoglobulinas humanas e de camundongos e pela expressão nos diferentes tipos de leucócitos. O Fc γ RI se liga a IgG 2a e IgG 1 com grande avidéz, e é encontrado somente em macrófagos (UNKELESS & EISEN, 1975). É sensível à tripsina, (UNKELESS, 1977), tem um peso molecular de 72 Kd e é altamente glicosilado, (RAVETCH e cols., 1986). O Fc γ RI pode apresentar polimorfismo, já que tem dois genes que o codificam (α e β); os produtos desses genes diferem quanto a porção responsável pela codificação do domínio citoplasmático, (HUIZINGA e cols., 1990). O Fc γ RII liga com alta afinidade às moléculas de IgG 2b e IgG 1 e com baixa afinidade com IgG 2a, (DIAMOND & SCHARFF, 1980; UNKELESS, 1979). Estes receptores são resistentes à tripsina, (UNKELESS, 1979), são glicosiladas e tem um peso molecular de 40 Kd, (UNKELESS e cols., 1988). Dentre os receptores para Fc de IgG, este é o que possui domínios com maior homologia com as imunoglobulinas. Essas moléculas podem ser codificadas por três genes diferentes (α_1 , β_1 , β_2), que codificam estrutura

ras que diferem quanto a sua sequência sinalizadora, sua porção transmembrana e domínio intracitoplasmático. O gene α_1 é transcrito em macrófagos e células matadoras naturais, o gene β_2 é expresso predominantemente em linfócitos T e B, enquanto que, o gene β_1 é expresso preferencialmente em macrófagos, (RAVETCH e cols., 1986).

O terceiro e último, Fc γ RIII é caracterizado por ser específico para IgG 3, (DIAMOND & YELTON, 1981). A sua estrutura molecular é desconhecida. Sabe-se no entanto, que o gene responsável pela sua codificação está próximo ao gene que codifica o Fc ϵ RI, (RA e cols., 1989), bem como, que esta molécula não é ancorada em fosfatidil-inositol-glicana como ocorre com o Fc γ RIII em humanos, (SCALLON e cols., 1989).

Os macrófagos além de ter Fc γ R, tem receptores para IgE, (SPIELBERG e cols., 1983) e IgM, (HUNSON, 1967; MANTOVANI, 1981; ISAAC & MARIANO, 1988).

Os Fc γ R desempenham um papel vital na imunidade do hospedeiro, pois, servem de elo entre a resposta imune humoral e celular, auxiliando nos processos de fagocitose, remoção de complexos imunes, células lesadas ou velhas, na atividade citotóxica contra tumores e microorganismos, e na regulação de diferentes células envolvidas na resposta imunológica.

Dentre os diferentes tipos de FcR existentes, os Fc γ R desempenham papel importante na fagocitose de partículas opsonizadas com anticorpo, devido ao fato da IgG ser o anticorpo encontrado em maiores quantidades nos fluidos biológicos e o Fc γ R estar distribuído em quase todas as células envolvidas na resposta imune. Os Fc γ R estão envolvidos na fagocitose de partículas estranhas (RABINOVITCH, 1967; REYNOLDS, 1974) bem como, de material autóctone (KAY, 1975). Sabe-se hoje, que os três tipos de Fc γ R são capazes de ligar e ingerir partículas recobertas com IgG (UNKELESS e cols., 1988). Os Fc γ R

são importantes para as células matadoras desempenharem a citotoxidade celular dependente de anticorpo (CCDA) (HASKILL & FETT, 1976; ADAMS e cols., 1983). O isotipo de IgG é importante para a realização da CCDA. Cabe lembrar que células tumorais, protozoários e helmintos são destruídos por CCDA. A remoção de FcγRI através do tratamento pela tripsina, inibiu em torno de 80% da atividade citotóxica dos macrófagos sobre células tumorais recobertas com diferentes isótipos de IgG, e mostrou que o isótipo IgG 2a é a molécula mais importante para mediar essa atividade citotóxica (HAMILTON & ADAMS, 1987), apesar da IgG 2b e IgG 3, serem também capazes de mediar tal função (KIPPS e cols., 1985).

Como dissemos anteriormente, os FcγR, via CCDA, estão envolvidos na imunidade contra parasitas como o : Trypanossoma cruzi (SANDERSON e cols., 1977); MADEIRA e cols., 1979; KIERSZENBAUM, 1979; KIPNIS e cols., 1981; LIMA-MARTINS e cols., 1985; UMEKITA e cols., 1988) e Schistossoma mansoni (CAPRON e cols., 1975).

Uma outra função importante dos FcγR é fazer a remoção de complexos imunes do sangue (CLARKSON e cols., 1986), bem como na remoção de hemácias senescentes (KAY, 1975). Quando o FcγR é ocupado pelo Fc da IgG complexado com o antígeno, ele é capaz de mediar sinais intracelulares que levam a célula a liberar mediadores inflamatórios como a prostaglandina E₂ (KURLAND & BOCKMAN, 1978), secretar intermediários reativos do oxigênio como O₂⁻ e H₂O₂, que exercem papel importante na mediação da CCDA, (GOLDSTEIN e cols., 1975 ; ADAMS & NATHAN, 1983), e secreção de várias enzimas como a colagenase, a lisozima, (PASSWELL e cols., 1980) e hidrolase lissossomais, (CORDELLA e cols., 1974).

A respeito do papel exercido pelos FcγR na modulação da resposta imunológica, evidências experimentais mosu

tram a predominância de seu efeito inibitório sobre o estímulo. Os trabalhos de PHILLIPS & PARKER, (1983) e PHILLIPS & PARKER, (1985), mostram que isótipos de IgG associados na membrana de linfócitos B, via FcγR, tem efeito inibitório na proliferação e secreção de anticorpos induzidos por anti-IgM. Em macrófagos, a associação de complexos imunes via FcγR levam essa célula a não ser sensível a ação do interferon γ de induzir expressão de moléculas de classe II do CPH, (VIRGIN e cols., 1985). Os linfócitos T e macrófagos secretam FcγR para o meio extracelular, (FRIDMAN & GOLDSTEIN, 1974 e LOUBE & DORRINGTON, 1980). Estes FcγR solúveis são capazes de suprimir a produção de anticorpos pelos linfócitos B de modo a ser dose e tempo dependentes, (FRIDMAN e cols., 1987). Os receptores de FcγR em linfócitos T auxiliares, quando ativados por fragmentos de Fcγ, são capazes de induzir a proliferação desta célula, induzir a secreção de linfocinas e fatores de crescimento de linfócitos B, (MORGAN e cols., 1981).

RECEPTORES PARA O COMPONENTE C3 DO SISTEMA COMPLEMENTO EM MACRÓFAGOS.

Os seres vertebrados e invertebrados, constantemente sofrem ataques e são invadidos por vários tipos de patógenos. Filogeneticamente o mais antigo mecanismo de resistência destes seres contra os agentes agressores é o sistema complemento, que é composto por um complexo grupo de proteínas e glicoproteínas existente nos fluidos biológicos, que se interagem entre si em forma de cascata semelhante a que ocorre com o sistema de coagulação. A ativação dos componentes do sistema complemento resulta na indução e a regulação da reação inflamatória, na opsonização das partículas para a fagocitose, na mediação da citotoxicidade direta contra células e microorganismos e, na regulação das funções de linfócitos e macrófagos. A ativação do sistema complemento gera a C3 convertase que cliva a molécula de C3, originando dois fragmentos denominados de C3a e C3b. A molécula de C3 e os produtos derivados de sua clivagem, tem importância no papel desempenhado pelos macrófagos, já que essas células tem receptores para tais moléculas, (FEARON & WONG, 1983).

Um dos receptores para produtos derivados da clivagem de C3 é o CR1 que liga preferencialmente moléculas de C3b, mas é capaz de ligar às moléculas de iC3b (C3 inativado) e C4b, (WONG & FEARON, 1987). Este receptor tem várias formas alotípicas que são glicosiladas e possuem peso molecular que variam de 160 a 260 Kd, (DYKMAN e cols., 1985). Em sua estrutura encontram-se segmentos repetitivos que permitem a ligação com várias moléculas de C3b ou C4b, (KLICKSTEIN e cols., 1988). O CR1 é encontrado em: monócitos, macrófagos, eritrócitos, granulócitos e células do epitélio glomerular renal (ROSS & MEDOFF, 1985). O CR1 faz parte da superfamília de proteínas

importantes na ativação e regulação da cascata do sistema complemento, dentre elas temos o: fator H, C4Bp, CR2, DAF, C2 e fator B (KRISTENSEN e cols., 1987). A adesão e a fagocitose de partículas ou complexos imunes opsonizados com C3b ou C4b é uma das funções exercidas pelo CR1, no entanto, para que as partículas sejam internalizadas é necessário um segundo sinal no macrófago via receptor FcR (EHLENBERGER & NUSSENZWEIG, 1977). A principal função fisiológica desempenhada pelo CR1 é a remoção de complexos imunes da circulação através da ligação desses aos eritrócitos, que transportam os complexos imunes dos locais de formação para serem degradados nos sinusóides hepáticos pelos macrófagos (CORNACOFF e cols., 1983). O CR1 tem função importante na degradação do C3b e C4b, levando à formação de C3dg e C4d respectivamente (ROSS & MEDOF, 1985).

Um outro receptor para produtos resultantes da clivagem de C3 é o CR3 ou CD11b/18, que é o receptor para iC3b (WRIGHT e cols., 1983). Em camundongo esta proteína é denominada de Mac-1 (SPRINGER e cols., 1979). O CR3 é membro da família das moléculas de adesão de leucócitos (Integrinas) onde estão incluídos entre outros o LFA-1 (antígeno funcional de linfócitos - tipo 1) e o p150/95. A função das integrinas é fazer a adesão dos leucócitos com outros leucócitos, com o endotélio e com as fibras colágenas da matriz extravascular, (ALBERNA & BUCK, 1990). Estas moléculas são heterodiméricas, não covalentemente associadas, e tem em comum a cadeia β , com um peso molecular de 95 Kd. A cadeia α é distinta de uma molécula para outra, porém, tem um peso molecular aproximado de 15 Kd, (SPRINGER e cols., 1982). O CR3 reconhece a sequência arginina-glicina-aspartato (RGD) na molécula de iC3b, (WRIGHT e cols., 1987). Esta propriedade faz com que o CR3 reconheça esta sequência em moléculas que não fazem parte da

cascata do sistema complemento, fazendo com que os leucócitos possam interagir com diversas moléculas como o fator X da cascata de coagulação (ALTIERI & EDGINGTON, 1988), com o fibrinogênio (WRIGHT e cols., 1988) e com a glicoproteína gp 63 da membrana dos parasitas do gênero *Leishmania*, (RUSSEL & WRIGHT, 1988). O CR3 como o CR1 é capaz de ligar-se às partículas recobertas com produtos de clivagem de C3. No entanto, é incapaz de promover a internalização de tais partículas a não ser que haja concomitantemente a formação de uma interação conjunta via FcR, (SILVERSTEIN e cols., 1988). Partículas opsonizadas com C3b e produtos derivados de sua clivagem não induzem a liberação de prostaglandina E_2 pelos neutrófilos e macrófagos, (ADERUM e cols., 1985) bem como não promovem a liberação de H_2O_2 de monócitos humanos (WRIGHT & SILVERSTEIN, 1983) e macrófagos peritoneais residentes de camundongos (YAMAMOTO & JOHNSTON Jr., 1984). Portanto, se comportam de forma diferente do que ocorre quando partículas se ligam aos fagócitos via FCyR, onde há liberação dessas substâncias. No entanto, quando macrófagos peritoneais residentes são ativados através de anticorpo monoclonais anti-CR3 por 48 horas, eles se tornam funcionalmente capazes de secretar grandes quantidades de H_2O_2 e passam a expressar moléculas de classe II do CPH (DING e cols., 1987). Vários micróbios são capazes de se multiplicarem dentro dos macrófagos. Alguns deles são internalizados via CR3, como exemplo podemos citar: *Leishmania major* (MOSSER & EDELSON, 1985) *Mycobacterium tuberculosis* (PAYNE e cols., 1987) *Mycobacterium leprae*, (SCHLESINGER & HORWITZ, 1988); *Legionella pneumophila*, (PAYNE & HORWITZ, 1987) e *Histoplasma capsulatum*, (BULLOCK & WHIGHT, 1987). A internalização destes agentes via CR3 é uma forma de explicar o fato destes microrganismos não sofrerem a ação dos metabólitos ativos do oxigênio ao serem fagocitados já que a ligação de partículas

ao CR3 não leva a liberação destas substâncias, (SCHLESINGER & HORWITZ, 1988).

O CR2 é um receptor para C3d e C3g, é encontrado principalmente em linfócitos B e não é encontrado em monócitos e macrófagos, (ROSS & MEDOF, 1985). Portanto, deixaremos de discutí-lo.

COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE (CPH).

A descoberta do CPH está diretamente ligado com os estudos desenvolvidos para explicar os mecanismos que levam a rejeição de transplantes. O fundamento imunogenético para esse fenômeno se deu com a utilização de animais isogênicos (geneticamente iguais) em modelo de transplantação de tumores (LITTLE & TYZZER, 1916). Em 1958, MEDAWAR utilizando animais isogênicos para os estudos de transplantação de pele, verificou que a rejeição do transplante é determinada pela resposta imunológica celular contra antígenos presentes na superfície da membrana celular do tecido transplantado. A aceitação do transplante ocorria quando havia semelhança entre os antígenos do doador e receptor. SNELL & STIMPFLING (1966), deu um passo decisivo ao identificar um importante locus gênico responsável pela forte rejeição de transplante, bem como envolvido no controle da resposta imunológica, ao qual denominou-o de CPH.

O CPH é bastante conservado entre os vertebrados. No camundongo é denominado de COMPLEXO H-2 e no homem de ANTÍGENOS LEUCOCITÁRIOS HUMANOS (ALH). O complexo H-2 está localizado no cromossomo 17 e codifica as moléculas de classe I, classe II e classe III. Existem até agora 7 regiões distintas descritas e estudadas dentro do complexo H-2, denominadas de: K, A, E, S, D, Qa e Tla, (FLAVELL e cols., 1986).

Os genes de classe I estão contidos em quatro loci gênicos denominados de: K, D-L, Qa e Tla. Esses genes codificam cadeias de peso molecular aproximado de 44 Kd, que estão associadas não covalentemente com a molécula de β 2 - microglobulina, um polipeptídeo de 12 KD codificado pelo gene que se encontra no cromossomo 2 do camundongo. A cadeia de 44 KD tem três domínios extracelulares (denominados α_1 , α_2 e α_3) ancorados por um segmento transmembrana e um segmento cito

sólido de 33 aminoácidos, (FLAVELL e cols., 1986). As moléculas K, D e L são altamente polimórficas (KLEIN e cols., 1978) e são expressos na superfície de todas as células nucleadas. Os produtos da região Qa-2,3 e Tla são menos polimórficos, e são expressos predominantemente nas células do timo e em leucemias T. (STANTON & BOYSE, 1976; FLAHERTY, 1981). Sua função biológica é pouco conhecida.

Os genes de classe II do CPH estão localizados no locus gênico I, que está subdividido em quatro locus: I-A, I-B e I-E. Sorologicamente os produtos codificados pelas regiões I-A e I-E são designados como antígenos Ia. A região I-A tem genes que codificam as cadeias A α , A β e E α . E na região I-E, o gene que codifica a cadeia E β . As moléculas Ia consistem em um heterodímero que são formadas pela cadeia α (35 KD) e pela cadeia β (29 KD) associadas não covalentemente. Possuem dois domínios extracelulares, um segmento transmembrana e um outro segmento citosólico, (LIEBERMAN e cols., 1972; FLAVELL e cols., 1986 e HANSEN & SACKS, 1989). As moléculas Ia são expressas em determinadas células denominadas células apresentadoras de antígenos, como: os macrófagos, linfócitos B, células de Langerhans da pele, células dendríticas dos órgãos linfóides secundários, células do epitélio tímico e células do endotélio, (UNANUE & ALLEN, 1987).

A sub-região I-B possui genes que regulam a resposta imunológica envolvendo a imunoglobulina IgG 2a, (HANSEN & SACKS, 1989). Os genes que codificam os antígenos I-J estão localizados na região I-E, (KOBORI e cols., 1986). O peso molecular da molécula I-J é em torno de 20-25 KD (KUMAGAI e cols., 1984). Estas moléculas são expressas em linfócitos T supressores (MURPHY e cols., 1976) e estão associados com o mecanismo de controle da resposta imune (MURPHY, 1987).

Os genes que codificam as moléculas de classe III

do CPH estão localizados na região S e são responsáveis pela codificação das proteínas C₄, C₂ e fator B do sistema complemento (STEINMETZ e cols., 1986).

Além dos genes responsáveis pela codificação das moléculas de classe I, II e III do CPH, o H-2 possui adjacente a região D, os genes que codificam o fator de necrose tumoral α e β , (MULLER e cols., 1987).

As moléculas codificadas pelo CPH tem inúmeras funções além de estar envolvido no processo de rejeição ou não de transplantes. Dentre elas podemos citar: seleção do repertório de linfócitos T; mediação das interações celulares envolvidos tanto na indução como no controle da resposta imune; personalização dos indivíduos na sua habilidade de responder bem ou mal a determinados antígenos, bem como, no desenvolvimento de doenças de fundo imunológico e infecciosas, (LIEBERMAN e cols., 1972; BENACERRAF & McDEVITT, 1972; ROSENTHAL & SCHEVACH, 1973; BENACERRAF, 1986).

As moléculas do CPH são capazes de reconhecer e apresentar antígenos próprios e não próprios. As moléculas de classe I ligam-se a determinantes antigênicos derivados de proteínas sintetizadas endogenamente, enquanto que, as moléculas de classe II ligam-se a determinantes antigênicos derivados de proteínas exógenas que são internalizados pelas células apresentadoras de antígeno (ALLEN, 1987). Sub-populações de linfócitos T são ativadas diferentemente dependendo da classe da molécula do CPH que apresenta o antígeno. Os linfócitos T que expressam molécula CD8, são ativados por antígenos apresentados via moléculas de classe I, já os linfócitos que expressam a molécula CD4, são ativados pelos antígenos apresentados via classe II.

Os linfócitos T CD8⁺ (citotóxicos e supressores) são capazes de reconhecer antígenos associados às moléculas de

classe I do CPH (FLAVELL e cols., 1986). A interação entre o receptor de antígeno dos linfócitos T e moléculas de classe I é fundamental para a ativação dos linfócitos $CD8^{+}$ e no reconhecimento de células neoplásicas e células infectadas por vírus, pelos linfócitos T citotóxicos (ZINKERNAGEL & DOHERTY, 1974; HANSEN & SACKS, 1989). Evidências recentes mostram que as moléculas de classe I tem grande importância nas infecções virais, pois, servem como ligantes à célula do hospedeiro para os virions (ROSSMANN, 1989), a exemplo do que ocorre com a molécula CD4 nas infecções pelo vírus da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA).

A ativação dos linfócitos T $CD4^{+}$ (auxiliadores) envolve interações célula-célula e via citocinas. Um dos sinais mais importantes é a interação molecular entre o receptor de antígeno T e o antígeno associado à molécula de classe II (HEBER-KATZ e cols., 1983). Os diferentes alelos da molécula de classe II tem um importante papel na resposta a um antígeno complexo com vários determinantes antigênicos diferentes, pois, a resposta ou não resposta ao antígeno está condicionado a ligação ou não do determinante antigênico às moléculas de classe II, sendo que algumas sequências polipeptídicas ligam-se somente a determinados alelos da molécula de classe II (UNANUE & ALLEN, 1987).

As moléculas de classe II estão envolvidos também no processo de maturação dos linfócitos $CD4^{+}$ a nível tímico (KRUISBEEK e cols., 1983) e no controle da resposta imunológica (BRAAKMAN e cols., 1987). Estes últimos autores demonstraram que linfócitos $CD4^{+}$ citotóxicos restritos a moléculas de classe II, que aparecem tardiamente durante a resposta imunológica, são capazes de reconhecer e matar a célula apresentadora de antígeno, inibindo assim a geração dos linfócitos T auxiliares. WASSON e cols. (1987), demonstraram também que

antígenos apresentados no contexto de moléculas codificadas pela região I-E, induzem uma resposta que suprime a proliferação de linfócitos T restritos às moléculas codificadas pela região I-A e que camundongos que expressam moléculas da região I-E são mais susceptíveis às infecções por nematodos que camundongos que não expressam moléculas da região I-E. OLIVEIRA & MITCHISON, (1989), mostraram evidências que moléculas de classe II codificadas pela região I-E são especializadas em induzir linfócitos T supressores.

SISTEMA DE APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENOS.

O reconhecimento e a apresentação de antígenos próprios e não próprios tem importância fundamental no sistema de defesa do hospedeiro, pois, interfere na geração do repertório dos linfócitos T, na regulação dos mecanismos de tolerância, bem como, na efetuação ou não da resposta imunológica contra os agentes agressores. O mecanismo pelo qual se dá a captação, o processamento e a apresentação de antígenos tem até o momento lacunas a serem desvendadas. No entanto o aperfeiçoamento e o domínio da química de proteínas e da bioquímica celular, tem trazido importantes achados para o entendimento deste fenômeno.

Os linfócitos B, através das imunoglobulinas, reconhecem no antígeno, determinantes conformacionais que requer a proteína na forma nativa. Em contrapartida os linfócitos T somente são capazes de reconhecer segmentos antigênicos encontrados na proteína desnaturada ou fragmentada (UNANUE & ALLEN, 1987; UNANUE, 1988). As moléculas de classe I e classe II do CPH são capazes de selecionar determinados fragmentos do antígeno e apresentá-lo aos linfócitos T, o que foi denominado por ROSENTHAL e cols. (1977) de Seleção de determinantes. A capacidade de selecionar mais ou menos determinantes pelas moléculas do CPH é o que condiciona uma boa ou má resposta a um determinado antígeno. Vários tipos de células localizadas em diferentes tecidos podem ter a função de apresentação de antígenos. Com relação às células que apresentam antígenos no contexto de moléculas de classe II do CPH, temos entre outras: os macrófagos, linfócitos B; as células dendríticas, as células de langerhans, células do epitélio tímico e células endoteliais (UNANUE, 1989). Já a apresentação no contexto de moléculas de classe I do CPH, teoricamente, são efetuadas por to

das as células nucleadas, pois, estas células expressam moléculas de classe I na membrana.

A apresentação do antígeno via moléculas de classe II do CPH, que levam a ativação de linfócitos T $CD4^+$ requer inicialmente a internalização do antígeno e posterior processamento bioquímico no citoplasma da célula apresentadora de antígeno. Esse processamento ocorre no interior dos fagolisossomos, onde o pH é relativamente ácido e há grande quantidade de enzimas proteolíticas (UNANUE, 1984). Após o processamento, os fragmentos antigênicos associam-se, ainda dentro dos fagolisossomos, com as moléculas de classe II. Os fragmentos antigênicos associados às moléculas da classe II são então reexpressos na membrana plasmática da célula apresentadora (ZIEGLER & UNANUE, 1981).

Os peptídeos pequenos ou fragmentos de antígenos resultantes da digestão por proteases, não necessitam de processamento, pois, são capazes de se ligarem diretamente com as moléculas de classe II existentes na membrana plasmática (ALLEN & UNANUE, 1984). Estudos mostram que tais fragmentos de antígenos necessitam ter de 6 a 10 aminoácidos para ativar clones de linfócitos T específicos para antígenos. Estes dados resultaram de estudos, utilizando-se como antígeno a lisozima de ovo, (ALLEN & UNANUE, 1984), a mioglobina (BERKOWER e cols., 1984) e o citocromo c (KOVAC & SCHWARTZ, 1985).

Em relação a apresentação de antígenos via molécula de classe I do CPH, que levam a ativação de linfócitos T $CD8^+$, trabalhos clássicos mostram que antígenos virais são apresentados, restritos a classe I, por células infectadas pelo vírus (ZINKERNAGEL & DOHERTY, 1974). No que diz respeito a via intracelular que o antígeno percorre até a associação com as moléculas de classe I, os trabalhos existentes são na maioria inconclusivos ou excluem determinadas vias intracelulares.

BRACIALE e cols., (1987), utilizando drogas que inibem a fusão do lisossomo com o fagossomo, demonstraram que mesmo nessas circunstâncias, as células apresentadoras de antígenos são capazes de apresentar antígeno no contexto de classe I. Este mesmo grupo demonstra um fenômeno de "capping" de moléculas de classe I na membrana plasmática e que após internalização se concentram no complexo de golgi, onde proteínas virais recém-sintetizadas pelo retículo endoplasmático rugoso associam-se às moléculas de classe I e posteriormente são reexpressas na membrana plasmática (BRACIALE e cols., 1987 ; FISCHER e cols., 1990). Tais resultados sugerem que determinantes antigênicos sintetizados intracelularmente associam-se às moléculas de classe I, diferentemente dos determinantes que associam às moléculas de classe II que originam-se do conjunto de proteínas exógenas endocitadas.

Trabalhos recentes tem mostrado que peptídeos virais recombinantes ou sintéticos podem ser apresentados no contexto de moléculas de classe I e ativar linfócitos T citotóxicos sem a necessidade de internalizar o antígeno (TOWNSEND e cols., 1986; HOSKEN e cols., 1989; AICHELE e cols., 1990).

INTERLEUCINA 1.

A descoberta da interleucina 1 (IL-1), se deu através do trabalho de GERY e cols. (1972), que descreveram um produto secretado por macrófagos que atua como co-mitogênico para timócitos e linfócitos T de camundongos. A maior fonte produtora de IL-1 são as células de linhagem monócito/macrófago, porém outras células como: fibroblastos, neutrófilos, linfócitos B, células endoteliais, célula muscular lisa, mastócitos e queratinócitos também são capazes de secretar esta interleucina (DURUN e cols., 1986; MIZEL, 1989). A IL-1 é sintetizada na forma nativa com peso molecular de 33 Kd, após o processo de clivagem durante ou após a sua secreção, o peso molecular pode variar entre 13 a 17 Kd (GIRI, 1985). A interleucina 1, pode também estar associado à membrana citoplasmática (KURT JONES e cols., 1985). Estudos de clonagem do gene, revelaram que existem pelo menos dois tipos de IL-1, denominadas respectivamente de α e β . Elas podem ser distinguidas através do seu ponto isoelétrico, a IL-1 α possui o pI próximo a 5 e a IL-1 β em torno de 7 (LOMEDICO, 1987). Várias substâncias são capazes de induzir a produção de IL-1 em monócitos e macrófagos. Fatores exógenos como as: endotoxinas, exotoxinas, hemaglutininas de vírus, protozoários (DURUM & OPPENHEIM, 1989) e substâncias endógenas como C5a, fator estimulador de Colônia-1 (CSF-1), TNF- α (DINARELLO e cols., 1987), fator transformador de crescimento β (FTC- β) (WAHL e cols., 1987), a IL-1 por si só (DINARELLO e cols., 1987), e opióides endógenos como a β -endorfina (APTE e cols., 1990).

As atividades biológicas da IL-1 são bastante diversificadas tanto com relação ao seu efeito como sobre o tipo celular. Dentre as células sobre as quais a IL-1 exerce seus efeitos destacam-se as que participam do processo inflamatório

como: fibroblastos, células sinoviais, condrócitos, células en doteliais, hepatócitos, neutrófilos e osteoclastos, bem como as células que participam da resposta imunológica como: linfócitos B, linfócitos T e macrófagos (DINARELLO, 1984 e MIZEL, 1989). A IL-1 podem atuar também como um mediador neuro-endócrino, agindo em células do hipotálamo, induzindo febre e secreção do fator liberador de corticotropina. Ela tem ação também em terminações nervosas periféricas envolvidas com a dor (DURUM e cols., 1988). A IL-1 é considerada um importante mediador inflamatório devido ao fato de ter atividade pró-inflamatória e ser encontrada em grandes quantidades em focos inflamatórios (DINARELLO, 1984). Dentre as principais atividades inflamatórias da IL-1, destacam-se a capacidade de induzir febre (pirogênio endógeno), induzir secreção de proteínas da fase aguda no fígado, induzir a adesão de neutrófilos ao endotélio e posterior migração para o espaço extra-vascular, causar edema e induzir a secreção de: prostaglandinas, fator de necrose tumoral e interleucina 6 (DINARELLO, 1984 e MIZEL, 1989).

Em linfócitos T, a IL-1 pode atuar tanto em seu desenvolvimento bem como em sua ativação. Dentre essas atividades encontram-se: participação na maturação de linfócitos T no timo; indução da síntese e secreção de interleucina 2; indução da síntese, secreção e expressão de receptores de alta afinidade para interleucina 2 e induzir proliferação de linfócitos T (DINARELLO, 1984; SHIRAKAWA e cols., 1986 e MIZEL, 1988). Estudos recentes, utilizando clones de linfócitos T mostraram que, linfócitos T auxiliares, que produzem interleucina 4, expressam receptores para IL-1 e são responsivos a esta interleucina. No entanto, linfócitos T auxiliares que produzem interleucina 2 não expressam receptores para IL-1 e não são responsivos a ela. Tais resultados sugerem que a IL-1

atua apenas sobre determinadas sub-populações de linfócitos T (GREENBAUM e cols., 1988). Existem evidências de que a IL-1 pode atuar sobre linfócitos T supressores, inibindo o seu desenvolvimento e a sua atividade funcional (DURUM e cols., 1986).

Nos linfócitos B, a IL-1 age em dois estágios. Em células pré-B, ela induz maturação, ativando a síntese da cadeia leve de imunoglobulinas, bem como a expressão de imunoglobulinas na membrana plasmática (GIRI e cols., 1984). Em linfócitos B maduros, durante a sua ativação pelo antígeno, a IL-1 tem um efeito sinérgico aos fatores de linfócitos T auxiliares como a interleucina 4 e 5, aumentando a proliferação dos linfócitos B e induzindo a secreção de imunoglobulinas, (KOFFMAN e cols., 1987).

A IL-1 atua também sobre macrófagos, induzindo o aumento da síntese de prostaglandinas, da secreção de interleucina 6, da secreção de fatores pró-coagulantes, de ativadores do plaminogênio, e aumento da atividade de citotóxica de macrófagos para determinados tipos de tumores (DURUM e cols., 1984; DURUM e cols., 1988 e DURUM & OPPENHEIM, 1989).

A IL-1 tem ainda ação hematopoiética. Isto é devido ao fato dessa interleucina agir na medula óssea induzindo a secreção de fatores estimuladores de colônia pelos macrófagos (DINARELLO, 1984) bem como, por sua ação direta sobre os precursores hematopoiéticos (DURUM e cols., 1988).

FATOR DE NECROSE TUMORAL (FNT).

Os primeiros trabalhos sobre necrose tumoral, foram relatados em pacientes com câncer, que ao serem inoculados com toxinas bacterianas derivadas de *Streptococcus* e *Serratia* apresentavam necrose hemorrágica na massa tumoral (COLEY, 1893, citado por (COLEY NAUTS e cols., 1953). SHEAR & PERRAULT (1944), citado por (CARSWELL, 1975), mostraram que o lipopolissacarídeo ou endotoxina (LPS) é um potente indutor de necrose tumoral. Em 1975, CARSWELL e cols., demonstraram a existência de um fator no soro de animais imunizados com *Bacilo de Calmette-Guérin* (BCG) e desafiados com LPS, que foi capaz de causar necrose hemorrágica em tumores transplantados em camundongos. A esta substância deu o nome de Fator de Necrose Tumoral (FNT). Este fator é produzido principalmente por células da linhagem monócito/macrófago (MATTHEWS 1978 e MANNEL e cols., 1980).

Paralelamente, estudos efetuados por ROUZER & CERAMI (1980), que investigavam as causas da intensa caquexia em coelhos infectados com *Trypanossoma brucei*, mostraram que estes animais perdiam em torno de 50% de seu peso durante o curso da infecção. Apresentavam lipemia devido ao aumento de triglicerídeos no sangue, consequente da deficiência de enzima lipase lipoprotéica. Estudos subsequentes mostraram que esta enzima também se encontra inibida em animais que são tratados com LPS (SAKAGUCHI & SAKAGUCHI, 1979) sugerindo que um fator endógeno seria o causador da inibição desta enzima. BEUTLER e cols. (1985 a) caracterizaram e purificaram um fator que foi denominado de caquexina, de peso molecular de 17 Kd, produzido por uma linhagem de macrófagos ativados com LPS. Este fator inibia a lipase lipoprotéica e induzia caquexia. Finalmente, BEUTLER e cols. (1985 b) demonstraram por análise molecu

lar e genética que o fator de necrose tumoral e a caquexina são a mesma molécula.

O FNT pode ser classificado em dois tipos: o FNT- α ou caquexina, que é produzido principalmente por macrófagos e FNT- β ou linfotóxina que é produzida por linfócitos T e linhagens linfoblastóide B. Ambos possuem semelhança quanto às características bioquímicas e atividades biológicas (BEUTLER & CERAMI, 1988). O FNT- α (camundongos) tem um peso molecular de 17 Kd, pI = 3.9, e possui 156 aminoácidos na sua estrutura, e é encontrado principalmente na forma trimérica. Ele é sintetizado na forma de pró-hormônio, contendo 79 aminoácidos adicionais na proporção amino-terminal, que é clivada posteriormente durante o processo de maturação intracitoplasmática (SHERRY & CERAMI, 1988). Pode ser secretado para o meio extra-celular ou ficar inserido na membrana plasmática (KRIEGLER e cols., 1988). Várias células podem produzir FNT após estimulação apropriada. Monócitos e macrófagos produzem grande quantidade de FNT após estimulação com substâncias como: LPS, Interferon- γ , IL-1, GM-CSF, CSF-1 e FNT, (FISH & GIFFORD, 1983; OLD, 1985; PHILIP & EPSTEIN, 1986). Os linfócitos do sangue periférico humano produzem FNT após estimulação por lectinas ou diéster de forbol e ionóforo de cálcio (CUTURI e cols., 1987).

As atividades biológicas do FNT são bastante diversificadas, podendo ter atividade sobre células envolvidas com o sistema imunológico como os neutrófilos e linfócitos bem como células envolvidas no metabolismo celular, como os adipócitos e células do tecido muscular. As ações do FNT podem ser divididas em endócrinas ou sistêmica e parácrina ou tecido específico. Como exemplo da ação endócrina, temos o seu envolvimento na patogênese do choque séptico induzido por bactéria gram-negativas, onde é responsável por grande número de

alterações metabólicas e de natureza hemodinâmica (BEUTLER e cols., 1985 c). Como exemplo de ação parácrina, temos o seu envolvimento nos processos de reparo tissular através do efeito proliferativo sobre os fibroblastos (VILEEK e cols., 1986) ou o efeito citotóxico sobre células tumorais (ZACHARCHUK e cols., 1983).

O FNT está diretamente envolvido com a caquexia, onde é responsável pela anorexia, perda de peso, catabolismo de proteínas e lipídeos e anemia (BEUTLER & CERAMI, 1988). Especificamente podemos citar o envolvimento do FNT na caquexia induzida por doenças crônicas, como as infecções causadas por parasitas (SCUDERI e cols., 1986) e pelo câncer (ADERKA e cols., 1985). O agravamento de alguns processos fisopatológicos tem sido correlacionado com o FNT, como na septicemia meningocócica, (WAAGE e cols., 1987), na malária cerebral (GRAU e cols., 1987), na rejeição aguda e na doença enxerto versus hospedeiro (PIGUET e cols., 1987) e na indução de febre nos processos infecciosos (DINARELLO e cols., 1986). Quanto ao seu efeito parácrino ou tecido específico, as mais estudadas são com relação ao seu envolvimento nos processos inflamatórios agudos e crônicos onde é envolvido na produção de prostaglandinas E_2 , produção de interleucina-1, interleucina-6, fator estimulador de colônia de granulócito-monócito (GM-CSF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PGDF), de collagenase, na indução da adesão de leucócitos no endotélio; no edema e indução de quimiotaxia de monócitos e neutrófilos, na estimulação de osteoclastos, na proliferação de fibroblastos, na indução do IRO de neutrófilos e angiogênese (DINARELLO, 1987; SHURRY & CERAMI, 1988; BENDTZEN, 1988 e BEUTLER & CERAMI, 1988). No que diz respeito a imunidade e infecção, o FNT exerce várias atividades importantes. Em linfócitos T, o FNT induz aumento de expressão de receptor para interleucina 2, aumento da res

posta proliferativa à antígenos e mitógenos e produção de interferon γ (SCHEURICH e cols., 1987 e YOKOTA e cols., 1988) . Nos linfócitos B, o FNT induz "in vivo" o aumento de células secretoras de anticorpos para antígeno T dependentes como o eritrócito de carneiro, mas não para antígenos T independentes como o polissacarídeo tipo III de pneumococo (GHIARA e cols., 1987). No sistema "in vitro" em linfócitos B humanos, o FNT é capaz de induzir proliferação e secreção de imunoglobulinas (KEHRL e cols., 1987).

Moléculas de classe I do complexo principal de histocompatibilidade (CPH), podem ser induzidos pelo FNT em células endoteliais e fibroblastos da derme (COLLINS e cols., 1986). As moléculas de classe II do CPH são induzidos em linhagens de macrófagos murinos (CHANG & LEE, 1986) e com co-estimulação com interferon γ em células β do pâncreas (PUJOL-BOREL e cols., 1987). O FNT tem efeito citotóxico sobre muitas linhagens tumorais "in vitro", mas não tem efeito sobre células normais (OLD, 1985). No que diz respeito a atividade anti-viral do FNT, os resultados são controversos, pois, trabalhos mostram que esta atividade parece estar correlacionado com a produção de interferon $\beta 2$ (KOHASE e cols., 1986). Em contraste, WONG & GOEDDEL (1986) demonstraram que esta atividade anti-viral é independente da produção de interferon $\beta 2$. Um campo onde o FNT tem despertado grande interesse é a imunoparasitologia. CLARK e cols. (1981), demonstraram a produção aumentada desse fator durante a infecção pela malária em camundongos. TITTO e cols. (1986), observaram que macrófagos de camundongo tratados com FNT recombinante são capazes de destruir eficazmente o *Trypanossoma cruzi*; já WIRT & KIERSZEBAUM (1988) utilizando o mesmo protocolo mostraram que a atividade tripasomicida dos macrófagos ocorre somente na presença de FNT e LPS. TARLENTON (1988) mostra que as formas epimastigotas e

tripomastigotas de *T. cruzi* são capazes de induzir a produção de grandes quantidades de FNT em macrófagos esplênicos de camundongos. RUSSO e cols. (1988) trabalhando com linhagens de camundongos susceptíveis e resistentes à infecção pelo *T. cruzi*, observaram que somente os animais suscetíveis como o C3H, possuem quantidades mensuráveis de FNT no soro durante o curso da infecção, enquanto que, em soros de animais resistentes como o B10-A, essa citocina não é mensurável. SILBERSTEIN & DAVID (1986), demonstraram que o FNT é capaz de ativar a capacidade citotóxica de eosinófilos contra larvas de *Shistosoma mansoni*.

Pelas razões acima descritas, o fator de necrose tumoral tem despertado grande interesse no campo biomédico, tanto para o entendimento da fisiopatologia das doenças, bem como para fins terapêuticos no câncer e infecções de maneira geral. No entanto, o controle de sua produção parece ser ainda mais interessante, pois, o FNT está envolvido em inúmeras disfunções fisiológicas indesejáveis.

EXPLOSÃO RESPIRATÓRIA E LIBERAÇÃO DE INTERMEDIÁRIOS REATIVOS DO OXIGÊNIO - (IRO).

Em certas condições, os leucócitos com capacidade de fagocítica podem elevar bastante o consumo de oxigênio, como ocorre durante os processos de fagocitose ou após a estimulação de sua membrana plasmática por uma série de agentes imunológicos ou químicos. Esse aumento de consumo de oxigênio, denominado de explosão respiratória, é acompanhado pela produção de íon superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que pode ser convertido para formar o radical hidroxil ($OH\cdot$) e o oxigênio simples (1O_2). Esses compostos são denominados de intermediários reativos de oxigênio (IRO). O NADPH. O_2 -oxido redutase ou NADP-oxidase é uma enzima responsável pelo transporte transmembrana de elétrons onde o NADP citosólico é o doador de elétrons e o oxigênio o aceptor desse elétron. O produto formado é o íon superóxido que é liberado para o outro lado da superfície da membrana, isto é, no espaço extracelular ou dentro dos vacúolos fagocíticos da célula (BAGIOLLINI & WYMAN, 1990). Os fagócitos ativados são capazes de ativar a NADP-oxidase e produzir o íon superóxido (FORMAN e cols., 1980). O íon superóxido pode gerar peróxido de hidrogênio pela reação: $2 O_2^- + 2 H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$. Essa reação ocorre de forma não enzimática, mas pode ser acelerada pela enzima superóxido dismutase (SOD) (CURNETTE & BABIOR, 1987). O O_2^- e H_2O_2 podem ser liberados para o meio extracelular, no entanto, somente o H_2O_2 pode penetrar na membrana de outras células. Na presença de cátions provenientes de metais de transição como o ferro e cobre, o H_2O_2 pode formar espécies altamente oxidantes. O íon mais importante e o produzido em maior quantidade pelos fagócitos é o radical hidroxil ($OH\cdot$). A reação se dá pela seguinte equação: $Fe^{++} + H_2O_2 \longrightarrow$ composto intermediário

$\longrightarrow \text{Fe}^{+++} + \cdot\text{OH} + \text{OH}^-$ (CURNETTE & BABIOR, 1987). O ferro reduzido necessário para desencadear estas reações pode ser obtido pela reação do cátion com o íon superóxido secretado pelos fagócitos. A reação se dá através da seguinte equação: $\text{Fe}^{+++} + \text{O}_2^- \longrightarrow \text{complexo intermediário} \longrightarrow \text{Fe}^{++} + \text{O}_2$ (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1988). Os produtos provenientes da redução do oxigênio (O_2^- , H_2O_2 e $\text{OH}\cdot$) ou da excitação dessa molécula ($^1\text{O}_2$) tem uma função importante na destruição de bactérias, fungos, vírus e micoplasmas pelos fagócitos, constituindo assim um dos mais importantes mecanismos anti-microbianos destas células (BABIOR, 1978; BADWEY & KARNOVSKY, 1980). Além da função microbicida, os IRO tem função importante em vários aspectos importantes da imunologia. Podemos citar entre outros: a citólise de células tumorais (EDELSON & COHN, 1973; NATHAN e cols., 1979), supressão da atividade citotóxica das células matadoras naturais (SEAMAN e cols., 1982), supressão da atividade proliferativa de linfócitos murinos (METZGER e cols., 1990), inativação das leucotrienas B4, C4, D4 e E4 (HENDERSON & KLEBANOFF, 1983), imunidade contra malária (CAVACINI e cols., 1989) e atividade parasiticida de toxoplasma, Trypanossoma cruzi e Leishmania (NATHAN e cols., 1983). Os IRO podem também desempenhar um papel de agravar os quadros de inflamações crônicas e processos de injúria tissular. Como exemplo podemos citar o seu envolvimento na: artrite reumatóide (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1985), nas doenças por complexos imunes (WARD e cols., 1988), nas glomerulonefrites (JOHNSON e cols., 1988); na doença de Parkinson (COHEN, 1988), nos processos de isquemia cerebral (WATSON & GINSBERG, 1988) e na isquemia cardíaca (SIMPSON e cols., 1988).

O metabolismo oxidativo para a produção e secreção dos IRO não é constitutivo dos fagócitos, mas pode ser adquirido através da ativação destas células, (ADAMS & HAMILTON,

1984). Vários agentes são capazes de capacitar o macrófago a secretar IRO. Como exemplo temos: as proteases (JOHNSTON e cols., 1981), interferon γ , (NATHAN e cols., 1983), o lipopolissacarídeo (PABST & JOHNSTON, 1980), o fator agregador de plaquetas (PAF) (PRPIC e cols., 1988), *Leishmania donovani* (CHANNON e cols., 1984) e *Trypanossoma cruzi* (NOGUEIRA & COHN, 1978). Os macrófagos peritoneais elicitados por vários agentes também são capazes de liberar IRO. Podemos citar entre outros os macrófagos elicitados com bacilo de Calmette-Guérin (BCG) e LPS (JOHNSTON e cols., 1978), óleo de parafina, (KEISARI e cols., 1983), e concanavalina - A (PICK & KEISARI, 1981).

Os macrófagos ativados naturalmente não são capazes de produzir os IRO, sendo necessário dar um sinal que dispare a via metabólica oxidativa. Vários agentes são descritos na literatura, que fazem com que o fagócito libere IRO. Podemos citar entre outros partículas opsonizadas (zimozam) (ROOT & METCALF, 1988), células-alvo (linfoma) recobertas com anticorpos (CLARK & KLEBANOFF, 1977), hemácias recobertas com anticorpo (YAMAMOTO & JOHNSTON, 1984), imunoglobulinas agregadas (JOHNSTON & LEHMEYER, 1976), digitonina e deoxicolato, (GRAHAM e cols., 1967), ácidos graxos (KAKINUMA, 1974; BADWEY e cols., 1981), forbol 12-miristato 13-acetato (PMA), (REPINE e cols., 1974), íon fluoreto (CURNUTTE e cols., 1979), concanavalina A, (COHEN e cols., 1980), aglutinina de germe de trigo (WGA) (KEISARI e cols., 1983), C3b e C5a (GOLDSTEIN e cols., 1975), o interferon γ (NATHAN e cols., 1983), o fator agregador de plaquetas (PRPIC e cols., 1988) e o peptídeo quimiotático N-formil-metionil-leucil-fenil-alanina (FMLP) (BECKER e cols., 1979; LEHMEYER e cols., 1979).

RUSSO e cols. (1989) no entanto, relataram pela primeira vez a liberação espontânea de H_2O_2 e O_2^- de macró

fagos peritoneais elicitados com BCG, sem a necessidade de se incubar essas células com agentes sinalizadores, sugerindo a existência de um outro mecanismo para a liberação de IRO.

LECTINAS E MACRÓFAGOS.

As lectinas são substâncias de origem animal ou vegetal de natureza protéica ou glicoprotéica, que tem em sua estrutura sítios capazes de reconhecer oligossacarídeos associados às moléculas solúveis ou associados à membrana das células. Essa associação depende de uma conformação e configuração espacial característica (SHARON & LIS, 1989). Uma lectina pode se associar a uma ou mais moléculas de oligossacarídeo, sendo que, a maioria das lectinas tem mais de um sítio de ligação com o açúcar (FEIZI & CHILDS, 1985; ZALIK & MILOS, 1986).

A interação entre a lectina e o oligossacarídeo se dá através de ligações não covalentes e portanto reversíveis (COOK, 1986; SHARON & LIS, 1989). As lectinas fazem parte de um grupo grande de moléculas que estão envolvidas no processo de reconhecimento das células com outras células e das células com moléculas. Dentre os processos biológicos em que as lectinas estão envolvidas podemos destacar entre outros a fertilização do ovo, embriogênese, migração celular, formação dos órgãos, resposta imunológica nas neoplasias e infecção por microrganismos (ZALIK & MILOS, 1986; OFEK & SHARON, 1988; SHARON & LIS, 1989).

Em relação ao envolvimento das lectinas nas neoplasias, sabe-se que o aparecimento ou a ausência de determinados oligossacarídeos e/ou lectinas na superfície da célula normal leva a transformação desta em célula neoplásica ou metastática, (NICHOLSON, 1984; SMETS & Van BEEK, 1984). Defeitos no processo de adesão, via lectina-oligossacarídeo, dos leucócitos e plaquetas à matriz extracelular ou ao endotélio, podem trazer graves problemas de infecções recorrentes e hemorragias (ROSEN & YEDNOCK, 1986 e PARMENTIER e cols., 1990). Várias substâncias envolvidas na defesa do hospedeiro possuem ativida

de de lectinas: a proteína C-reativa e Clq (UHLENBRUCK e cols., 1979); receptores na membrana de macrófagos (OFEK & SHARON, 1988); receptor solúvel para Fc de IgE (FcεRII / CD 23) (IKUTA e cols., 1987) ou Mac-2, (CHERAYIL e cols., 1989) e lectinas (D-galactose específica) envolvidas na defesa de seres invertebrados como: da *Ascidia malaca* (PARRINELLO & ARIZZA, 1988); da *Spodoptera exigua* (PENDLAND & BOUCIAS, 1986) e da *Sarcophaga perigrina* (KOMANO e cols., 1980).

A infecção ou invasão por microrganismos patogênicos se dá através do reconhecimento e adesão do agente na célula-alvo. Dentre esses mecanismos de reconhecimento há a participação de lectinas (GIBBONS & Van HOUTE, 1975). Um dos mais conhecidos mecanismos de reconhecimento, via lectina-oligossacarídeo, é o que envolve o processo de reconhecimento das células-alvo pelo vírus da influenza, cujo capsídeo viral tem uma lectina capaz de reconhecer o ácido N-acetil neuroamínico o qual é encontrado em várias cepas de vírus (PAULSON, 1985). As bactérias também utilizam lectinas para a sua adesão às células epiteliais. A *Escherichia coli* e *Shigella flexneri*, possuem em seu pili lectinas manose - específicas que as fazem aderir às células epiteliais humanas (OFEK e cols., 1977; SHARON & LIS, 1989). Os fungos que infectam a cavidade oral como os actinomicetos, associam-se à mucosa gengival, via lectinas galactose - específicas (MIRELMAN, 1987). Os protozoários como a *Entamoeba histolytica*, que causa diarreia em humanos pela destruição e invasão da mucosa intestinal, adere aos enterócitos via lectinas específicas para N-acetilglucosamina (KOBIER & MIRELMAN, 1981) e um outro específico para galactose e N-galactosamina (PETRI Jr., 1989).

Recentemente, OFEK & SHARON (1988), mostraram que lectinas existentes na superfície dos micróbios interagem com oligossacarídeos de moléculas associadas à membrana dos

fagócitos ou vice-versa, dão origem a uma nova via de internalização de partículas denominada lectinofagocitose.

Os macrófagos tissulares possuem em sua membrana receptores com atividade lectina. Um desses receptores é uma lectina específica para manose, N-acetilglucosamina, glicose e fucose, encontrado em células de Kupffer e macrófagos alveolares, com peso molecular de 175 Kd (WILLEMAN e cols., 1986). Estes receptores estão envolvidos na remoção de hemácias senescentes e glicoproteínas do sangue (WILLEMAN e cols., 1986; OFEK & SHARON, 1988). As células de Kupffer possuem também uma lectina específica para fucose envolvidos na remoção de partículas do sangue, (ASHWELL & HARFORD, 1982). A mais conhecida molécua existente nos macrófagos com atividade lectina, é uma molécula específica para galactose presente nas células de Kupffer e hepatócitos de rato (ASWELL & HARFORD, 1982; KOLB & KOLB-BACHOFEN, 1978; KOLB BACHOFEN e cols., 1984) que possui um peso molecular de 41 Kd ou 46 Kd (SCHWARTZ & RUP, 1983). Essa lectina também é expressa na membrana de macrófagos de camundongo e está envolvida na remoção de neoglicoproteínas e células senescentes do sangue (PIZZO e cols., 1981). ODA e cols. (1988 e 1989) isolaram uma segunda lectina específica para D-galactose e N-acetil galactosamina em macrófagos ativados capazes de reconhecer e matar células tumorais.

Um terceiro receptor específico para D-galactose foi caracterizado em macrófagos do fígado de rato, (KEMPKA e cols., 1990). Este receptor é uma forma associada à membrana da proteína C-reativa, tem um peso molecular de 30 Kd mas não tem semelhança antigênica com a lectina descrita por ASWELL & HARFORD (1982) e por KOLB & KOLB-BACHOFEN (1984).

O receptor descrito por HO & SPRINGER (1982) , com especificidade para D-galactose em macrófagos é uma molécula com características de um antígeno de diferenciação de ma

crófagos peritoneais de camundongo, expresso em macrófagos eli citados pelo tioglicolato, denominada de Mac-2 e com peso mo le cular de 32 Kd. Esta molécula difere das demais lectinas, visto que pode ser secretada pelo macrófago. Paralelamente a estes estudos, JIA & WANG (1988), descreveram uma proteína ex pr essa na membrana de fibroblastos, denominada proteína 35 li gante ao carboidrato D-galactose (CBP 35). A clonagem do gene que codifica o receptor solúvel para IgE humano (FcεII/CD 23) demonstrou grande homologia com lectinas de origem animal IKUTA e cols. (1987).

ALBRANDT e cols. (1987) descreveram uma lectina D-galactose específica, ligante de baixa afinidade com a IgE de rato (rIgEBP), isolada de uma célula tumoral basofílica de rato. Em 1989, CHERAYIL e cols., através da clonagem do gene que codifica o Mac-2, demonstraram que o Mac-2, CBP 35 e rIgEBP são a mesma molécula e que esta molécula é capaz de ligar também a IgE de camundongos. Estudos recentes mos tr am ainda que o Mac-2 é a mais abundante proteína não-integri na sintetizada por macrófagos inflamatórios de camundongos li gante a laminina (WOO e cols., 1990). A clonagem do Mac-2 humano mostrou que esta molécula tem 85% de homologia com a molécula Mac-2 de camundongo CHERAYIL e cols. (1990).

As lectinas específicas para manose estão envol vi das na fagocitose: de fungos que contém mananas (WARR, 1980) de *Aspergillus fumigatus* (KAN & BENNETT, 1988); de bactérias gram-negativas (*E. coli*) (PERRY e cols., 1985); de bactérias gram-positivas (*Streptococcus* grupo B) (PERRY & OFEK, 1984) e de protozoários como a *Leishmania donovani* (CHANG, 1981) . Já as lectinas específicas para galactose e N-acetilgalactosa mi na, participam no reconhecimento e fagocitose de formas tri po mastigotas de *Trypanossoma cruzi* pelos macrófagos perito ne ais de camundongo (ARAUJO-JORGE & DE SOUZA, 1988).

Outros trabalhos mostraram ainda que as bactérias ao interagirem através das lectinas presentes em sua estrutura com oligossacarídeos presentes na membrana dos fagócitos podem ativar sistemas antimicrobianos como a quimioluminescência e liberação de enzimas. O contato dos fagócitos com a bactéria *Escherichia coli* que contém fimbrias do tipo 1, portanto com lectinas manose - específicas, leva os fagócitos a aumentar a quimioluminescência (liberação de radicais livres) (BLUMENSTOCK & JANN, 1982); MANGAN e cols., 1979); bem como a liberação de lisozima (MANGAN & SNYDER, 1979). Todos esses efeitos sobre os fagócitos são revertidos quando se coloca manose nas condições do experimento.

As lectinas de origem vegetal tem efeito sobre vários aspectos morfológicos e funcionais dos macrófagos, sendo a concanavalina A (Con-A), uma lectina manose - específica, uma das mais estudadas. Os trabalhos de SNYDERMANN e cols. (1976), RAZ e cols. (1977) e NAGAOKA e cols. (1988), mostram que entre 16 e 48 horas após a injeção dessa lectina na cavidade peritoneal de camundongos há grande influxo de macrófagos. Estudos de COLDITZ & CYBULSKY (1987) mostram que a Con-A induz inflamação na pele de coelhos com forte influxo de neutrófilos dependente de macrófagos. Esse influxo se dá de forma bifásica, pois quando a Con-A é injetada subsequentemente, há um novo influxo de neutrófilos. Este fenômeno difere da inflamação induzida pela endotoxina que é do tipo monofásica onde uma injeção subsequente de endotoxina não aumenta a influxo de neutrófilos no foco inflamatório. Os trabalhos de ALLEN e cols. (1971) e LUTTON (1973) mostram que a Con-A se liga a receptores presentes na membrana dos macrófagos. A Con-A exerce vários efeitos sobre macrófagos peritoneais residentes como: atividade de inibir migração de macrófagos (KUMAGAI & ARAI, 1973), aumento da atividade pinocítica de sua membrana e inibição da

formação do fagolisossomo, (EDELSON & COHN, 1974); induz a formação de grande número de vacúolos (GOLDMAN, 1974); aumenta a atividade adenilato-ciclase (GEMSA e cols., 1977); induz a secreção do ativador de plaminogênio (UNKELESS e cols., 1974) e atividade mitótica aumentada (WANG & BASCH, 1979).

Os macrófagos peritoneais de camundongos elicitados pela Con-A apresentam elevada atividade fosfatase ácida, aumento da granulação elétron - densa no citoplasma, lisossomos grandes e elétron - densos, aumento de número e quantidade de vesículas contendo lipídeos e diminuição da enzima 5 - nucleotidase (RAZ e cols., 1977), passam a expressar grandes quantidades de antígenos de classe II do complexo principal de histocompatibilidade (SHAPIRO e cols., 1985). Já os macrófagos elicitados com Con-A e reestimulados "in vitro" com Con-A, apresentam capacidade citotóxica sobre o sarcoma KMT-114 (TOH e cols., 1979); secretam íon superóxido (GOLDSTEIN e cols., 1975) e peróxido de hidrogênio (PICK & KEISARI, 1980).

Os macrófagos do colostro humano, expostos a Con-A resultam no desenvolvimento de células gigantes, (SMITH & GOLDMAN, 1971). O trabalho de SCHMALSTIE e cols. (1986), mostra que a Con-A se liga à membrana dos fagócitos humanos via oligossacarídeos presentes no complexo de proteínas de adesão (LFA-1/Mac-1/P-150,95).

A aglutinina derivada de germe de trigo (WGA), uma lectina específica para N-acetil glucosamina e seu isômero β -1,4, tem capacidade de se ligar à membrana de macrófagos peritoneais de camundongos, sendo que os macrófagos peritoneais residentes não possuem ligantes a WGA, enquanto que, os macrófagos peritoneais elicitados possuem grande expressão de marcadores para essa lectina. A presença do marcador para WGA está associado à presença da enzima peroxidase (de WATER e cols., 1981; de WATER e cols., 1984). A WGA elicitada macrófa

gos peritoneais em cobaias com capacidade de secretar grandes quantidades de peróxido de hidrogênio, assim como, induz a liberação de peróxido de hidrogênio de macrófagos peritoneais elicitados por vários agentes (PICK & KEISARI, 1980).

Algumas lectinas podem modular a produção de protaglandina E_2 pelos macrófagos. OHUCHI e cols. (1984), utilizando macrófagos peritoneais de camundongos elicitados com pep-tona, demonstraram que a aloctin A (ALO A), uma lectina derivada de folhas de Aloe arborescens, a WGA, a Con-A e a aglu-tinina de Pisum sativum (PSA) inibem a produção de prostaglandina E_2 , enquanto que, a aglutinina derivada da semente de soja (SBA) estimula a produção de prostaglandina E_2 .

Finalmente, KOMANO e cols. (1980) descreveram uma lectina de origem animal, denominada de lectina de sarcophaga, derivada da hemolinfa das larvas de Sacophaga peregrina e específica para D-galactose. Esta lectina é eficiente em estimular a secreção de fator de necrose tumoral de uma linhagem de macrófagos de camundongo denominado de J-774.1 (ITOH e cols., 1984; ITOH e cols., 1986).

A LECTINA JACALINA

Em 1978, MOREIRA & AINOUEZ analisando o extrato salino de sementes de jaca (*Artocarpus intergrifolia*) isolaram uma lectina com capacidade hemaglutinante de hemácias de vários mamíferos e aves (humanos, carneiro, ratos, camundongos, hamsters, coelhos e galináceos). Esta lectina tem capacidade ligante a D-galactose e foi denominada de jacalina (BUNN-MORENO & CAMPOS-NETO, 1981).

A jacalina foi caracterizada molecularmente como sendo uma glicoproteína de peso molecular aproximado de 45 Kd, composto por duas sub-unidades ligadas não covalentemente, com peso molecular de 12 a 14 Kd (MOREIRA & AINOUEZ, 1981; ROQUE-BARREIRA e cols., 1986). Trabalhos subsequentes mostraram que há diferenças quanto ao peso molecular da jacalina e das sub-unidades que a compõe, dependendo da origem das sementes de jaca utilizado para sua extração (APPUKUTTAN & BASU, 1985; AUCOUTURIERE e cols., 1987; HAGIWARA e cols., 1988).

No que diz respeito aos açúcares que inibem a atividades da lectina da jacalina, temos entre os mais potentes o: p-nitrofenil- α -D-galactopiranosídeo, 1-O-metil- α -D-galactopiranosídeo, D-melibiose, p-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo, N-acetil galactosamina e D-galactose (PEREIRA e cols., 1980; AUCOUTURIER e cols., 1987; HAGIWARA e cols. 1988; DAUMAU & FREITAS, 1989). A jacalina reconhece preferencialmente oligossacarídeos que tem D-galactose terminal ligados na configuração α do que a D-galactose terminal ligados na configuração β , bem como, não necessitam de cátions bivalentes como o cálcio e manganês para ter uma ótima ligação com o açúcar (HAGIWARA e cols., 1988). Estudos mostram que a proporção entre as sub-unidades α e β que compõe a molécula de Jacalina varia de: 3 α para 1 β (AUCOUTURIER e cols., 1987) ou 2 α

para 1β (HAGIWARA e cols., 1988).

O extrato salino de sementes de Jaca é potente mitógeno para linfócitos T e ativador policlonal de linfócitos B humanos (BUNN-MORENO & CAMPOS-NETO, 1981); induz secreção de interferon γ de linfócitos T e de hibridomas obtidos de blastos de linfócitos T humanos (CRANE e cols., 1984); ativa linfócitos T supressores humanos (SAXON e cols., 1987); induz secreção de fatores de crescimento de linfócitos T em linfócitos periféricos humanos e células esplênicas de rato (DAUMAU e cols., 1987; DAUMAU & FREITAS, 1989); induz proliferação preferencial de linfócitos T $CD4^+$ humanos (GATTASS e cols., 1988; AUCOUTURIER e cols., 1989) e induz secreção de ativador policlonal de linfócitos B de camundongos em macrófagos esplênicos de camundongos (MENGELE Jr., & CAMPOS NETO, 1991).

Devido a capacidade da jacalina se ligar à oligossacarídeos com galactose terminal, ela é capaz de se ligar a várias moléculas do sistema imune. A jacalina se liga a : molécula de IgA (ROQUE-BARREIRA & CAMPOS-NETO, 1984; ROQUE-BARREIRA & CAMPOS-NETO, 1985); sub-classe IgA-1 e não a IgA-2 (KONDOH e cols., 1986); Clq-inibidor, levando a ativação da via clássica do sistema complemento (HIEMSTRA e cols., 1987); IgD humano (AUCOUTURIER e cols., 1987); molécula CD8 de linfócitos T humanos (GATTASS e cols., 1988).

No entanto, dependendo da origem geográfica de onde se extrai a jacalina, ela pode se ligar também a IgE, IgM e IgA 2 (AUCOUTURIER e cols., 1987; HAGIWARA e cols., 1988).

OBJETIVOS DESTA INVESTIGAÇÃO.

Mediante ao fato de lectinas exercerem importantes funções na resposta imunológica do hospedeiro e os macrófagos desempenharem diversos e fundamentais papéis na imunofisiologia, pretendemos nesta investigação, verificar as atividades da lectina jacalina, uma lectina com importantes propriedades biológicas, injetada intraperitonealmente, bem como, a atividade de dessa lectina em modular atividades funcionais dos macrófagos de camundongos.

Pretendemos em nosso trabalho:

1. Estudar o exsudato peritoneal induzido pela jacalina.
2. Avaliar funcionalmente as células do exsudato peritoneal induzido pela jacalina, quanto a:
 - a) Fagocitose.
 - b) Expressão de moléculas da classe II do complexo principal de histocompatibilidade.
 - c) Apresentação de antígenos para linfócitos T.
 - d) Secreção de interleucina-1 e fator de necrose tumoral.
 - e) Produção e secreção de intermediários reativos do oxigênio (H_2O_2).

MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS.

Neste trabalho, utilizamos camundongos isogênicos BALB/c machos ou fêmeas, de 08 a 10 semanas de idade, camundongos AKR adultos, e camundongos C3H/HeJ de 04 a 06 semanas de idade, mantidos no biotério do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

REAGENTES.

Foram utilizados os seguintes reagentes: IL-1 β purificado humano (cedido pelo Dr. P. Stashenko - Forsyth Dental Center - Boston); r TNF murino e anti-TNF (cedidos pela Dr.^a M. Hontebeyrie - Joskowicz - Instituto Pasteur); linhagem de células linfoblastóide B murina (A-20), e anticorpo anti-IA^d e anti-IA^k murino (cedidos pelo Dr. Martin Dorf Harvard Medical Scholl - Boston); anti-imunoglobulina de camundongo marcado com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA); jacalina bruta e purificada (FMRP-USP); concanavalina-A - tipo IV (SIGMA), meio de cultura, tioglicolato de sódio (DIFCO); e Lipopolissacarídio bacteriano (LPS), S. typhimurium (DIFCO); meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA); soro bovino fetal (CULTILAB); L-glutamina (MERCK); 2-mercaptoetanol (MERCK); corante de Giemsa (QUIMMIS); α -naftil butirato (SIGMA); corante verde de metila (MERCK); fitohemaglutinina purificada - PHA (SIGMA); acetato mirístico de forbol - PMA (SIGMA); paraformaldeído (MERCK); peróxido de hidrogênio 30% (MERCK); vermelho de fenol - sal de sódio (MERCK); peroxidase de rabanete selvagem - HRPO tipo II (SIGMA); corante cristal - violeta

(SIGMA); Timidina tritiada - ^3H (New England Nuclear); Heparina (ROCHE); Acetona (MERCK); Hidrocloridrato de Pararosanilina (MERCK); Sepharose; Proteína-A (SIGMA).

INDUTORES DE EXSUDATO.

Como estimuladores, utilizamos o meio de cultura tioglicolato de sódio à 3%, a lectina concanavalina-A tipo IV na dose de 250 µg/animal e a jacalina na dose entre 10 - 1000 µg/animal, preparada conforme descrito por BUNN-MORENO & CAMPOS NETO (1981). Sementes de *A. interglifolia* foram secadas, moídas e suspendidas à 10% em salina tamponada com fosfatos (0,01 M) pH 7,2 - PBS, onde ficaram sob agitação por 24 horas à 4°C. O extrato foi centrifugado a 2000x G por 20 minutos. O sobrenadante foi então colhido e dializado contra solução salina à 0,85% por 24 horas a 4°C. Em seguida, a jacalina foi esterilizada por filtração, aliquotada e conservada até o momento do uso a -20°C. Em determinados experimentos, utilizamos a jacalina purificada, que foi obtida segundo protocolo de ROQUE-BARREIRA e cols. (1986). O extrato salino contendo lectinas foi cromatografado em coluna de afinidade (sepharose - IgA humana) ou (sepharose - D-galactose) e eluídos com solução aquosa contendo 0,4 M de D-galactose. Em seguida dializados com solução salina 0,85% e o grau de pureza analisado por eletroforese em gel de Poliacrilamida. A concentração proteica foi obtida pelo método de LOWRY. Os exsudatos foram induzidos pela inoculação intraperitoneal de 1 ml de solução estimuladora.

OBTENÇÃO DE CÉLULAS DO PERITÔNIO.

As células foram colhidas em tempos diferentes,

dependendo do experimento. Para tanto, 5 ml de solução salina balanceada (SSB), contendo 5U/ml de heparina, foram injetados no peritônio dos camundongos. Em seguida, a SSB contendo as células peritoneais foi imediatamente drenada com auxílio de seringa. As células foram, então, lavadas 3 vezes em meio RPMI 1640 contendo 1% de soro bovino fetal (SBF), centrifugados à 1000 rpm/10 minutos. A seguir, as células foram contadas e ressuspensas em meio e na concentração adequada para o ensaio a ser realizado.

ENSAIO DA CITOQUÍMICA DE ESTERASE NÃO-ESPECÍFICA.

Esta técnica permite avaliar a presença de enzimas lisossomais que caracterizam os leucócitos da linhagem monócito-macrófago. A técnica utilizada neste trabalho foi realizada conforme protocolo de LI e cols., (1973).

As amostras de células obtidas em tempos diferentes após a injeção dos agentes indutores de exsudato, foram fixadas em solução tamponada que contém 45% de acetona e 9,25% de formaldeído, por 30 segundos a temperatura de 4-10°C. Em seguida, lavou-se as lâminas 3 vezes em água destilada e após estarem secas, foram colocadas em jarras para coloração e incubadas por 1 hora em solução tamponada com fosfato (M/15), pH = 6,18, contendo 2,0 mg/ml de Pararosanilina e 1,0 mg/ml de α -naftil butirato.

Ao findar da incubação, as lâminas foram lavadas por mais 2 vezes em água destilada e as células coradas em solução de verde de metila a 0,5% em água por 1 minuto (coloração de fundo).

O percentual de células esterase-positivas foi obtido contando-se no mínimo 200 células.

COLORAÇÃO DE CÉLULAS PERITONEAIS.

Lâminas de microscópio foram previamente revestidas com etiquetas adesivas com perfuração central. Em seguida, alíquotas contendo 10^5 células do exsudato foram depositadas nos orifícios. As amostras assim obtidas foram secadas à temperatura ambiente e submetidas à coloração pelo Giemsa e por citoquímica para esterase não - específica.

OBTENÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-HEMÁCIAS DE CARNEIRO DAS CLASSES IgG E IgM.

O soro de coelho anti-hemácias de carneiro foi obtido conforme o protocolo de KABAT & MAYER (1971). As frações ricas em IgG e IgM foram obtidas em coluna de Sepharose-Proteína A. A fração sérica não ligada à resina foi utilizada como fonte de anticorpos predominantemente da classe IgM. Os anticorpos da classe IgG foram obtidos eluindo a coluna com tampão tris-glicina 0,05 M, pH 2,5. As frações assim obtidas, foram monitoradas por imunoeletroforese para verificação do seu grau de pureza. A titulação dos anticorpos foi feita por técnica de hemaglutinação direta.

OBTENÇÃO DO COMPLEMENTO.

Como fonte de complemento, utilizamos o soro de camundongos AKR, deficientes em C_5 . Os camundongos foram sangrados por incisão no plexo orbital. O soro foi obtido e separado à temperatura de 4°C , alíquotado e estocado a -70°C até o momento do uso.

SENSIBILIZAÇÃO DAS HEMÁCIAS DE CARNEIRO.

A sensibilização foi feita através da técnica descrita por GRIFFIN e cols. (1975). A suspensão de hemácias à 5% em SSB foi incubada com doses sub-aglutinantes de IgM (título 1/40) ou IgG (título 1/20) por 90 minutos à 37°C e, em seguida, lavadas 3 vezes em SSB. O complexo hemácia IgM foi incubado por mais 20 minutos com soro de camundongos AKR diluído 1/10 e, então, lavado por mais 3 vezes com SSB. Nos experimentos, utilizamos a suspensão de hemácias sensibilizadas à 1% em SSB contendo 2% de SFB.

OBTENÇÃO DE CÉLULAS ADERENTES PARA AVALIAÇÃO DE RECEPTORES E FAGOCITOSE.

As células peritoneais residentes ou elicítadas pelos diferentes estimuladores foram incubadas por 90 minutos a 37°C, a uma concentração de 10^5 células/poço em placas de 24 poços (Falcon), contendo lamínulas redondas. Ao final da incubação, as células não aderentes foram retiradas, lavando-se os poços 3 vezes com SSB contendo 2% de SBF a 37°C.

AVALIAÇÃO DE RECEPTORES E FAGOCITOSE VIA Fc E C3b.

As células aderentes obtidas de diferentes indutores foram incubadas por 90 minutos à 37°C com hemácias de carneiro somente, ou previamente cobertas com IgG (complexo EA) ou IgM + Complemento (complemento EAC). Em seguida, as lamínulas foram lavadas cuidadosamente com SSB contendo 2% de SBF. O percentual de células roseta-positivas foi contada em microscópio óptico invertido com aumento de 400 vezes, contando-se, no mínimo, 200 células.

Submetendo-se as hemácias ao choque hipotônico e posterior coloração pelo Giemsa, conforme COLBACHINI (1986), verificamos o percentual de células fagocitose-positivas.

EXPRESSÃO DE MOLÉCULAS DE CLASSE II (Ia) DO COMPLEXO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDADE.

Para realização deste ensaio utilizamos a técnica descrita por BELLER e cols. (1980) modificada.

Anticorpos Anti - Classe II (Ia).

Anticorpos monoclonais anti-Ia (anti-IA^d e anti-IA^k) foram obtidos de sobrenadantes de cultura de híbrido mas anti-Ia, que é mantida em meio de cultura RPMI 1640 completo. Nos experimentos, foram utilizados o sobrenadante bruto ou diluído 1/2, dependendo do título no ensaio de imunodifusão (Ouchterlony), utilizando soro de coelho anti-imunoglobulina de camundongo.

ENSAIO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA.

As células obtidas dos diferentes animais foram centrifugadas uma vez em SSB contendo 2% de SBF, ressuspensas e fixadas em paraformaldeído a 1% por 15 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, foram lavadas por mais 3 vezes em SSB/SBF, contadas e ressuspensas a uma concentração de 1×10^6 células/ml. A essa suspensão celular foi adicionado o anti-Ia e, então, incubada por 1 hora à 4°C; ao final da incubação as células foram lavadas 2 vezes em SSB/SBF e incubadas por mais 1 hora à 4°C com o anticorpo de cabra anti-imunoglobulina de camundongo conjugado com isotiocianato de fluore

ceína diluído 1/800. As células foram, em seguida, lavadas por mais 2 vezes, ressuspensas ao volume de 1 ml. Aliquotas de 100 µl foram colocadas entre lâmina e lamínula e observadas ao microscópio de fluorescência (Olympus) para contagem do percentual de células Ia⁺. Para tanto, foram contadas, no mínimo, 200 células. O percentual de células Ia⁺ foi obtido segundo a fórmula abaixo:

$$\text{Células Ia}^+ = \frac{\text{Nº total de células positivas} - \text{Nº de células positivas (conjugado)}}{\text{Nº de células totais} - \text{nº de células positivas (conjugado)}} \times 100$$

Como controle usamos a linhagem de células A-20 que, constitutivamente, expressa antígenos Ia^d e macrófagos de camundongo C3H/HeJ (Ia^k).

ENSAIO DE APRESENTAÇÃO DE ANTÍGENOS.

Este ensaio foi realizado conforme o protocolo descrito por WEAVER e cols. (1988) modificado.

Os macrófagos obtidos por diferentes estimuladores foram colhidos, lavados, enriquecidos por aderência ao plástico, removidos por bastão de borracha de silicone e incubados a uma concentração de $1-5 \times 10^4$ células/poço, em placas de fundo chato com 96 poços, em meio RPMI suplementado com 2% de SBF, 100 µg de gentamicina, 5×10^{-5} M de 2-mercaptoetanol. Os macrófagos foram incubados com o antígeno hemocianina (KLH) a uma concentração de 100 µg/ml por 8 horas em meio RPMI, lavados 3 vezes com SSB e fixados com paraformaldeído a 1%, em solução salina 0,85% por 15 minutos. Ao findar a fixação, os macrófagos foram exaustivamente lavados com SSB e incubados por 24 horas em meio RPMI contendo 100 µg de gentamicina. As células foram, então, lavadas por mais 2 vezes com SSB para retirar o paraformaldeído residual. Os poços contendo os macrófagos receberam, então, 100 µl de meio RPMI com 5% de SBF.

Os linfócitos T antígeno específicos foram obtidos de camundongos BALB/c previamente imunizados no coxim plantar com 20 µg de KLH em adjuvante completo de Freund (15 dias da realização do experimento). Os linfonodos poplíteos e inguinais foram removidos, lavados e submetidos ao processo de divulção para obtenção dos linfócitos. As células dos linfonodos foram, então, passadas em colunas de Sephadex G-10 (10 ml) e Sepharose 4B Proteína A previamente sensibilizada com anticorpos policlonais de coelho anti-imunoglobulina de camundongo, para permitir a retirada de macrófagos e linfócitos B, respectivamente. Após esse tratamento, os linfócitos T purificados foram lavados em SSB, contados e ressuspensos a uma concentração de 5×10^5 células/ml em meio RPMI contendo 5% de SBF.

No ensaio de apresentação de antígeno, os poços contendo os macrófagos incubados com antígeno, lavados, fixados e lavados novamente, foram cultivados com 5×10^5 linfócitos em meio RPMI/5% SBF por 72 horas à 37°C em atmosfera de 95% de ar e 5% de CO₂. Cerca de 9 a 12 horas antes do término da cultura, as células foram pulsadas com 0,5 µCi de timidina tritiada. As culturas foram interrompidas, coletando-se as células em coletor automático (Cell Harvester) e a leitura da timidina incorporada foi feita em contador de radiação β (Rackbeta-LKB).

ATIVIDADE INTERLEUCINA 1 (IL₁).

Obtenção dos sobrenadantes para o Teste.

Macrófagos peritoneais residentes ou induzidos pelos estimuladores foram incubados por 1 hora a 37°C em RPMI 1640 suplementado com 5% de SBF, a uma concentração de 2×10^6

células/poço, em placas de 24 poços. As células não aderentes foram removidas e os macrófagos removidos com bastão de borracha e incubados novamente a uma concentração de 1×10^6 célula/poço na presença ou não de lipopolissacarídeo (LPS) a 5 µg/ml ou jacalina purificada a 10 µg/ml por mais 24 horas. Sobrenadantes obtidos foram centrifugados e conservados em alíquotas a -70°C até o momento do ensaio.

Ensaio de Avaliação da Atividade IL_1 .

O método utilizado foi o da capacidade co-estimulatória da IL_1 sobre timócitos murinos cultivados com fitohe maglutinina, descrito por GERY e cols. (1972) modificado.

Camundongos isogênicos C3H/HeJ de 3-7 semanas de idade foram sacrificados com éter. O timo foi retirado assepticamente e os timócitos obtidos por processo de divulsão, foram lavados 1 vez em meio RPMI 1640 contendo 5% de SBF, 20 µg de gentamicina, 5×10^5 M de 2-ME e 20 mM de L-Glutamina (SIGMA).

Os timócitos foram ressuspensos à 1×10^7 células/ml e 100 µl da suspensão celular foram semeados em placa de 96 poços de fundo chato. Diluições seriadas a 1:2 dos sobrenadantes de macrófagos foram preparados e 100 µl foram adicionados por poço na presença ou não de 2 µg/ml de PHA. As células foram cultivadas por 72 horas. Cerca de 10 horas antes do término dos ensaios os timócitos foram pulsados e, em seguida, colhidos e a leitura da radioatividade foi obtida de forma semelhante às culturas de apresentação de antígenos descrita anteriormente.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO FATOR DE NECROSE TUMORAL (FNT) NOS SOBRENADANTES DE MACRÓFAGOS.

A atividade FNT foi medida pelo ensaio de citotoxicidade sobre células tumorais L-929, descrito por FLICK & GIFFORD (1984) modificado. Os mesmos sobrenadantes utilizados para a detecção da atividade IL₁ foram utilizados para verificar a atividade FNT. Previamente, células L-929 foram incubadas por 24 horas em meio RPMI 1640 com 5% de SBF a uma concentração de 3×10^4 células/poço em placas de 96 poços (Falcon). Ao término da incubação, os sobrenadantes dos poços foram removidos e 100 µl de meio novo contendo 2,0 µg/ml de actinomicina-D (SIGMA) foram colocados nos poços. Diluições seriadas 1:2 dos sobrenadantes de macrófagos, em um volume de 100 µl foram colocados nos poços contendo células L-929 e incubados por 18 a 20 horas à 37°C, em atmosfera contendo 95% de ar e 5% de CO₂. Ao findar da incubação, os sobrenadantes foram removidos invertendo-se a placa, e as células foram coradas e fixadas com 100 µl de solução contendo 0,2% de cristal violeta em 20% de metanol em água (v/v), por 15 minutos. Em seguida, os poços foram lavados com água e 100 µl de solução de lauril sulfato de sódio a 1% foi adicionado.

A leitura de absorbância de cada poço foi obtida em espectrofotômetro TITERTEK MULTISCAN utilizando-se o filtro de 540 nm, contra o branco que possui 100% das células lisadas. Como controle, usamos FNT recombinante murino em concentrações conhecidas que variam de 0,1 a 1000 U/ml. Os dados experimentais foram expressos como unidades de FNT por mililitro (U/ml), que foi definida como o inverso da maior diluição do sobrenadante capaz de lisar pelo menos 50% das células L-929.

DETECÇÃO DE H_2O_2 LIBERADA PELOS MACRÓFAGOS.

Este ensaio foi realizado conforme técnica descrita por PICK & KEISARI (1980). Células do exsudato peritoneal induzidas pelos diferentes estimuladores ou células residentes no peritônio foram incubadas a uma concentração de 1×10^6 células/poço em placas de 24 poços em SSB sem vermelho fenol, contendo 1% de SBF por 1 hora a $37^\circ C$. As células não aderentes foram removidas lavando-se os poços 2 vezes com SSB sem vermelho fenol. Aos poços foram adicionados 1 ml de solução de SSB com vermelho fenol a 0,56 mM e 50 μg de peroxidase de rabanete selvagem (PRS) e incubados por 60 minutos na presença de um dos seguintes estimuladores: acetato mirístico de forbol (10 ng), jacalina purificada (50 μg), concanavalina-A (50 μg) ou LPS (10 μg).

Ao final da incubação, os sobrenadantes foram removidos e centrifugados para retirar as possíveis células em suspensão. A reação foi alcalinizada com 10 μl de NaOH 1 N para permitir a dosagem de vermelho fenol oxidado, que é diretamente proporcional à H_2O_2 liberada pelos macrófagos. A leitura da absorbância dos sobrenadantes foi obtida em espectrofotômetro utilizando o filtro de 610 nm, contra o branco que é a solução de vermelho fenol alcalinizada. A concentração de H_2O_2 foi calculada utilizando sempre padrões de H_2O_2 com doses sabidamente conhecidas com (0,1 - 100 nM H_2O_2) com as quais traçamos uma curva padrão, o que foi realizado em todos os experimentos.

RESULTADOS.

INDUÇÃO DE EXSUDATO PERITONEAL PELA JACALINA.

Com a finalidade de verificar a capacidade da jacalina de induzir migração de células para o peritônio de camundongo, foram injetadas quantidades diferentes de jacalina bruta, que variaram de 10 a 1000 µg/animal. Os resultados expressos na figura 1A mostram a contagem de células obtidas 3 dias após a injeção. Verificou-se que a migração de células é dose-dependente, e que a dose capaz de induzir índices máximos de celularidade é a de 500 µg por animal. Doses superiores a essa não aumentaram significativamente o número de células. Foi verificado também que doses superiores a 1000 µg/animal são tóxicas, levando à morte dos animais dentro de 24 horas após a injeção.

Como a preparação de jacalina bruta possui várias outras substâncias além da lectina, testamos a atividade da jacalina purificada para indução de migração de células semelhantemente ao extrato bruto. A figura 1B mostra que a jacalina purificada é capaz de induzir migração de células no peritônio. Foi observado que a dose de 200 µg/animal induz índices máximos de células.

CINÉTICA DO NÚMERO DE CÉLULAS TOTAIS NA CAVIDADE PERITONEAL APÓS A INJEÇÃO DE JACALINA.

Com a finalidade de avaliar quantitativamente a celularidade no peritônio de animais injetados com jacalina, coletamos células após 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas. Verificou-se que o número de células aumenta, atingindo o pico 48 horas após a injeção e reduz gradativamente aos níveis normais após 120 horas (figura 2).

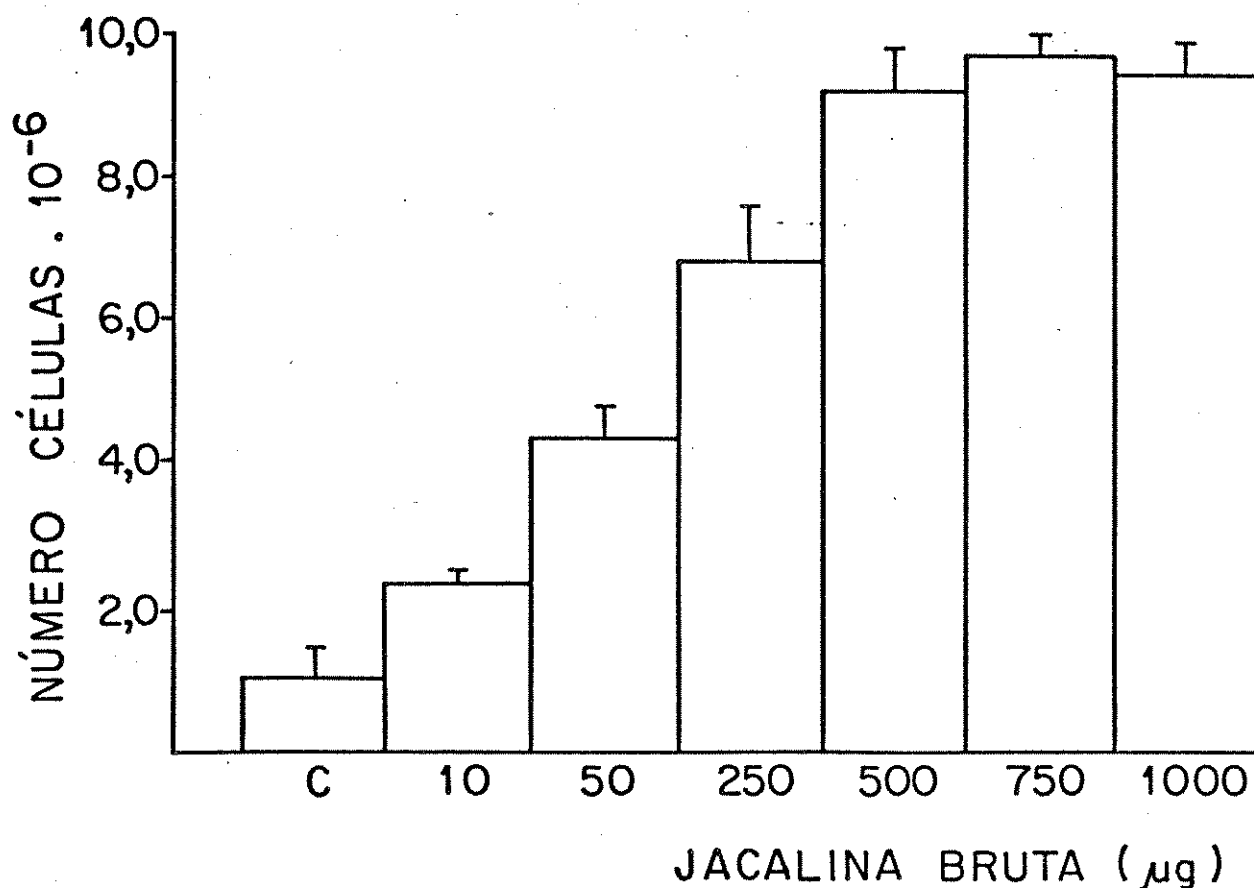


FIGURA 1A - INDUÇÃO DE EXSUDATO PERITONEAL PELA JACALINA BRUTA.

Os dados mostram o número total de células (média \pm desvio padrão) no peritônio de camundongos Balb/C, 3 dias após a injeção de Jacalina Bruta. Os resultados foram obtidos de 3 experimentos (n = 4). Como controle utilizamos solução de NaCl a 0,85%.

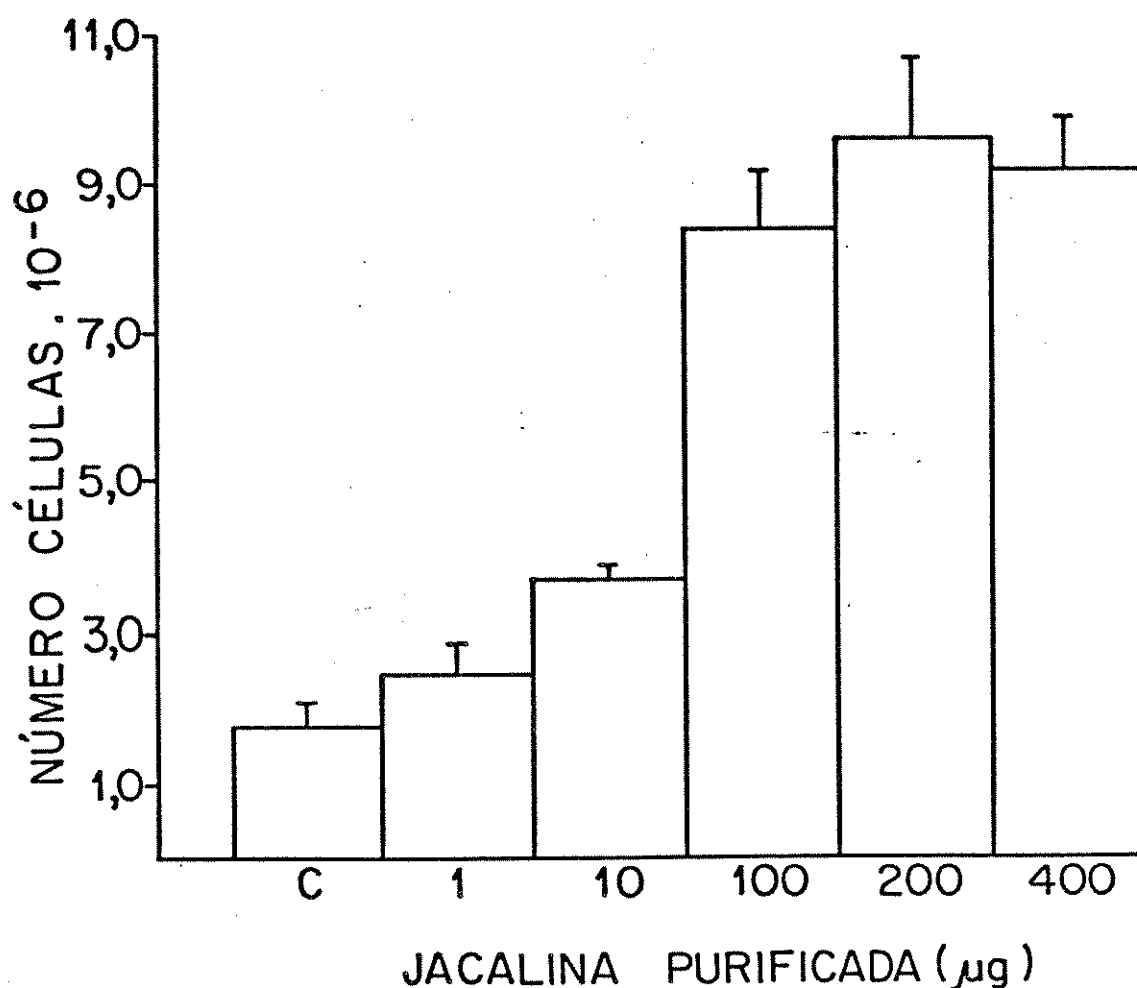


FIGURA 1B - INDUÇÃO DE EXSUDATO PERITONEAL PELA JACALINA PURIFICADA (JACALINA - P).

Doses diferentes de Jacalina - P foram injetados em camundongos Balb/C e após 3 dias o exsudato foi colhido. O Gráfico mostra o número total das células no peritônio (média \pm desvio padrão) obtido de 3 experimentos ($n = 4$). Como controle temos o número total de células obtidas de animais que receberam somente solução de NaCl a 0,85%.

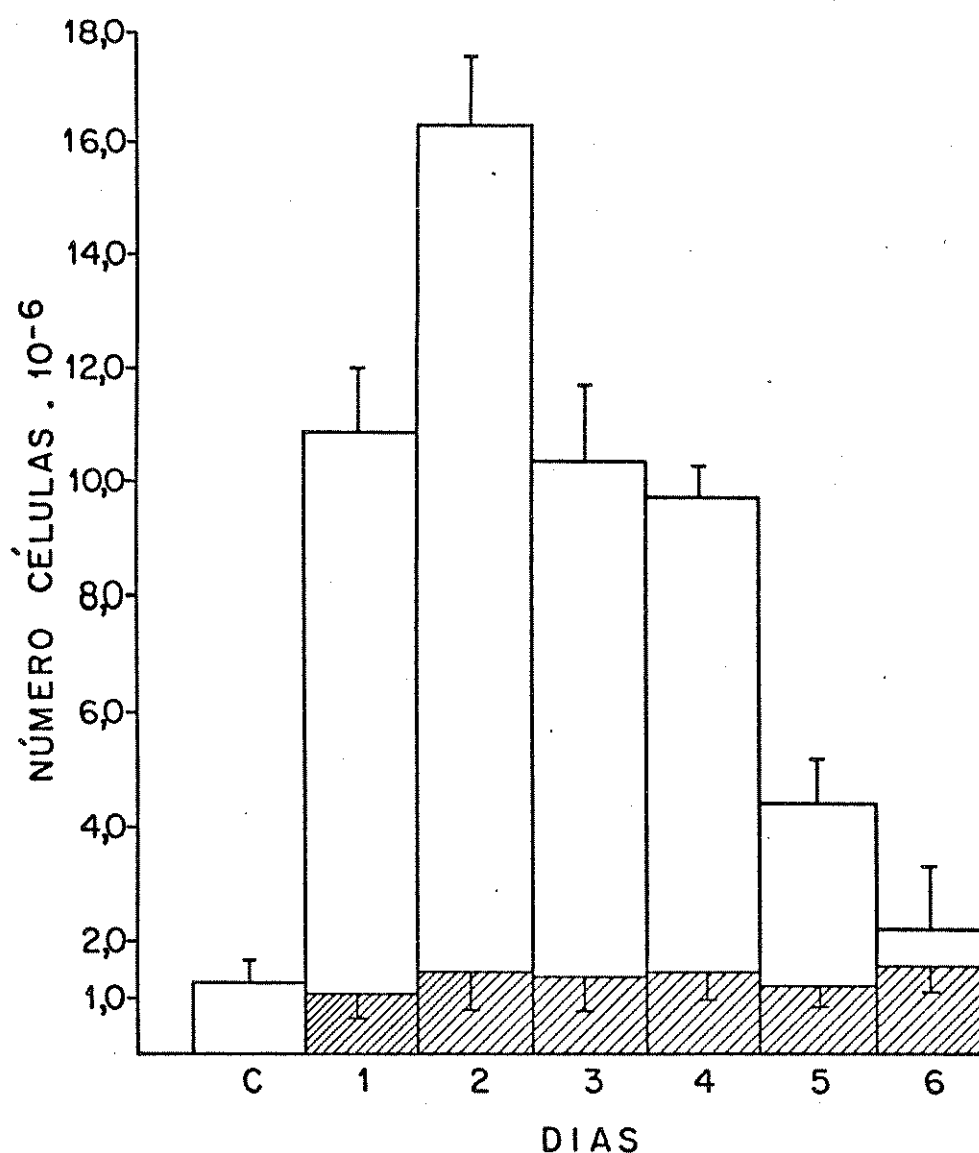


FIGURA 2 - CINÉTICA DO NÚMERO DE CÉLULAS TOTAIS NA CAVIDADE PERITONEAL APÓS INJEÇÃO DE JACALINA.

O gráfico ilustra o número de células totais nos diferentes dias após a injeção de 200 µg de Jacalina - P. Como controle temos os dados obtidos de animais que receberam somente solução de NaCl a 0,85%. Os resultados expressam a (média ⁺ desvio padrão de 3 experimentos distintos (n = 4)).

ANÁLISE DO TIPO DE CÉLULAS PRESENTES NO PERITÔNIO APÓS A INJEÇÃO DE JACALINA.

Para verificarmos o tipo celular que a jacalina faz migrar para a cavidade peritoneal, submetemos amostras das células coletadas após 5, 24, 48, 72, 120 e 144 horas à coloração de Giemsa. Em termos percentuais verificamos que há um aumento elevado de polimorfonucleares nas primeiras horas após a injeção da lectina, cujo pico é a 5 horas, regredindo gradativamente até atingir os níveis normais após 120 horas. As células mononucleares, em termos percentuais, diminuem nas primeiras 24 horas e começam aumentar, atingindo os maiores índices após 72-96 horas e regridem aos níveis controles após 120 horas (figura 3).

Para verificarmos a presença da linhagem monocítica, utilizamos a técnica de coloração pela esterase não-específica, que consegue diferenciar monócito-macrófagos (positivo para este teste) das linhagens linfocíticas e mielocíticas (negativa para o teste). Para tanto, coletamos células após 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas após a injeção. Os resultados expressos na figura 4, demonstram que nas primeiras 48 horas pós-injeção de jacalina há um crescimento de células esterase-positivas (de 23% para 29%), atingindo um máximo após 72-96 horas onde, em sua grande maioria, são esterase-positivas (79% e 76%, respectivamente), indicando a presença de um grande número de células da linhagem monocítica neste período. Subsequentemente a este período as células esterase-positivas regridem.

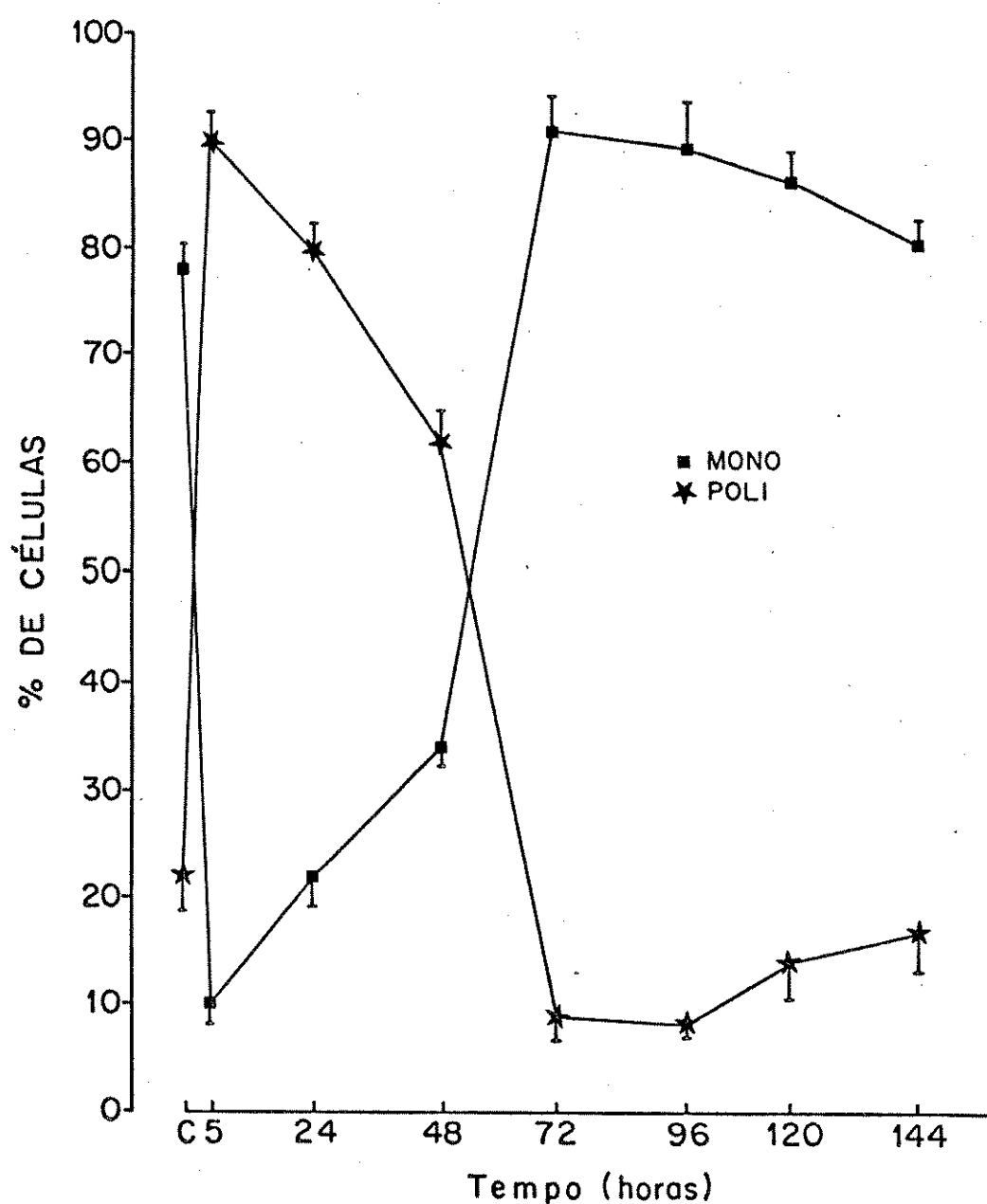


FIGURA 3 - ANÁLISE QUALITATIVA DOS LEUCÓCITOS NO PERITÔNIO INDUZIDO PELA JACALINA - P.

Os resultados indicam o perfil cinético em termos percentuais de Leucócitos Polimorfonucleares (★) e Mononucleares (- ■ -) após a injeção de 200 µg de Jacalina - P. Os dados se referem aos números obtidos de 3 experimentos distintos (n = 4).

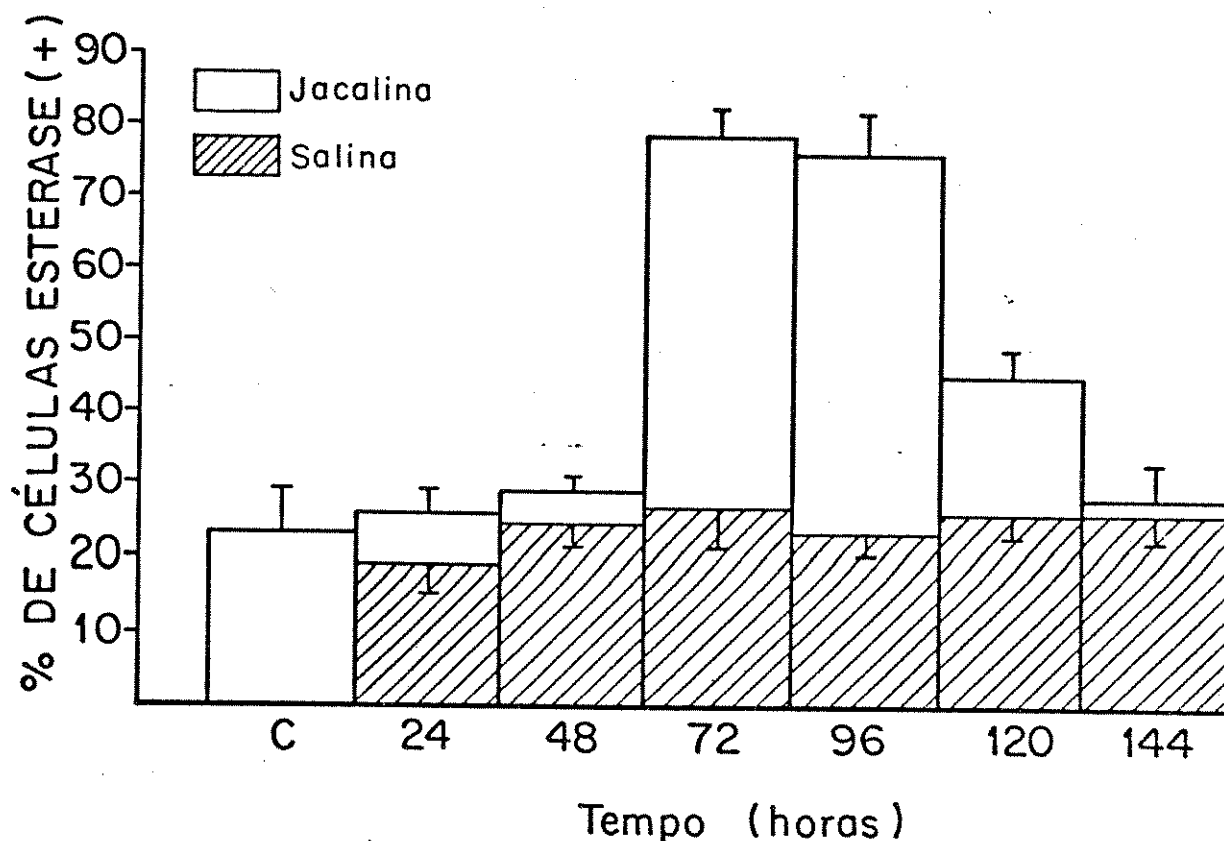


FIGURA 4 - ANÁLISE DAS CÉLULAS INDUZIDAS PELA JACALINA - P
ATRAVÉS DA CITOQUÍMICA DE ESTERASE NÃO ESPECÍFICA.

A Figura mostra o percentual de células esterase - Positivas subsequente a injeção de 200 μ g de Jacalina no peritônio de camundongos Balb/C. Como controle temos o percentual de células esterase - Positivas dos animais que receberam somente solução de NaCl a 0,85%. Os dados indicam os resultados obtidos de 3 experimentos distintos (n = 4).

**ANÁLISE COMPARATIVA EM TERMOS PERCENTUAIS DE CÉLULAS ESTERASE-
-POSITIVAS ENTRE OS ELICITADORES TIOGLICOLATO DE SÓDIO, CONCA
NAVALINA-A E JACALINA.**

Para esta finalidade, dividimos os animais em 4 grupos. No primeiro grupo injetamos 200 µg de jacalina; no se gundo grupo, 200 µg de concanavalina-A; no terceiro grupo, 1 ml de tioglicolato a 3% e no quarto grupo, 1 ml de solução salina estéril. As células foram coletadas após 72 horas, e amostras foram submetidas a coloração para esterase não-especí fica. Os resultados mostram que 78% das células elicítadas pe la jacalina são esterase-positivas, contrapondo aos 66% de cé lulas esterase-positivas para as elicítadas pelo tioglicolato e 62% de células esterase-positivas para células elicítadas pe la concanavalina-A (figura 5).

**EXPRESSÃO DE RECEPTORES PARA Fc E C3b E ATIVIDADE FAGO
CÍTICA.**

Para este ensaio utilizamos macrófagos obtidos 3 dias após a injeção de jacalina, tioglicolato, con-A e macrófa gos peritoniais residentes. Nossos resultados mostram que 85% dos macrófagos elicítados pela jacalina formam rosetas com o complexo EA e 91% com o complexo EAC, e que 90% e 95% dos ma crófagos elicítados pela jacalina são capazes de fagocitar via receptores para Fc e C3b, respectivamente (Tabela 5). Igual mente, verificamos que a grande maioria dos macrófagos elicita dos pelo tioglicolato e pela concanavalina-A formam rosetas e fagocitam o complexo EA e EAC. Já os macrófagos residentes, tem poucas células com receptores para EAC (11%), enquanto que, praticamente metade das células (47%) tem receptores para EA . A fagocitose via EA e EAC pelos macrófagos residentes, e muito restrita, sendo que apenas 2% das células fagocitam via EA e 4% via EAC.

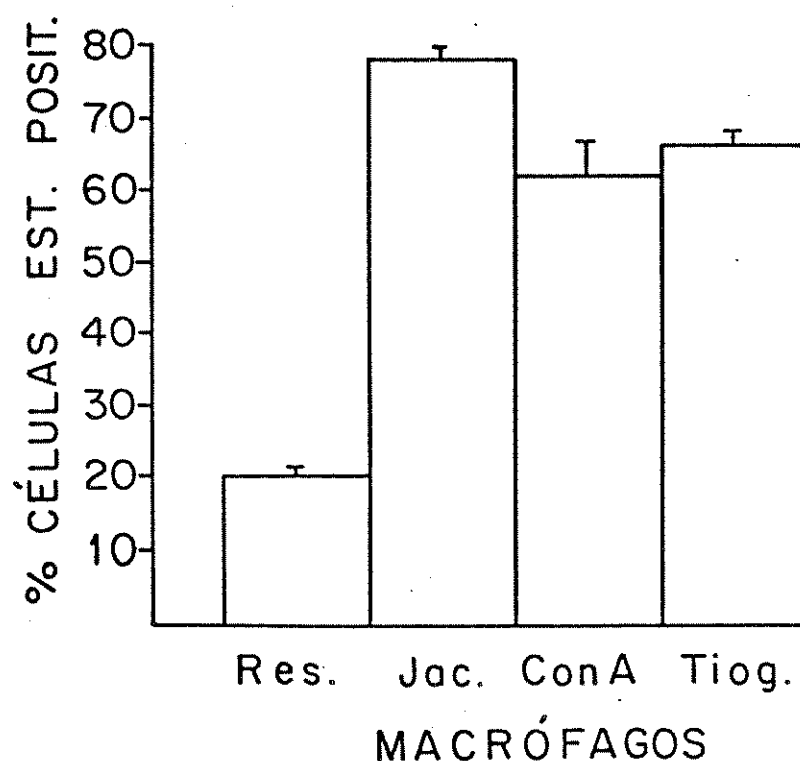


FIGURA 5 - CÉLULAS ESTERASE - POSITIVAS NA CAVIDADE PERITONEAL APÓS INJEÇÃO DE DIFERENTES INDUTORES DE EXSUDATO.

Os resultados mostram o percentual de células esterase - posi-
tivas 3 dias após a injeção na cavidade peritoneal de: Jacali-
na - P, 200 μ g; 1 ml de solução de tioglicolato de sódio à
3%; concanavalina-A, 200 μ g. Os dados se referem aos resul-
tados obtidos de 3 experimentos distintos (n = 3).

TABELA 5 - FORMAÇÃO DE ROSETA E FAGOCITOSE PELOS DIFERENTES MACRÓFAGOS PERITONEAIS VIA RECEPTORES PARA Fc E C3b

MØ Peritoneal	Roseta			Fagocitose		
	E	Fc	C3b	E	Fc	C3b
Residente	2 ± 1	47 ± 6	11 ± 4	0	2 ± 1	4 ± 1
Jacalina	2 ± 0	85 ± 5	91 ± 3	7 ± 3	90 ± 3	92 ± 2
Con A	1 ± 0	82 ± 4	72 ± 2	10 ± 3	62 ± 3	87 ± 6
Tioglicolato	1 ± 0	91 ± 5	90 ± 6	12 ± 4	88 ± 3	85 ± 4

Os resultados mostram o percentual de células roseta - positivas e fagocitose - positivas em macrófagos residentes ou macrófagos elicitados obtidos 3 dias após a injeção intraperitoneal de: 200 µg de Jacalina - P; 1 ml de Tioglicolato de sódio a 3% e 200 µg de concanavalina - A. Para verificarmos o percentual de células que possuem receptores e fagocitam via Fc utilizamos o complexo (Hemácia de carneiro + IgG e via C3b pelo complexo (Hemácia de carneiro + IgM + complemento). Os dados indicam a média \pm desvio padrão, obtidos de 3 experimentos distintos.

DETERMINAÇÃO DE CÉLULAS Ia-POSITIVAS NO EXSUDATO INDUZIDO PELOS DIFERENTES ESTIMULADORES.

Para determinação do percentual de células Ia^{+} , utilizamos células do peritônio de animais normais e células obtidas após o terceiro dia de injeção dos diferentes estimuladores. Pela análise de imunofluorescência indireta verificamos que 59% das células elicitadas pela jacalina são Ia^{+} , contrapondo a 46% para as células elicitadas pela concanavalina-A; 38%, para as células elicitadas pelo tioglicolato e 2% para as células residentes no peritônio de animais normais (figura 6).

CAPACIDADE APRESENTADORA DE ANTÍGENO PELOS MACRÓFAGOS INDUZIDOS PELA JACALINA.

Os macrófagos possuem uma função importante, que é a capacidade de apresentar antígenos para os linfócitos T . Para verificarmos se os macrófagos elicitados pela jacalina são eficientes ou não para esta função utilizamos macrófagos elicitados por esta lectina e outros estimuladores, coletados 3 dias após a injeção. Os resultados obtidos mostram que os macrófagos elicitados pela jacalina são altamente eficazes em apresentar antígenos KLH para linfócitos T previamente sensibilizados, mostrando um índice de estimulação de 9,54; contrapondo aos índices de 5,5 para os macrófagos elicitados pela concanavalina-A; 4,19, para os macrófagos elicitados pelo tioglicolato e 4,1 para os macrófagos residentes (figura 7).

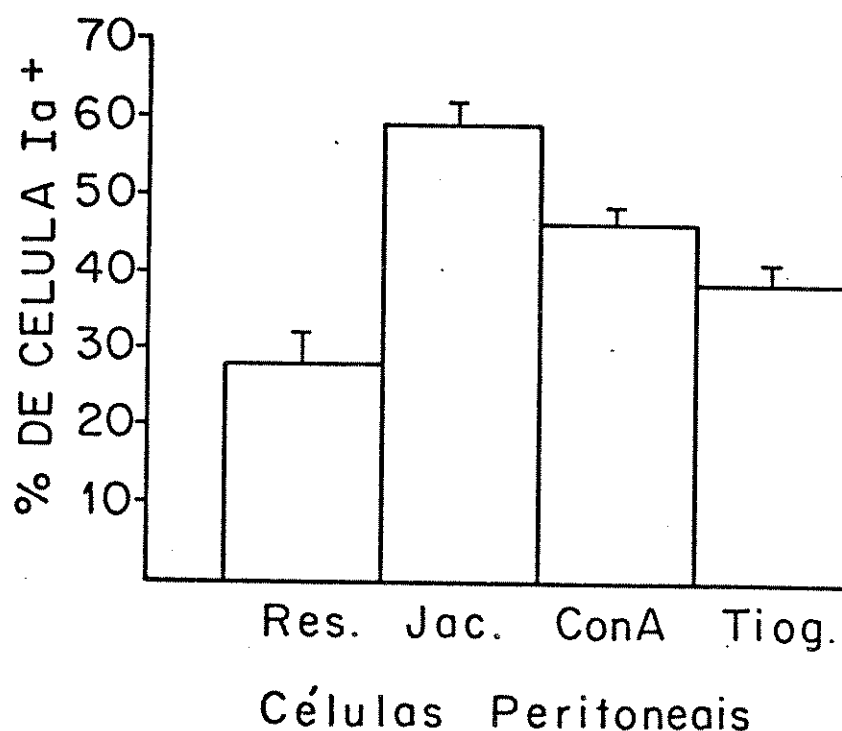


FIGURA 6 - PERCENTUAL DE CÉLULAS Ia - POSITIVAS NO EXSUDATO PERITONEAL INDUZIDO PELA JACALINA.

Três dias após a injeção do agente indutor de exsudato, as células peritoneais foram obtidas, fixadas e submetidas a técnica de imunofluorescência indireta para a verificação do percentual de células Ia Positivas. Os dados ilustram os resultados obtidos de 3 experimentos distintos (média do experimento \pm desvio padrão).

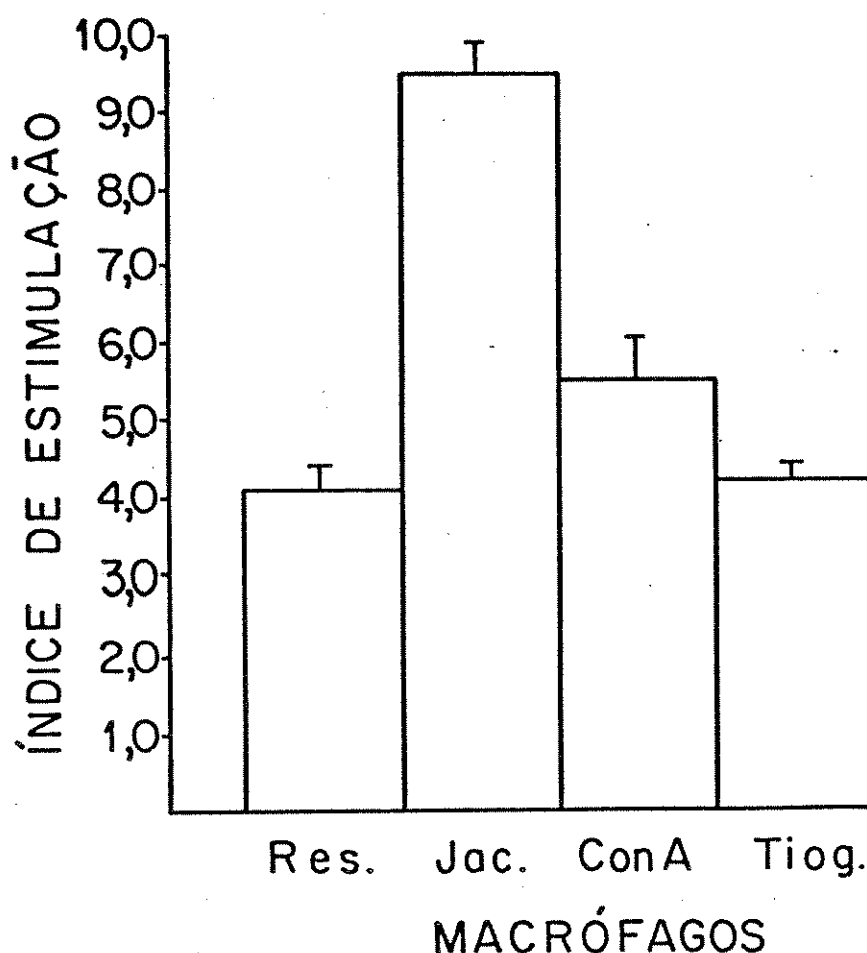


FIGURA 7 - CAPACIDADE APRESENTADORA DE ANTÍGENO PELOS MACRÓFAGOS PERITONEAIS ELICITADOS PELA JACALINA.

Os macrófagos peritoneais residentes ou elicitados com: 200 µg de Jacalina - P; 200 µg de concanavalina-A e 1 ml de Tioglicolato de sódio a 3% (1×10^4 macrófagos por Poço), foram pulsados com 100 µg/ml de Hemocianina (KLH) por 6 horas, fixados em paraformaldeído a 1,0% , em seguida foram incubados por 72 horas com 5×10^5 linfócitos T de animais previamente imunizados com KLH. Os dados mostram a média \pm desvio padrão do índice de estimulação (contagem por minuto dos Linfócitos T na presença de macrófagos pulsados com KLH \div contagem por minuto dos linfócitos T na presença de macrófagos incubados somente com meio de cultura). Os resultados representam os dados obtidos de 3 experimentos distintos.

ATIVIDADE INTERLEUCINA-1 NO SOBRENADANTE DE MACRÓFAGOS INDUZIDOS PELA JACALINA.

Neste ensaio, analisamos a capacidade dos macrófagos elicitados pela jacalina, de secretar interleucina-1, já que esta citocina tem importante papel nos processos inflamatórios e imunológicos. Para tanto, utilizamos sobrenadantes de macrófagos residentes, elicitados pela jacalina e elicitados com tioglicolato. Os macrófagos assim obtidos foram incubados por 24 horas, na presença de meio somente ou LPS (10 µg/ml) e testados em cultura de co-estimulação de timócitos de camundongos C3H/HeJ na presença de fitohemaglutinina. Dados mostrados na Tabela 6, indicam que os sobrenadantes de macrófagos residentes, elicitados com tioglicolato e jacalina sem a presença de estímulo adicional tem uma atividade IL-1 muito pequena, pois aumenta de 2 a 4 vezes a proliferação de timócitos. Já os sobrenadantes de macrófagos residentes, elicitados com tioglicolato e jacalina obtidos em presença de LPS possuem maior atividade IL-1 comparado com os sobrenadantes sem estímulo adicional, sendo que, os sobrenadantes de macrófagos elicitados com jacalina e estimulado com LPS é a que tem maior atividade IL-1.

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE SECRETORA DE H_2O_2 PELOS MACRÓFAGOS ELICITADOS PELA JACALINA.

A geração e a secreção dos intermediários reativos do oxigênio (IRO), como o íon superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelos leucócitos, têm um importante papel na defesa do hospedeiro contra infecções e doenças neoplásicas. Para verificarmos se os macrófagos peritoneais residentes e os macrófagos elicitados por: jacalina, con-A, tioglicolato secretam IRO, dosamos o peróxido de hidrogênio liberado

TABELA 6 - ATIVIDADE IL-1 NOS SOBRENADANTES DE MØs PERITONEAIS

Sobrenadantes	Proliferação Timócitos (CPM)
Meio	531 \pm 84
MØ Residente	1.500 \pm 230
MØ Residente + LPS	3.233 \pm 189
MØ Residente + Jacalina	1.820 \pm 278
MØ Jacalina	2.655 \pm 102
MØ Jacalina + LPS	11.354 \pm 93
MØ Jacalina + Jacalina	2.948 \pm 307
MØ Tioglicolato	1.328 \pm 121
MØ Tioglicolato + LPS	6.376 \pm 398
MØ Tioglicolato + Jacalina	1.662 \pm 68
IL-1 Recombinante *	17.442 \pm 155

*(10U/ml)

1×10^6 Timócitos de camundongos C3H/HeJ foram incubados por 72 horas na presença de 2 μ g de fitohemaglutinina e com os diferentes sobrenadantes de macrófagos, que foram obtidos incubando-se os macrófagos com meio RPMI - completo, LPS (5 μ g/ml) ou Jacalina (10 μ g/ml) diluídos (1/4). Os resultados representam os dados obtidos de 3 experimentos distintos (Média do CPM \pm desvio padrão).

por estas células após a estimulação ou não com o acetato mi
rístico de forbol (10 ng/ml), jacalina (50 µg/ml), con-A
(50 µg/ml) e LPS (10 µg/ml). Nossos dados indicam que os
macrófagos elicitados com jacalina e con-A liberam grandes
quantidades de peróxido de hidrogênio, quando estimulados com
PMA, jacalina e com con-A. Já os macrófagos residentes e eli
citados com tioglicolato produzem pouca quantidade de peróxido
de hidrogênio, tanto na presença de PMA, jacalina ou Con-A (Ta
bela 7).

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE LIBERAÇÃO DE H_2O_2 DE MACRÓFAGOS ELI CITADOS.

Baseados nos resultados obtidos utilizando a ja
calina como indutor de secreção de H_2O_2 de macrófagos elicita
dos (Tabela 7); utilizamos macrófagos elicitados com concanava
lina-A, que sabidamente secreta metabólitos ativos do oxigênio,
para verificar a melhor dose de jacalina purificada capaz de
secretar H_2O_2 . Para tanto fizemos uma diluição da lectina
nas diferentes concentrações. Os resultados ilustrados na fi
gura 8, indicam que doses variando de 3,12 a 50 µg/ml de Jaca
lina, são bastante eficazes em liberar H_2O_2 .

AVALIAÇÃO DO FATOR DE NECROSE TUMORAL (FNT) NOS SOBRENADANTES DE MACRÓFAGOS ELICITADOS PELA JACALINA.

Neste ensaio, avaliamos a capacidade dos macrófa
gos elicitados pela jacalina de secretar FNT. Para tal finali
dade, utilizamos os sobrenadantes de macrófagos elicitados pe
la jacalina ou tioglicolato que foram obtidos, incubando-se os
macrófagos em meio RPMI completo por 24 horas na presença de:
meio somente; jacalina (10 e 50 µg/ml) ou LPS (10 µg/ml). Os

TABELA 7 - PRODUÇÃO DE H_2O_2 PELOS DIFERENTES MACRÓFAGOS

Macrófago	H_2O_2 (η Mol/ 10^{-6} cel./h)			
	PMA	Jaca	ConA	LPS
PERITONEAL RESIDENTE	1.5 ± 0.6	1.3 ± 0.4	0.8 ± 0.3	0
PERITONEAL ELICITADO				
Tioglicolato	1.6 ± 0.8	1.1 ± 0.6	0.7 ± 0.2	0
ConA	16.0 ± 1.2	14.3 ± 1.3	9.7 ± 1.1	0.2 ± 0.1
Jacalina	17.1 ± 0.7	16.4 ± 0.4	11.2 ± 1.0	0.1
ESPLÊNICO				
Residente	0	0	0	0
Tumoral	0	0	0	0

Macrófagos peritoneais residentes ou elicitados com Jacalina - P, Tioglicolato e Concanavalina-A (3 dias); Macrófagos esplênicos e Linhagens de Macrófagos (P-388 D1, Clones 13, 29, 39, 63) foram incubados por 1 hora em solução de Vermelho Fenol com um dos seguintes agentes; PMA (10 ng/ml); Jacalina - P (50 μ g/ml); CON-A (50 μ g/ml) e LPS (5 μ g/ml). Os dados mostram os resultados obtidos de 3 experimentos distintos (Média do experimento \pm desvio padrão).

resultados mostram que os macrófagos elicitados com tioglicolato secretam 16 U/ml FNT na presença de LPS e 2 U/ml em presença da jacalina (Tabela 8). Já os macrófagos elicitados pela jacalina não secretam FNT em doses mensuráveis, quando estimulados com LPS ou jacalina.

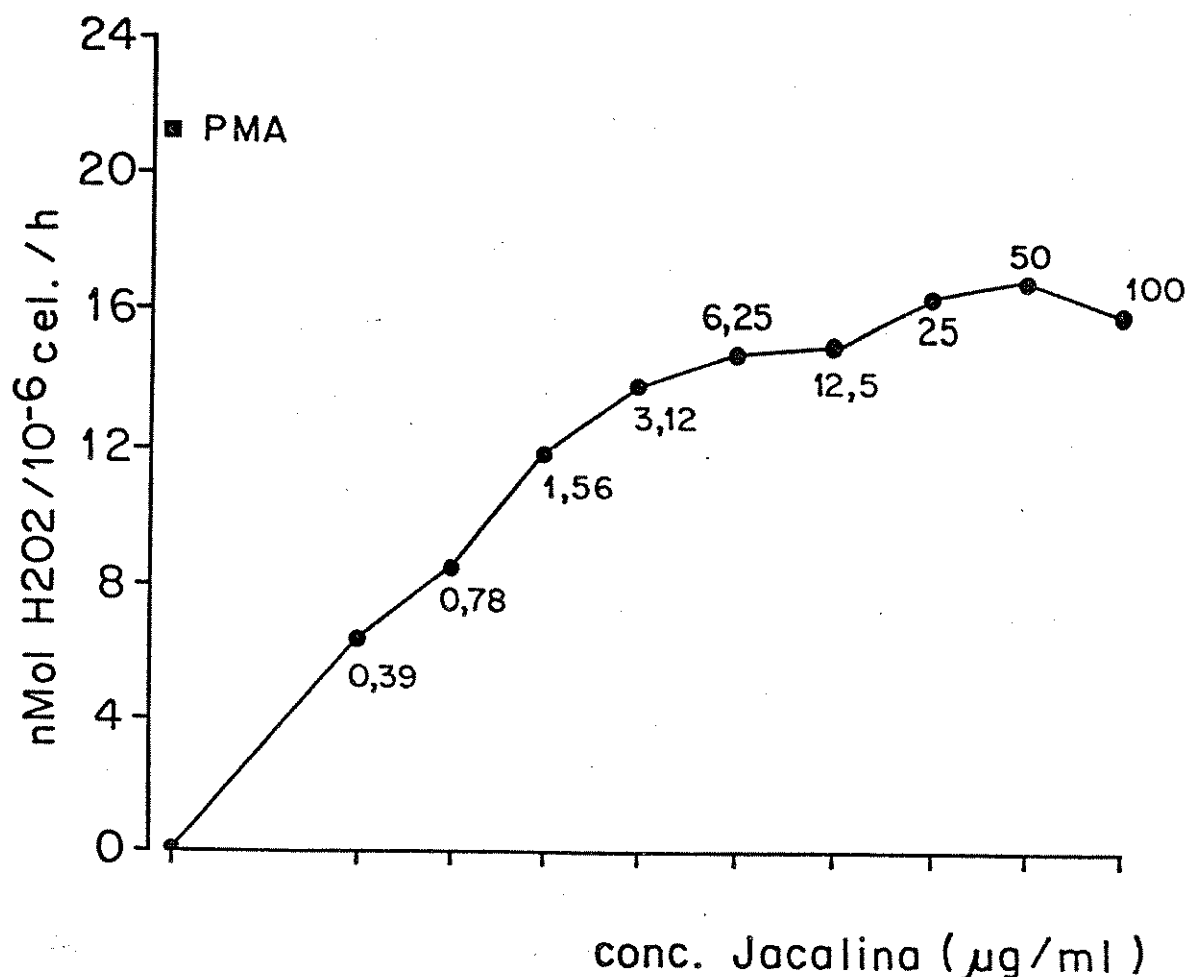


FIGURA 8 - ATIVIDADE LIBERADORA DE H₂O₂ DE MACRÓFAGO ELICITADO COM DIFERENTES DOSES DE JACALINA - P.

Camundongos Balb/C receberam 250 µg de con-A intraperitonealmente. Após 3 dias as células peritoneais foram colhidas e os macrófagos isolados por aderência, foram incubados com solução de Vermelho de Fenol por 1 hora com diferentes doses de Jacalina - P. Como controle utilizamos o PMA (10 ng/ml). Os resultados ilustram os dados obtidos de 3 experimentos distintos.

TABELA 8 - ATIVIDADE FNT NOS SOBRENADANTES DE MØs PERITONEAIS ELICITADOS

Sobrenadantes	FNT (U/ml)
MØ Tioglicolato	< 1
MØ Tioglicolato + LPS	16
MØ Tioglicolato + Jaca 10*	2
MØ Tioglicolato + Jaca 50*	2
MØ Tioglicolato + LPS + α -FNT	< 1
MØ Jacalina	< 1
MØ Jacalina + LPS	< 1
MØ Jacalina + Jaca 10*	< 1
MØ Jacalina + Jaca 50*	< 1

* (µg/ml)

Macrófagos elicitados com Tioglicolato ou Jacalina - P (3 dias) foram incubados na presença de: meio somente; 5 µg/ml de LPS; 10 e 50 µg/ml de Jacalina - P por 24 horas. A atividade FNT foi avaliada pela capacidade citotóxica dos sobrenadantes de macrófagos sobre as células L-929. Os resultados representam os dados obtidos de 2 experimentos distintos.

DISCUSSÃO.

Neste trabalho, avaliamos a capacidade da lecti na jacalina de induzir exsudato peritoneal em camundongos. Os resultados mostram que tanto o extrato salino de sementes de *A. intergrifolia* (jacalina bruta) como a jacalina purificada são capazes de induzir forte exsudato peritoneal. Nas primeiras 24 horas após a injeção de jacalina, há um predomínio de leucócitos polimorfonucleares. Já após 72-96 horas, há um pre domínio de células mononucleares. A análise citoquímica das células do exsudato induzido pela jacalina mostrou que a gran de maioria das células mononucleares é esterase-positiva.

Após a verificação de que a jacalina induz um ex sudato rico em macrófagos, avaliou-se funcionalmente estes ma crófagos. O primeiro ensaio funcional realizado, foi a de for mação de rosetas e fagocitose via receptores para **Fc** de **IgG** e via receptores para o componente **C3b** do sistema complemento. Os resultados obtidos demonstram que a grande maioria dos ma crófagos elicitados pela jacalina possui receptores para **Fc** de **IgG** e **C3b**, bem como, fagocitam partículas através destas vias.

Na avaliação de expressão de antígenos de classe II do CPH em células do exsudato peritoneal induzido pela jaca lina, verificamos que 59% das células são **Ia-positivas**, contra pondo aos 46% de células **Ia-positivas** encontradas no exsudato pela Con-A e 38% de células **Ia-positivas** encontradas no exsuda to induzido pelo tioglicolato. Estes dados, quando comparados aos resultados obtidos por BENBEHANIE cols. (1985), equipara a jacalina com o sulfato de berílio, LPS e adjuvante de Freund completo que segundo os autores são considerados os melhores indutores de macrófagos **Ia-positivos** "in vivo".

Como a expressão de antígenos **Ia** está relaciona do com a capacitação do macrófago de apresentar antígeno para

linfócitos T, foi avaliado a capacidade dos macrófagos elicitados pela jacalina de exercer essa atividade funcional. Os resultados mostram que, os macrófagos elicitados com jacalina são os mais eficientes, comparados aos demais macrófagos testados, para apresentar o antígeno KLH para linfócitos T de animais previamente imunizados com este antígeno.

No que diz respeito aos mediadores secretados pelos macrófagos, inicialmente avaliamos a atividade da IL-1 nos sobrenadantes de macrófagos elicitados pela jacalina. Os resultados obtidos mostram que os macrófagos elicitados com jacalina secretam grande quantidade de IL-1 quando tratados com LPS. Quando comparamos os sobrenadantes obtidos de macrófagos elicitados pelo tioglicolato e jacalina tratados com LPS, verificamos a presença de maior atividade IL-1 no sobrenadante obtido de macrófagos elicitados com jacalina. Os resultados indicam também que a jacalina por si só não foi capaz de ativar os macrófagos para a produção de IL-1.

Avaliamos também se os macrófagos elicitados pela jacalina secretam H_2O_2 . Os ensaios realizados demonstram que os macrófagos elicitados pela jacalina secretam grande quantidade de H_2O_2 quando tratados com PMA e Con-A, mas não com LPS. Nestes ensaios e em ensaios posteriores, a jacalina mostrou ser eficaz para induzir secreção de H_2O_2 de macrófagos elicitados por ela própria ou por Con-A. Os macrófagos peritoneais residentes e elicitados pelo tioglicolato produziram baixas concentrações de H_2O_2 quando ativados pela PMA, jacalina e Con-A. Já os macrófagos esplênicos e linhagens de macrófagos tumorais não secretam H_2O_2 em nenhuma das condições experimentais por nós realizadas. Os resultados obtidos confirmam os dados obtidos por NATHAN e cols. (1979), onde foi verificado que os macrófagos peritoneais residentes e macrófagos elicitados pelo tioglicolato são capazes de secretar pequenas quantidades de H_2O_2 quando tratados com PMA.

Os resultados do ensaio de atividade FNT nos sobrenadantes de macrófagos elicitados com tioglicolato e jacalina, tratados ou não com LPS ou jacalina, indicam que o macrófago elicitado com jacalina não secreta FNT na presença de LPS ou jacalina. A jacalina quando testada com indutor de secreção de FNT, foi capaz de induzir somente a secreção de pequenas quantidades de FNT (2U/ml) em macrófagos elicitados com tioglicolato. Esses macrófagos, como o esperado secretam FNT na presença de LPS. Dados não mostrados, indicam também que a jacalina não foi capaz de induzir em linhagens de macrófagos esplênicos (P-388 D₁ e Clone 29), a transcrição de RNA mensageiro para IL-1 e TNF (Dr.^a CARLA MARTIN - Harvard Medical School, comunicação pessoal).

O fato do macrófago elicitado pela jacalina secretar IL-1 e não secretar FNT na presença de LPS nos coloca frente a um tipo de macrófago diferente dos demais macrófagos elicitados com o tioglicolato, arabinogalactana e BCG, que ao serem ativados com LPS secretam IL-1 e FNT (GIFFORD & LOHMANN-MATHES, 1987; ADAMS & KOERNER, 1988; LUETTIG e cols., 1989). Esses dados indicam a possibilidade de que a jacalina ativa o macrófago "in vivo" para responder a determinados sinais modulatórios. Isso é reforçado pelas recentes evidências que demonstram o envolvimento de diferentes nucleotídeos cíclicos na síntese e secreção dessas citocinas. A IL-1 por exemplo é modulada por vias metabólicas onde estão envolvidos a guanina monofosfato cíclico (cGMP), pois, drogas como a 3-morfolino-sidnonimina (SIN 1) que aumentam este nucleotídeo cíclico intracelularmente inibem a síntese e secreção dessa citocina na presença de LPS, mas não o FNT (ENDRES e cols., 1991). Já o aumento intracitoplasmático de adenina monofosfato cíclico (cAMP), via inibidores de fosfodiesterase e prostaglandina E₂, leva a inibição de síntese e secreção de FNT, na presença de LPS, mas não de IL-1 (RENZ e cols., 1988; STRIETER

e cols., 1988; ENDRES e cols., 1991). Estudos posteriores serão necessários para demonstrar a hipótese de que macrófagos elicitados com jacalina estão com níveis basais de CAMP intra citoplasmáticos elevados, o que explicaria a particularidade dessas células, secretarem somente IL-1 na presença de LPS. Alternativamente, há possibilidade dos macrófagos elicitados pela jacalina secretarem pequenas quantidades de FNT, que não foi detectável pelo método utilizado. Essa possibilidade é re forçada pelo fato de uma outra lectina também ligante de D-ga lactose, de origem animal, denominada de lectina de Sarcophaga, induzir secreção de FNT na linhagem de macrófagos de camundon gos J-774,1 (ITOH e cols., 1986).

Ao analisarmos os macrófagos elicitados pela ja calina e comparando aos macrófagos elicitados pelo tioglicola to foi verificado diferenças morfológicas e funcionais entre eles. Os macrófagos elicitados pela jacalina são os mais ri cos em células esterase-positivas, tem maior expressão de molé culas Ia e apresentam antígeno com maior eficiência. O exsuda to peritoneal induzido pela Con-A contém uma população de célu las com percentual menor quanto a capacidade fagocítica via Fc de IgG que a população elicitada com jacalina e o tioglicolato. Os macrófagos elicitados pela jacalina e Con-A, diferem dos ma crófagos elicitados com o tioglicolato pelo fato deste macrófa go ter sua capacidade de secretar H_2O_2 bastante reduzida em re lação aos demais. Os nossos resultados sugerem que a jacali na "in vivo" poderia funcionar como um sinal capaz de induzir o processo de ativação de macrófagos como descrito para o BCG (EZEKOWITZ e cols., 1981). Esta hipótese se apoia nos seguin tes fatos: os macrófagos elicitados pela jacalina são ricos em esterase não-específica, sabidamente aumentada em células ati vadas (LI e cols., 1973); expressam moléculas Ia, que não é constitutivo nos macrófagos e sim resultado de eventos bioquí micos e moleculares regulados ao nível nuclear das células (FI

GUEIREDO e cols., 1989); apresentam antígeno para os linfócitos T, atividade esta que depende de ativação (BLUMENTHAL e cols., 1983; UNANUE, 1984). Em conclusão, os macrófagos elicitados pela jacalina expressam receptores para Fc de IgG aumentada, antígenos Ia e secretam grandes quantidades de H_2O_2 . Segundo a classificação sugerida por ALAN e cols. (1983) e ADAMS & HAMILTON, (1987) essa célula poderia ser definida como: macrófago inflamatório ou primado.

A análise funcional, onde foi avaliada a secreção de FNT, IL-1 e H_2O_2 , sugere que a jacalina "in vitro" poderia ser um agente seletivo para a indução da secreção de H_2O_2 de macrófagos. Esses resultados indicam a atuação da jacalina na estimulação de uma via transducional seletiva relacionado com a indução do mecanismo de explosão respiratória. A seletividade de ação dos sinais ativadores tem sido demonstrado em vários modelos de ativação dos macrófagos. Por exemplo, o IFN- γ inicia sua função modulatória através do aumento de influxo dos íons sódio para dentro da célula e saída de íons hidrogênio do citosol para o meio extracelular (PRPIC e cols., 1989). A prostaglandina E_2 é um agente seletivo que faz aumentar os níveis de cAMP no citosol (SNYDER e cols., 1982). Já o LPS ou o seu componente ativo lipídeo A, induz especificamente a produção de inositol trifosfatado, diacilglicerol e mobilização de íons cálcio intracelularmente, (PRPIC e cols., 1987).

Pela sua seletividade, a jacalina poderá ser um reagente de grande utilidade nos estudos de ativação e secreção de IRO, cujos mecanismos bioquímicos e moleculares não estão suficientemente elucidados, bem como, abre a possibilidade de utilizarmos a jacalina como reagente para a avaliação funcional dos fagócitos (secreção de IRO). A jacalina portanto constitui-se em um ativador alternativo ao PMA. Uma das vantagens para o seu uso, relaciona-se com a possibilidade que ela

oferece para estudar moléculas de superfície envolvidas na ativação dos macrófagos. O PMA aparentemente não se liga a estruturas de membrana e atua em várias vias transducionais onde há aumento da atividade proteína Kinase C (ADAMS & HAMILTON, 1987). A importância biológica da definição das estruturas de superfície dos macrófagos envolvidas na ativação da explosão respiratória, está relacionada à função anti-microbiana, anti-tumoral e de remoção e/ou destruição de material autotone destas células (ADAMS & HAMILTON, 1988). A interação do macrófago com estruturas que possuem substâncias com atividade lectina, pode ser um fator determinante para a destruição destes materiais, bem como para a ativação funcional dos macrófagos. Isto é, ativar o processo de explosão respiratória e/ou outros mecanismos ou inibi-los, é o que determina o macrófago a mediar sua função efetora ou não frente ao sinal estimulador presente no microambiente que o cerca. Baseado nestas considerações, a jacalina se torna uma excelente ferramenta para os estudos bioquímicos e moleculares das estruturas de membrana envolvidas com a ativação funcional dos macrófagos e/ou no desencadeamento ao processo de explosão respiratória.

Algumas considerações podem ser feitas sobre a estrutura à qual a jacalina se liga na superfície dos macrófagos. Um fato importante que deve ser lembrado é que os macrófagos inflamatórios por produzirem mais sialidases (LAMBRÉ e cols., 1988), possuem maior número de proteínas e lipídeos glicosilados na sua membrana que macrófagos residentes. Este aumento também está associado à aquisição de atividade tumoricida do macrófago (KAPLAN & OLSTAD, 1981; MERCURIO e cols., 1984; IRIMURA e cols., 1987; AFROUN e cols., 1988). Estes dados, isto é, a maior riqueza em moléculas glicosiladas nos macrófagos inflamatórios poderiam explicar a atividade preferencial da jacalina sobre estas células e não sobre macrófagos

peritoneais residentes e esplênicos.

Algumas estruturas de membrana dos macrófagos, candidatas a ligantes da jacalina podem ser as glicoproteínas **Mac-1** (CD11b/18), os receptores **FcγR I** e **FcγR II**, o receptor para o fator agregador de plaquetas e a molécula **p-150,95**, que ao serem ativados através de anticorpos monoclonais específicos ou pelos seus respectivos ligantes, induzem a secreção de H_2O_2 de macrófagos (SHAPPEL e cols., 1990; RAVETCH e cols., 1986; HARTUNG e cols., 1983; SCHMALSTIEG e cols., 1986). Outras estruturas glicoproteicas da membrana dos macrófagos que tem menos possibilidades de serem os ligantes da jacalina são o **LFA-3**, **CD 44**, **CD 45**, pois quando estimuladas por seus respectivos ligantes ou através de anticorpos monoclonais específicos induzem a secreção de **IL-1** e **FNT** dos macrófagos (WEBB e cols., 1990) e a jacalina não é capaz de estimular a secreção destas citocinas.

Um candidato endógeno, que exerceria as funções da jacalina "in vivo" poderia ser o **Mac-2**, uma lectina específica para D-galactose, produzida por macrófagos inflamatórios. Esta lectina pode estar expressa na membrana dos macrófagos ou ser secretada para o meio extracelular (CHERAYIL e cols., 1989). O **Mac-2** secretado pode ainda se ligar à membrana de outros macrófagos via interação com estruturas de superfície que possuem D-galactose.

Um fato que merece observação é que a molécula **Mac-2/CD 23** e a lectina ligante a manose descrita por EZEKOWITZ e cols., (1988) terem grande homologia ao nível molecular. Ambas possuem os sítios ligantes ao açúcar localizados na porção carboxi-terminal e sequências repetitivas ricas em glicina e prolina na porção amino-terminal. Baseado nessa homologia, CHERAYIL e cols., (1989) não descartam a possibilidade de do **Mac-2/CD 23** também se ligar à molécula de manose. Re

centemente, MIRANDA-SANTOS e cols., 1991 a) descreveram a existência no extrato salino de semente de *A. intergrifolia*, de uma outra lectina diferente da jacalina, que foi denominada pelos autores de Artocarpina. As análises obtidas pelos autores demonstram que essa lectina tem propriedades ligantes à manose e são responsáveis pela atividade proliferativa de linfôcit^{os} T e ativação policlonal de linfócitos B creditadas até recentemente à jacalina (MIRANDA-SANTOS e cols., 1991 b). A possibilidade de a artocarpina estar envolvida nos fenômenos descritos no presente trabalho poderia ser válida em relação aos estudos realizados com o extrato bruto de sementes de jaca. Esta possibilidade fica no entanto prejudicada pois todos os experimentos foram realizados também sem a jacalina purificada que mostraram resultados idênticos entre si. No entanto a participação da artocarpina nas atividades aqui descritas não pode ser definitivamente excluída e será melhor estudada uma vez que esta lectina seja purificada e usada para tal fim.

As observações descritas nessa monografia, somadas ao crescente número de moléculas com atividade lectina envolvidas em vários sistemas biológicos (VALEMBOIS e cols., 1986; SHARON & LIS, 1989) e a demonstração de que os níveis de glicosilação em moléculas de membrana das células variam com seu estado de ativação e/ou maturação (AFROUN e cols., 1988) tornam as lectinas e seus ligantes um modelo interessante para os estudos ao complexo mecanismo de diferenciação e modulação dos macrófagos e outras células envolvidas no sistema imunológico.

CONCLUSÕES

Os nossos resultados permitem concluir que:

1. A jacalina injetada na cavidade peritoneal de camundongos induz forte exsudato inflamatório, onde nas primeiras 24 horas há um predomínio de células polimorfonucleares. Já 72-96 horas após, há um predomínio (-80%) de células mononucleares esterase-positivas (macrófagos).
2. Os macrófagos elicitados pela jacalina possuem grande expressão de antígenos de classe II e receptores para Fc de IgG e C3b.
3. As análises funcionais dos macrófagos peritoneais elicitados pela jacalina mostram que estas células realizam fagocitose via FcγR e C3b; apresentam antígenos para linfócitos T; secretam IL-1 na presença de LPS e intermediários reativos ao oxigênio (H_2O_2) na presença de PMA.
4. A jacalina por si só, foi capaz de ativar a secreção de H_2O_2 , em níveis comparáveis ao PMA, de macrófagos elicitados com jacalina e Con-A.
5. Em ensaios biológicos a jacalina não estimulou a secreção de IL-1 e FNT (exceto macrófago tioglicolato) em macrófagos peritoneais elicitados ou residentes.
6. Os resultados funcionais indicam que a jacalina é capaz de ativar uma via metabólica seletiva nos macrófagos, capaz de estimular o mecanismo de geração e secreção dos intermediários reativos do oxigênio.
7. Estes resultados em conjunto, sugerem que a jacalina pode ser uma importante ferramenta para o estudo dos processos inflamatórios, para obtenção de macrófagos com importantes atividades funcionais e do complexo processo de ativação do macrófago.

SUMMARY

In this work we studied the peritoneal exsudate induced by the lectin jacalin. We observed that jacalin induced large numbers of Polymorphonuclear cells (Neutrophils) within a 48 h period. After this time, the number of neutrophils decreased and the number of mononuclear cells increased. Following injection with jacalin, the number of mononuclear cells reached a maximum level within 72-96 h. Approximately 78% of the mononuclear cells were macrophages which tested positive for the non-specific esterase assay. The functional analysis of these macrophages shows that a large number of these cells express Fc gamma (85%) and C3b (91%) receptors, phagocytize particles coated with the relevant opsonins (90% to Fc and 91% to C3b), express Ia molecules (59%), present antigens to KLH-sensitized T cells and secrete IL-1 after stimulation with LPS and H_2O_2 after stimulation with PMA. Interestingly, these cells did not secrete TNF after stimulation with LPS. We also demonstrated that jacalin stimulates the secretion of H_2O_2 in elicited peritoneal macrophages, but not IL-1 or TNF. These results indicate that jacalin is an excellent agent for the induction of peritoneal exsudate cells rich in macrophages with important effector functions and that "in vitro" it can trigger selective metabolic pathways in macrophages.

RESUMO

Neste trabalho, estudamos o exsudato peritoneal em camundongos induzido pela lectina jacalina. Nós observamos que a jacalina induz grande influxo de células polimorfonucleares (neutrófilos) nas primeiras 48 horas. Após esse período, o número de neutrófilos regride e o número de células mononucleares aumenta. As células mononucleares atingem a níveis máximos 72-96 h, após a injeção de jacalina. Aproximadamente 78% das células mononucleares são macrófagos quando analisadas pelo ensaio de esterase não-específica. As análises funcionais destes macrófagos mostram que grande parte dessas células expressam receptores para $Fc\gamma$ (85%) e C3b (91%), fagocitam partículas através dessas vias (90% para Fc e 91% via C3b), expressam moléculas Ia (59%), apresentam antígenos para linfócitos T de animais sensibilizados com KLH e secretam IL-1, após estimulação com LPS e H_2O_2 , após estimulação com PMA. Interessantemente, estas células não secretam FNT após estimulação com LPS. Nós demonstramos ainda que a Jacalina estimula a secreção de H_2O_2 em macrófagos inflamatórios (Con-A e jacalina), mas não FNT ou IL-1. Estes resultados indicam que a jacalina é um excelente agente para a indução de exsudato peritoneal de camundongos ricos em macrófagos com importantes atividades funcionais e que "in vitro" é capaz de ativar uma via metabólica seletiva nos macrófagos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ADAMS, D.O.; COHEN, M.S.; KOREN, H.S. - Activation of mononuclear phagocytes for cytostasis: parallels and contrasts between activation for tumor cytotoxicity and for ADCC. In: KOREN, M.S. ed. - Macrophage - Mediated Antibody - Dependent Cellular Cytotoxicity. New York, Marcel Dekker, 1983. p. 21.
02. ADAMS, D.O. & HAMILTON, J.A. - The cell biology of macrophage activation. Annu.Rev.Immunol.; 2: 282 , 1984.
03. ADAMS, D.O. & HAMILTON, J.A. - Molecular transductional mechanisms by which IFN γ and other signals regulate macrophage development. Immunol.Rev.; 97: 5, 1987.
04. ADAMS, D.O. & HAMILTON, J.A. - Phagocytic cells: cytotoxic activities of macrophages. In: GALLIN, J.I.; GOLDSTEIN, I.M.; SNYDERMAN, R. ed. - Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Chapter 25, p.471-92. Raven Press Ltd. New York, 1988.
05. ADAMS, D.O. & KOERNER, T.J. - Gene regulation in macrophage development and activation. Year Immunol.; 4: 159 , 1988.
06. ADAMS, D.O. & NATHAN, C.F. - Molecular mechanisms operative in cytolysis of tumor cells by activated macrophages. Immunol.Today; 4: 166, 1983.
07. ADERKA, D.; FISCHER, S.; LEVO, Y.; HOLTMAN, H.; HAHN, T.; WALLACH, D. - Cachectin/tumor necrosis factor production by cancer patients. Lancet, zii. 1990, 1985.

08. ADERUM, A.A.; WRIGHT, S.D.; SILVERSTEIN, S.C.; COHN, Z.A.
Ligated complement receptors do not activate the
arachidonic acid cascade in resident peritoneal
macrophages. J.Exp.Med.; 161: 617, 1985.
09. AFROUN, S.; TENN, J.P.; LEMAIRE, G. - Modifications of
glycosylation patterns in macrophages upon activation.
Biochim.Biophys.Acta; 971: 137, 1988.
10. AICHELE, P.; HENGARTNER, H.; ZINKERNAGEL, R.M.; SCHULZ ,
M. - Antiviral cytotoxic T cell response induced
by in vivo priming with a free synthetic peptide.
J.Exp.Med.; 171: 1815, 1990.
11. ALAN, R.; EZEKOWITZ, B.; HILL, M.; GORDON, S.- Macrophage
plasma membrane and activation. Trans.Soc.Trop.Med.
Hyg; 77: 604, 1983.
12. ALBERNA, S.M. & BUCK, C.A. - Integrins and other cell
adhesion monecules. Faseb.J.; 4: 2868, 199.
13. ALBRANDT, K.; ORIDA, W.K.; LIU, F.T. - An IgE binding
protein with a distinctive repetitive sequence and
homology with an IgG receptor. Proc.Natl.Acad.Sci .
USA; 84: 6859, 1987.
14. ALLEN, J.M.; COOK, G.M.W.; POOLE, A.R. - Action of
concanavalin-A by macrophages. Exp.Cell Res.; 68 :
466, 1971.
15. ALLEN, P.M. & UNANUE, E.R. - Differential requeriment for
antigen processing by macrophages for lysozyme
specific T cell hybridoma. J.Immunol.; 132: 1077, 1984.
16. ALLEN, P.M. - Antigen processing at molecule level .
Immunol.Today; 8: 270, 1987.

17. ALTIERI, D.C. & EDINGTON, T.S. - The saturable high affinity association of factor x to ADP - stimulated monocytes defines a novel function of the Mac-1 receptor. J.Biol.Chem.; 263: 7007, 1988.
18. APPUKUTTAN, P.S. & BASU, D. - Four identical subunits in jack fruit seed agglutinin offer only two sacharide binding sites. FEBS Lett.; 180: 331, 1985.
19. APTE, R.N.; DURUM, S.K.; OPPENHEIM, J.J.- Opioids modulate interleukin-1 production and secretion by Bone-Marrow Macrophages. Imm.Lett.; 24: 141, 1990.
20. ARAUJO-JORGE, T.C. & DE SOUZA, W. - The interaction of T.cruzi with macrophages: involvement of surface galactose and N-acetyl-D-galactosamine residues of the recognition system. Acta Trop.; 45: 127, 1988.
21. ASHWELL, G. & HARFORD, H. - Carbohydrate specific receptors of the liver. Annu.Rev.Biochem.; 51: 531 , 1982.
22. AUCOUTURIER, P.; MIHALESCO, R.; MIHALESCO, C.; PREUD' HOMME, J.L. - Characterization of jacalin, the human IgA and IgD binding lectin from jack fruit. Mol . Immunol.; 24: 503, 1987.
23. AUCOUTURIER, P.; PINEAU, N.; BRUGIER, J.C.; MIHALESCO , E.; DUARTE, F.; SKVARIL, F. and PREUD'HOMME, J.L. - Jacalin: a new laboratory toll in immunochemistry and cellular immunology. J.Clin.Lab.Anal.; 3: 244 , 1989.
24. AUGER, M.J. - Mononuclear phagocytes. Br.Med.J.; 298 : 546, 1989.

25. AUSTIN, J. & GORDON, S. - F4/80, a monoclonal antibody directed specifically against the mouse macrophage. Eu.J.Immunol.; 11: 805, 1981.
26. BABIOR, B.M. - Oxygen - dependent microbial killing by phagocytes. N.Engl.J.Med.; 298: 659, 1978.
27. BADWEY, J.A.; CURNUTTE, J.T.; KARNOVSKY, M.L. - Cis - polyunsaturated fatty acids induce high levels of superoxide production by human neutrophils. J.Biol. Chem.; 256: 12640, 1981.
28. BADWEY, J.A. & KARNOVSKY, M.L. - Active oxygen species and the functions of phagocytic leucocytes. Annu.Rev. Biochem.; 49: 695, 1980.
29. BASGIOLINI, M. & WYMAN, M.P. - Turning on the respiratory burst. Trends Biochem.Sci.; 15: 69, 1990.
30. BEAUTLER, B.J.; GREENWALD, J.D.; HULMES, M.; CHING, M. ; PAN, Y.C.E.; MATHISON, R.; ULEVITCH; CERAMI, A.-Identity of tumour necrosis factor and the macrophage secreted factor cachectin. Nature; 316: 552, 1985 b.
31. BEAUTLER, B.J. & CERAMI, A. - The history properties and biological effects of cachectin. Biochemistry ; 27: 7575, 1988.
32. BEAUTLER, B.; MAHONEY, N.; LETRANG, N.; PEKALA, P.; CERAMI, A. - Purification of cachectin. A lipoprotein lipase suppressing hormone secreted by endotoxin-induced raw 264.7 cells. J.Exp.Med.; 161: 984, 1985a.
33. BEAUTLER, B.; MILSARK, I.W. and CERAMI, A. - Passive immunization against cachectin, tumour necrosis factor products mice from lethal effect of endotoxin. Science; 229: 869, 1985 c.

34. BEAUTLER, B.; TKACENKO, V.; MILSARK, I.; KROCHIN, N. and CERAMI, A. - Effect of γ - interferon on cachectin expression by mononuclear phagocytes: reversal of LPS (endotoxin resistance) phenotype. J.Exp.Medicine; 164: 1791, 1986.
35. BEAUTLER, B.; KROCHIN, N.; MILSARK, I.W.; LEUDKE, C. and CERAMI, A. - Control of cachectin (tumour necrosis factor) synthesis: mechanisms of endotoxin resistance. Science; 232: 977, 1986.
36. BECKER, E.L.; SIGMAN, M.; OLIVER, J.M. - Superoxide production introduced in rabbit polymorphonuclear leukocytes by synthetic chemotactic peptides and A 23187. Am.J.Pathol.; 95: 81; 1979.
37. BELLER, D.I.; KIELY, J.E.; UNANUE, E.R. - Regulation of macrophage population: preferential induction of Ia - rich peritoneal exsudates by immunologic stimuli. J. Immunol.; 124: 1426, 1980.
38. BELOSEVIC, M.; FINBLOOM, D.S.; MELTZER, M.S.; NANCY, C. - IL-2 a cofactor for induction of activated macrophage resistance to infection. J.Immunol.; 145: 831, 1990.
39. BENACERRAF, B. & McDEVITT, H.O. - Histocompatibility - linked immune response genes: a new class of genes that controls the formation of specific immune responses has been identified. Science; 175: 273 ,
40. BENACERRAF, B. - Overview: Ir genes. In: WEIR, D.M.ed.- Handbook of Experimental Immunology. Vol.2, Chapter-72. Blackwell Scientific Publication. Oxford, 1986.

41. BENDTZEN, K. - Interleukin 1, interleulin 6 and tumour necrosis factor in infection, inflammation and immunity. Immunol.Letters.; 19: 183, 1988.
42. BENBEHANI, K.; BELLER, D.I. and UNANUE, E.I. - The effects of beryllium and other adjuvants on Ia expression by macrophage. J.Immunol.; 134: 2047, 1985.
43. BERKEN, A. & BENACERRAF, B. - Properties of antibodies cytophilic for macrophages. J.Exp.Med.; 123: 119, 1966.
44. BERKOWER, I.; MATITIS, L.A.; BECKENMEYER, G.K.; GERD, F. R.N.; LONGO, D.L. and BERSOFSKY, J.A. - Identification of distint predominant epitopes recognized by myoglobin specif T cells under the control of different Ir genes and characterization of representative T cell clones. J.Immunol.; 132: 1370, 1984.
45. BLUMENSTOCK, B. & JANN, K. - Adhesion of pilated Escherichia coli strains to phagocytes: differences between bacteria with mannose-sensitive pili and those with mannose-resistant pili. Infect.Immun.; 35: 264 , 1982.
46. BLUMENTHAL, E.J.; ROBERTS, W.K.; VASIL, A.; TALMAGE, D. - Macrophage activation: dissociation of cytotoxic activity from Ia antigen expression. Proc.Natl.Acad . Sci.USA.; 80: 2031, 1983.
47. BRAAKMAN, E.; ROTTEVEEL, F.T.M.; VAN BLEEK, G.; VAN SEVEN TER, G.A.; LUCAS, C.J. - Are MHC II- restricted cytotoxic T lymphocytes important ? Immunol.Today; 8: 265, 1987.
48. BRACIALE, J.J.; MORRISON, L.A.; SWEETSER, M.T.; SAMBROOK, J.; G.E.HING, M.J.; BRACIALE, V.L. - Antigen presentation pathways to class I and class II MHC - restricted T lymphocytes. Imm.Rev.; 98: 95, 1987.

49. BULLOCK, W.E. & WRIGHT, S.D. - Role of the adherence - promoting receptors CR3, LFA-1, and p 150,95 in binding of Histoplasma capsulatum by human macrophages. J.Exp.Med.; 165: 195, 1987.
50. BUNN-MORENO, M.M. & CAMPOS-NETO, A. - Lectin(s) extracted from seeds of artocarpus intergrifolia (jack fruit) : potent and selective stimulator(s) of distinct human T and B cell function. J.Immunol.; 127: 427, 1981.
51. BURNET, M.F. - A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection. Aust.J.Sci.; 29: 67, 1957.
52. CAPRON, A.; DESSAINT, J.P.; CAPRON, M. - Specific IgE antibodies in murine adherence of normal macrophages to Schistosoma mansoni schistosomules. Nature; 253 : 474, 1975.
53. CARSWELL, E.A.; OLD, L.J.; KASSEL, R.L.; GREEN, S.; FIORE, N.; WILLIAMSON, B. - An endotoxin-induced serum factor that cause necrosis of tumors. Proc.Natl.Acad.Sci.USA. 72: 3666, 1975.
54. CAVACINI, L.A.; GUIDOTTI, M.; PARKE, L.A.; MELANCON. KAPLAN, J.; WEIDANZ, W.P. - Reassessment of the role of splenic leukocyte oxidative activity and macrophage activation in expression of immunity to malaria. Inf. Immunity; 57: 3677, 1989.
55. CHANG, K.P. - Leishmania donovani - macrophage binding mediated by surface glycoprotein/antigens: characterization in vitro by a radioisotopic assay. Mol. Biochem. Parasitol.; 4: 67, 1981.

56. CHANG, R.J. & LEE, S.N. - Effects of interferon gamma and tumor necrosis factor- α on the expression of an Ia antigen on murine macrophage line. J.Immunol.; 137 : 2853, 1986.
57. CHANNON, J.Y.; ROBERTS, M.B.; BLACKWELL, J.M. - A study of the differential respiratory burst activity elicited by promastigotes and amastigotes of Leishmania donovani in murine resident peritoneal macrophages. Immunology; 53: 345, 1984.
58. CHERAYIL, B.J.; CHAITOVITZ, S.; WONG, C.; PILLAI, S. - Molecular cloning of a human macrophage lectin specific for galactose. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 87: 7324, 1990.
59. CHERAYIL, B.J.; WEINER, S.J.; PILLAI, S. - The Mac-2 antigen is a galactose-specific lectin that binds IgE. J.Exp.Med.; 170: 1959, 1989.
60. CLARK, R.A. & KLEBANOFF, S.J. - Studies on the mechanism of antibody dependent polimorfonuclear leukocyte-mediated cytotoxicity. J.Immunol.; 119: 1413, 1977.
61. CLARK, I.A.; VIRELIZIER, J.L.; CARSWELL, E.A.; WOOD, P.R. Possible importance of macrophage - derived mediators in acute malaria. Inf.Immunity; 32: 1058, 1981.
- 62.. CLARKSON, S.B.; KIMBERLY, R.P.; VALINSKY, J.E.; WITNER , M.D.; BESSEL, J.B.; NACHMAN, R.L. and UNKELESS, J.C. - Blockade of clearance of immune complexes by anti Fc γ -receptor monoclonal antibody. J.Exp.Med.; 164: 474 ,
63. COHEN, G. - Oxygen radicals and parkinson's disease. In: HALLIWELL, B. ed. Oxygen Radicals and Tissue Injury . The Upjohn Company, Bethesda, 1988. p. 130.

64. COHEN, M.S.; METCALF, J.A.; ROOT, R.K. - Regulation of oxygen metabolism in human granulocyte: relationship between stimulus binding and oxidative response using plants lectins as probes. Blood; 55: 1003, 1980.
65. COLBACHINI, M.A.M. - Tese de Doutorado: Estudo sobre a existência e função do receptor de IgM em células do sistema fagocítico mononuclear, p. 62, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, 1986.
66. COLDITZ, I.G. & CYBULSKY, M.I. - Some characteristics of inflammation induced by muramyl dipeptide, endotoxin and concanavalin A. Inflammation; 11: 1, 1987.
67. COLEY-NAUTS, H.; FOWLER, G.A.; BOGATKO, F.H. - A review of the influence of bacterial infections and of bacterial products (oley's toxins) on malignant tumors in man. Acta.Med.Scand., Suppl.; 276 ; 1953. 103 p.
68. COLLINS, T.; LAPIERRE, L.A.; FIER, W.; STROMINGER, J.L.; POBER, J.S. - Recombinant human tumor necrosis factor increases mRNA levels and surface expression of HLA-A, B antigens in vascular endothelial cells and fibroblasts in vitro. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 83: 446, 1986.
69. COOK, G.M.W. - Cell surface carbohydrates: molecules in search of a function ? J.Cell Sci.; Suppl.; 4: 45 , 1986.
70. CORDELLA, C.J.; DAVIES, P.; ALLISON, A.C. - Immune complexes induces selective release of lysosomal hydrolases from macrophages. Nature; 247: 46, 1974.
71. CORNACOFF, J.B.; HERBERT, L.A.; SMEAD, W.L.; VANAMAN, M. E.; BIRMINGHAM, D.J.; MAXMAN, F.J. - Primate erythrocyte - immune complexes - clearing mechanism. J.Clin.Invest.; 71: 236, 1983.

72. CRANE, I.; LEUNG, H.; BARWICK, S.; DARTI, S.; MEAGER, A.-
The preparation of interferon gamma - producing T cell
hybridomas from jacalin - stimulated T lymphocytes and
the SH-9 T cell line. Immunology; 53: 855, 1984.
73. CRAPPER, R.M.; VAIRO, G.; HAMILTON, J.A.; CLARK-LEWIS, I.;
SCHRADER, J.W. - Stimulation of bone marrow - derived
and peritoneal macrophages by a T-lymphocyte -persisting
cell - stimulating factor. Blood; 66: 859, 1985.
74. CRAWFORD, R.M.; FINBLOOM, D.S.; OHARA, J.; PAUL, W.E. ;
MECTZER, M.S. - B cell stimulatory factor-1(interleukin-4)
activated macrophages for incresead tumoricidal activity
and expression of Ia antigens. J.Immunol.; 39: 135 ,
1987.
75. CURNETTE, J.T. & BABIOR, B.M. - Cronic - granulomatous
diseases. Adv.Human Genet.; 16: 229, 1987.
76. CURNUTTE, J.T.; BABIOR, B.M.; KARNOVSKY, M.L. - Fluoride-
mediated activation of the respiratory burst in human
neutrophils. A reversible process. J.Clin.Invest.; 63:
637, 1979.
77. CUTURI, M.C.; MURPHY, M.; COSTA-GIOMI, M.P.; WEINMANN, R.;
PERUSSIA, B.; TRINCHIERI, G. - Independent regulation
of tumor necrosis factor and lymphotoxin production by
human peripheral blood lymphocytes. J.Exp.Med.; 165 :
1581, 1987.
78. DAUMAU, S.R.; DA SILVA, L.C.M.; FREITAS, C.S. - Jacalin
induced production of human IL-2. Mem.Inst.Oswaldo Cruz
Suppl.II; 82: 11 A, 1987.
79. DAUMAU, S.R. & FREITAS, C.S. - Sugar inhibition of the
lectin jacalin: comparison of three assays. Braz. J .
Med.Biol.Res.; 22: 601, 1989.

80. DAUMAU, S.R.; MACIEL, C.M.; FREITAS, C.S. - Jacalin: an excellent lectin for obtaining T cell growth factor activity from rats spleen cells. Braz.J.Med.Biol.Res. 22: 1111, 1989.
81. DEAN, R.T.; LEON, P.; ROSSI, B.C. - Regulation of procoagulant factor in mononuclear phagocytes. Haemostasis 14: 412, 1984.
82. DE TITTO, E.; CATTERAL, J.R.; REMINGTON, J.S. - Activity of recombinant tumor necrosis factor on Toxoplasma gondii and Trypanosoma cruzi. J.Immunol.; 137: 1342 , 1986.
83. DE WATER, R.; VAN'T NOORDENDE, J.M.; DAEMS, W.T. and GINSEL, L.A. - Wheat - germ agglutinin binding in four types of mouse peritoneal macrophage. Histochemistry; 80: 449, 1984.
84. DE WATER, R.; VAN'T NOORDENDE, J.M.; GINSEL, L.A. and DAEMS, W.T. - Heterogeneity in wheat germ agglutinin binding by mouse peritoneal macrophages. Histochemistry; 72: 333, 1981.
85. DIAMOND, B. & SCHARFF, M.D. - IgG 1 and IgG 2b share the Fc receptor on mouse macrophage. J.Immunol.; 125: 631, 1980.
86. DIAMOND, B. & YELTON, D.E. - A new Fc receptor on mouse macrophages binding IgG 3. J.Exp.Med.; 153: 514, 1981.
87. DINARELLO, C.A. - Interleukin 1. Rev.Infect.Dis.; 6 : 51, 1984.
88. DINARELLO, C.A. - The biology of interleukin 1 and comparison to tumor necrosis factor. Immunol.Lett. ; 16: 227, 1987.

89. DINARELLO, C.A.; CANNON, J.G.; WOLFF, S.M.; BURNHEIM, H. A.; BEAUTLER, B.; CERAMI, A.; FIGARI, I.S.; PALLADINE, M.A.; O'CONNOR, J.V. - Tumour necrosis factor (cachectin) is an endogenous pyrogen and induces interleukin 1. J. Exp.Med.; 163: 1433, 1986.
90. DINARELLO, C.A.; IKEJIMA, T.; WARNER, S.J.; ORENCOLE, S. F.; LONNEMANN, G.; CANNON, J.G.; LIBBY, P. - Interleukin 1 induces interleukin 1 I - Induction of circulating interleukin 1 in rabbits in vivo and human mononuclear cells in vitro. J.Immunol.; 139: 1902, 1987.
91. DING, A.; NATHAN, C.F.; GRAYCAR, J.; DERYNCK, R.; STUEHR, D.J.; SRIMAL, S. - Macrophage deactivating factor and transforming growth factors - β_1 , β_2 and β_3 inhibit induction of macrophage nitrogen oxide synthesis by IFN- γ . J.Immunol.; 145: 940, 1990.
92. DING, A.; WRIGHT, S.D.; NATHAN, C.F. - Activation of mouse peritoneal macrophages by monoclonal antibodies to Mac 1 (complement receptor type 3). J.Exp.Med. ; 167: 773, 1987.
93. DURUM, S.K. & OPPENHEIM, J.J. - Macrophage - derived mediators: IL $_1$, TNF, IL $_6$, IFN and related cytokines. In: PAUL, W.E. ed. - Fundamental Immunology. New York, Raven Press, 1989, Chapter 22. p. 639.
94. DURUM, S.K.; OPPENHEIM, J.J.; NETA, R. - Immunophysiological role of IL $_1$. In: OPPENHEIM, J.J. & SHEVACK, E.M. - Textbook of Immunophysiology. New York, Oxford Press , 1988.
95. DURUM, S.K.; SCHIMIDT, J.A.; OPPENHEIM, J.J. - Interleukin 1: an immunological perspective. Ann.Rev.Immunol.; 3 : 263, 1986.

96. DYKMAN, T.R.; HATCH, J.A.; AQUA, M.S.; ATKINSON, J.P. - Polimorfism of the C3b/C4b receptor: identification of rare variant. J.Immunol.; 134: 1787, 1985.
97. ECONOMOU, J.S.; McBRIDE, W.H.; ESSNER, R.; RHOADES, K. ; GOLUB, S.; HOLMES, E.C.; MORTON, D.L. - Tumour necrosis factor production by IL-2 activated macrophages " in vitro" and "in vivo". Immunology; 67: 514, 1989.
98. EDELSON, P.J. & COHN, Z.A. - Peroxide mediated mammalian cell cytotoxicity. J.Exp.Med.; 138: 318, 1973.
99. EDELSON, P.J. & COHN, Z.A. - Effects of concanavalin A on mouse peritoneal macrophages. I. - Stimulation of endocytic activity and inhibition of phagolysosome formation. J.Exp.Med.; 140: 1364, 1974.
100. EHLENBERGER, A.G. & NUSSENZEGIG, V. - The role of membrane receptors for C3b associated with immune complexes. J.Exp.Med.; 145: 357, 1977.
101. ESPARZA, I.; GREEN, R.; SCHREIBER, R.D. - Inhibition of macrophage tumoricidal activity by immune - complexes and altered erythrocytes. J.Immunol.; 131: 2117, 1983.
102. EZEKOWITZ, R.A.B.; AUSTYN, J.; STAHL, P.D.; GORDON, S. - Surface properties of bacillus Calmette-Guerin activated mouse macrophages. Reduced expression of expression of mannose - specific endocytosis, Fc receptors and antigen F4/80 accompanies induction of Ia. J.Exp.Med.; 154 :
103. EZEKOWITZ, R.A.B.; BAMPTON, M.; GORDON, S. - Macrophage activation selectively enhances expression of Fc receptor for IgG 2a. J.Exp.Med.; 157: 807, 1983.
104. FEARON, D.T. & WONG, W.W. - Complement ligand - receptor interactions that mediate biological responses. Ann. Rev.Immunol.; 1: 243, 1983.

105. FEHLING, H.J.; VIVILLE, S.; VAN EWIJK, W.; BENOIST, C. ;
MATHIS, D. - Fine tuning of MHC class II gene expression
in defined microenvironments. Trends Genet.; 5: 342,
1989.
106. FEIZI, T. & CHILDS, R.A. - Carbohydrate structures of
glycoproteins and glycolipids as differentiation and
components of receptor systems. Trends Biochem.Sci. ;
10: 24, 1985.
107. FELDMAN, S.R.; GONIAS, S.L.; PIZZO, S.V. - A model of α_2 -
macroglobulin structure and functions. Proc.Natl.Acad.
Sci.USA.; 82: 5700, 1985.
108. FIDLER, I.J. - Macrophage and metastasis. A biological
approach to cancer therapy. Cancer Res.; 45: 4714 ,
1985.
109. FIGUEIREDO, F.; KOERNER, T.J.; ADAMS, D.O. - Molecular
mechanisms regulating the expression of class II
histocompatibility molecules on macrophages: effects
of inductive and suppressive signals on gene transcription.
J.Immunol.; 143: 3781, 1989.
110. FISCH, H. & GIFFORD, G.E. - In vitro production of rabbit
macrophage tumor cell cytotoxin. Int.J.Cancer; 32 :
105, 1983.
111. FISCHER, A.G.; GOFF, L.K.; LIGHTSTONE, L.; MARVEL, J. ;
MITCHISON, N.A.; PORIER, G.; STAUSS, H.; ZAMOYSKA, R.-
Problems in the physiology of class I and class II MHC
molecules, and CD 45. In: Proceedings of the
Immunological Recognition Symposium, cold spring
harbor laboratory, 1990.

112. FLAHERTY, L. - The tea region antigen. In: DORF, M.E. - The Role of the Major Histocompatibility Complex in Immunobiology. New York, Garland STPM Press, 1981, p.33.
113. FLAVELL, R.A.; ALLEN, H.; BURKLY, L.C.; SHERMAN, D.H.; WANECK, G.L.; WIDURA, G. - Molecular biology of the H-2 histocompatibility complex. Science; 233: 437, 1986.
114. FLICK, D.A. & GIFFORD, G.E. - Comparison of in vitro cell cytotoxic assays for tumor necrosis factor. J.Immunol. Methods; 68: 67, 1984.
115. FORMAN, H.J.; NELSON, J.; FISHER, A.B. - Rat alveolar macrophages require nadph for superoxide production in the respiratory burst: effect of nadph depletion by paraquat. J.Biol.Chem.; 255: 9879, 1980.
116. FRENDL, G.; FENTON, M.J.; BELLER, D.I. - Regulation of macrophage activation by IL-3: II-IL-3 and lipopolysaccharide act synergistically in the regulation of IL-1 expression. J.Immunol.; 144: 3400, 1990.
117. FRIDMAN, W.H. & GOLDSTEIN, P. - Immunoglobulin - binding factor present on and produced by thymus - processed lymphocytes (T cells). Cell Immunol.; 11: 442, 1974.
118. FRIDMAN, W.H.; TEILLAUD, J.L.; AMIGORENA, S.; DAERON, M.; BLANK, U.; NEUPORT-SAUTES, C. - The isotypic circuit: immunoglobulins, Fc receptors and immunoglobulins binding factor. Int.Rev.Immunol.; 2: 221, 1987.
119. GABIG, T.G. & BABIOR, B.M. - The killing of phatogens by phagocytes. Annu.Rev.Med.; 32: 313, 1981.

120. GATTASS, C.R.; GHOBRIAL, I.; BUNN-MORENO, M.M. - Specific inhibition of OKT 8 binding to peripheral blood mononuclear cell by jacalin. Immunol.Lett.; 17: 133 , 1988.
121. GEMSA, D. - Stimulation of prostaglandin E release from macrophage and possible role in the immune response in lymphokines. In: PICK, E. - Biochemistry of Macrophages. New York, Academic Press, 1981. Vol.IV. p.335.
122. GEMSA, D.; STEGGEMANN, L.; TILL, G.; RESCH, K.J. - Enhancement of the PGE 1 response of macrophage by concavalin A and colchicine. J.Immunol.; 11: 524, 1977.
123. GERY, I.; GERSHON, R.K.; WAKSMAN, B.H. - Potentiation of the T lymphocyte response to mitogens. I. - The responding cell. J.Exp.Med.; 136: 128, 1972.
124. GHIARA, P.; BORASCHI, D.; NENCIONI, L.; CHEZZI, P.; TAGLIABUE, A. - Enhancement of "in vivo" immune response by tumour necrosis factor. J.Immunol.; 139: 3678 , 1987.
125. GIBBONS, R.J. & VAN HOUTE, J. - Bacterial adherence in oral microbial ecology. Ann.Rev.Microbiol.; 29: 19 , 1975.
126. GIFFORD, G.E. & LOHMANN-MATTHES, M.L. - Gamma interferon priming of mouse and human macrophages for induction of tumour necrosis factor production by bacterial lipopolysaccharide. J.Natl.Cancer Inst.; 78: 121 , 1987.
127. GIRI, J.G.; KINCAPE, P.W. and MIZEL, S.B. - IL-1 mediate induction of kappa - light chain synthesis and surface immunoglobulin expression on pre-B cells. J.Immunol.; 132: 223, 1984.

128. GIRI, J.G.; LOMEDICO, P.T.; MIZEL, S.B. - Studies on the synthesis and secretion of IL-1. I-33 kd molecular weight precursor for IL-1. J.Immunol.; 134: 343, 1985.
129. GOLDBERG, M.; NAGATA, Y.; BLOOM, B.R. - IFN- α and IFN- γ inhibit the growth of macrophage cell lines and variants by different mechanisms. The IFN System; 24: 1422 , 1985.
130. GOLDMAN, R. - Induction of vacuolation in mouse peritoneal macrophage by concanavalin A. FEBS Lett.; 46: 203 , 1974.
131. GOLDSTEIN, I.M.; CERQUEIRA, M.; LINDS, S. and KAPLAN, H. B. - Complement and immunoglobulins stimulate superoxide production by leukocytes independently of phagocytosis. J.Clin.Invest.; 56: 1155, 1975.
132. GORDON, S. - Biology of macrophage. J.Cell Sci., Suppl.; 4: 267, 1986.
133. GORDON, S.; TOOD, J.; COHN, Z.A. - "In vitro" synthesis and secretion of lysozyme by mononuclear phagocytes. J.Exp.Med.; 139: 1228, 1974.
134. GRAHAM, R.C.; KARNOVSKY, M.J.; SHAFER, A.W.; GLASS, E.A . & KARNOVSKY, M.L. - Metabolic and morphological observations on the effect of surface - active agents on leukocytes. J.Cell Biol.; 32: 629, 1967.
135. GRAU, G.E.; FAJARDO, L.F.; PIGUET, P.F.; ALLET, B.; LAMBERT, P.H.; VASSALI, P. - Tumour necrosis factor (cachectin) as an essential mediator in murine cerebral malaria. Science; 237: 1210, 1987.

136. GREENBAUM, L.A.; HOROWITZ, J.B.; WOODS, A.; PASQUALINI , T.; REICH, E.P. and BOTTOMLY, K. - Autocrine growth of CD4⁺ T cells: differential effect of IL-1 on helper and inflammatory. J.Immunol.; 140: 1555, 1988.
137. GRIFFIN, F.M.; GRIFFIN, J.A.; LEIDER, J.E.; SILVESTEIN, S. C. - Studies on the mechanism of phagocytosis. I - requirements for circumferential attachment of particule - bound ligands to specific receptors on the macrophage plasma membrane. J.Exp.Med.; 142: 1263 , 1975.
138. GUYRE, P.M.; MORGANELLI, P.M.; MILLER, R. - Recombinant immune IFN increases IgG - Fc receptors on cultured human mononuclear phagocytes. J.Clin.Invest.; 72: 393, 1983.
139. HAGIWARA, K.; COLLET-CASSART, D.; KOBAYASHI, K.; VAERMAN , J.P. - Jacalin: isolation, characterization and influence of many factors on its interactions with human IgA 1 , as assessed by precipitation and latex agglutination. Mol.Immunol.; 25: 69, 1988.
140. HALLIWEL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. - The importance of free radicals and catalytic metal ions in human disease. Mol.Aspects.Med.; 8: 89, 1985.
141. HALLIWEL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. - Iron as a biological pro-oxidant. ISI. Atlas Sci.Biochem.; 1: 48, 1988.
142. HAMILTON, T.A. & ADAMS, D.O. - Mechanisms of macrophage - mediated injury. In: OTTER, W.O. & RUITENBERG, M. ed.- Tumour Immunology - Mechanisms, Diagnosis and Therapy . New York, Elsevier Science Publisners, 1987 a, Chapter 6. p. 89.

143. HAMILTON, T.A. & ADAMS, D.O. - Molecular mechanisms of signal transduction in macrophages. Immunol.Today; 8: 151, 1987 b.
144. HANSEN, T.H. & SACKS, D.M. - The major histocompatibility complex. In: PAUL, W.E. ed. - Fundamental Immunology. New York, Raven Press, 1989. p. 445.
145. HARTUNG, H.P.; PARNHAM, M.J.; WINKELMANN, J.; ENGLBERGER, W.; HADDING, V. - Platelet activating factor (PAF) induces the oxidative burst in macrophages. Inst. J. Immunopharmacol.; 5: 115, 1983.
146. HASKILL, J.S. & FETT, J.W. - Possible evidence for antibody - dependent macrophage - mediated cytotoxicity directed against murine adeno carcinoma cells "in vivo". J.Immunol.; 117: 1992, 1976.
147. HEBER-KATZ, E.; HANSBURG, D.; SCHWARFZ, R.H. - The Ia molecule of the antigen - presenting cell plays a critical role in immune response gene regulation of T cell activation. J.Mol.Cell Immunol.; 1: 3, 1983.
148. HENDERSON, W.R. & KLEBANOFF, S.J. - Leucotriene B₄, C₄, D₄ and E₄ inactivation by hydroxyl radicals. Biochem. Biophys.Res.Commun.; 110: 266, 1983.
149. HIEMSTRA, P.S.; GORTER, A.; STUURMAN, M.E.; VAN ES, L.A.; DAHA, M.R. - The IgA - binding lectin induced complement activation by inhibition of C 1 - inactivator. Scand. J.Immunol.; 26: 111, 1987.
150. HIRAYAMA, Y.; INABA, K.; INABA, M.; KATO, T.; KITaura, M.; HOSOKAWA, T.; IKEHARA, S.; MURAMATSU, S. - Neuraminidase - treated macrophages stimulate allogeneic CD8⁺ T cell in the presence of exogenous interleukin 2. J.Exp.Med. ; 168: 1443, 1988.

151. HO, M.K. & SPRINGER, T.A. - Mac-2, a novel 32,000 Mr mouse macrophage subpopulation - specific antigen defined by monoclonal antibodies. J.Immunol.; 128: 121, 1982.
152. HOSKEN, N.A.; BEVAN, M.J.; CARBONE, F.R. - Class I restricted presentation occurs without internalization on processing of exogenous antigens peptides. J.Immunol.; 142: 1079, 1989.
153. HUIZINGA, T.W.; ROOS, D.; VON DEMBORNE, A.E.G.K.- Neutrophil Fc γ Rs: a two-way bridge in the immune system. Blood; 75: 1211, 1990.
154. HUNSON, P.M. - The adherence of leukocytes and platelets induced by fixed IgG antibody or complement. Immunology; 16: 107, 1967.
155. IKUTA, K.; TAKAMI, M.; KIM, C.W.; JONJO, T.; MIYOSHI, T. ; TAGAWA, Y.; KAWABE, T.; YODOI, J. - Human lymphocytes Fc receptor for IgE: sequence homology of its cloned DNA with animal lectines. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 84 : 819, 1987.
156. IRIMURA, T.; NORTH, S.M.; NICOLSON, G.L. - Glicoproteins profile of macrophages at different stages od activation as revealed by lectin binding after eletrophoretic separation. Eur.J.Immunol.; 17: 73, 1987.
157. ISAAC, L. & MARIANO, M. - The IgM receptor in mouse peritoneal macrophages. Clin.Exp.Immunol.; 72: 516 , 1988.
158. ITOH, A.; IIZUKA, K. and NATORI, S. - Induction of TNF-like factor by murine macrophage - like cell line J-774.1 on treatement with sarcophaga lectin. FEBS Lett. 175: 59, 1984.

159. ITOH, A.; OHSAWA, F.; NATORI, S. - Purification of a cytotoxic protein produced by the murine macrophage like cell line J 774.1 in response to sarcophaga lectin. J.Biochem.; 99: 915, 1986.
160. JERNE, N.K. - The natural selection theory of antibody formation. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 41: 848, 1955.
161. JERNE, N.K. - Towards a network theory of the immune system. Ann.Immunol.Inst.Pasteur; 125 c: 373, 1974.
162. JIA, S. & WANG, J.L. - Carbohydrate binding protein 35 . Complementary DNA sequence reveals homology with proteins of the heterogeneous nuclear RNP. J.Biol. Chem.; 263: 6009, 1988.
163. JOHNSON, K.J.; RENAN, A.; WARD, P.A. - The role of oxygen radicals in kidney disease. In: HALLIWELL, B. - Oxygen Radicals and Tissue Injury. Proceedings of a brook lodge symposium, Bethesda, The Upjohn Company, 1988. p. 115.
164. JOHNSON, W.J.; PIZZO, S.V.; IMBERG, J.J.; ADAMS, D.O. - Receptors for maleylated proteins regulate the secretion of neutral proteases by murine macrophages. Science ; 218: 574, 1982.
165. JOHNSTON, P.A.; ADAMS, D.O.; HAMILTON, T.A. - Regulation of Fc receptor mediated respiratory burst: treatement of primed murine peritoneal macrophage with lipopolysaccharide selectively inhibits H₂O₂ secretion stimulated by immune complexes. J.Immunol.; 135: 513 , 1985.
166. JOHNSTON Jr., R.B. - Monocytes and macrophages. N.Eng. J.Medicine; 138: 747, 1988.

167. JOHNSTON Jr., R.B.; CHADWICK, D.A.; COHN, Z.A. - Priming the macrophages for enhanced oxidative metabolism by exposure to proteolytic enzymes. J.Exp.Med.; 153: 1678, 1981.
168. JOHNSTON Jr., R.B.; GODZIK, C.A.; COHN, Z.A. - Increased superoxide anion production by immunologically activated and chemically elicited macrophages. J.Exp.Med.; 148 : 115, 1978.
169. JOHNSTON Jr., R.B. & LEHMEYER, J.E. - Elaboration of toxic oxygen by products by neutrophils in a model of immune complexes diasease. J.Clin.Invest.; 57: 836, 1976.
170. KABAT, E.E. & MAYER, M.M. - Preparation of hemology antibody and sensitization of the cells. In: THOMAS , C.C. - Experimental Immunochemistry. Springfield, 1971. p. 150.
- 171 KAKINUMA, K. - Effects of fatty acids on the oxidative metabolism of leukocytes. Biochem.Biophys.Acta; 348 : 76, 1974.
172. KAN, V.L. & BENNETT, J.E. - Lectin - like attachment sites on murine pulmonary alveolar macrophages binds Aspergillus fumigatus conidia. J.Infect.Dis.; 158: 407, 1988.
173. KAPLAN, G. & OLSTAD, R. - Heterogeneity in surface glycoproteins of mouse peritoneal macrophage populations. Exp.Cell Res.; 135: 379, 1981.
174. KAY, M.M.B. - Mechanisms of removal of senescent cell by human macrophages "in situ". Proc.Natl.Acad.Sci.USA ; 72: 3521, 1975.

175. KEHRL, J.H.; MILLER, A.; FAUCI, A.S. - Effect of tumour necrosis factor alpha on mitogen - activated human B cells. J.Exp.Med.; 166: 781, 1987.
176. KEISARI, Y.; BRAUN, L.; FLESCHER, E. - The oxidative burst and related phenomena in mouse macrophage elicited by different sterile inflammatory stimuli. Immunobiology; 165: 78, 1983.
177. KEMPKA, G. & KOLB-BACHOFEN, V. - Galactose - specific receptors on liver cells. I - Hepatocyte and liver macrophage receptors differ in membrane anchorage. Biochem.Biophys.Acta.; 847: 108, 1982.
178. KEMPKA, G.; ROOS, P.H.; KOLB-BACHOFEN, V. - A membrane - associated form of C - reactive protein is the galactose - specific particule receptor on rat liver macrophage. J.Immunol.; 144: 1004, 1990.
179. KIERSZENBAUM, F. - Antibody - dependent killing of blood stream forms of T.cruzi by human peripheral blood leukocytes. Am.J.Trop.Med.Hyg; 28: 965, 1979.
180. KING, D.P. & JONES, P.P. - Induction of Ia and H-2 antigens on a macrophage cell line by immune interferon. J. Immunol.; 131: 315, 1983.
181. KIPNIS, T.L.; JAMES, S.L.; SHER, A.; DAVID, J.R. - Cell - mediated cytotoxicity to T.cruzi. II - Antibody - dependent killing of bloodstream forms by mouse eosinophils. Am.J.Trop.Med.Hyg; 30: 47, 1981.
182. KIPPS, D.J.; PARHAM, P.; PUNT, J.; HERZEMBURG, L.A. - Importance of immunoglobulin isotype in human antibody-dependent cell mediated cytotoxicity directed by murine monoclonal antibody. J.Exp.Med.; 161: 1, 1985.

183. KLEIN, J.; FLAHERTY, L.; VANDEBERG, J.L.; SHREFFLER, D.C.-
H-2 haplotypes, genes, regions and antigens: first
listing. Immunogenetics; 6: 489, 1978.
184. KLINKSTEIN, L.B.; BARTOW, T.J.; MILETIC, M.; RABSON, L.D.;
SMITH, J.A.; FEARON, D.T. - Identification of distinct
C3b and C4b recognition sites in human C3b/C4b receptor
(CR1, CD 35) by deletion mutagenesis. J.Exp.Med.; 168:
1699, 1988.
185. KNIGHTON, D.R.; HUNT, T.K.; SCHUENSTUHL, H.; HALLIDAY, B.
J.; WERB, Z.; BANDA, M.J. - Oxygen tension regulates
the expression of angiogenesis factor by macrophages.
Science; 221: 1283, 1983.
186. KOBILER, D. & MIRELMAN, D. - Adhesion of *Entamoeba histo*
lytica trophozoites to monolayers human cells. J.Infect.
Dis.; 144: 539, 1981.
187. KOBORI, J.A.; STRAUSS, E.; MINARD, K.; HOOD, L. - Molecular
analysis of the hotspot of recombination in the murine
major histocompatibility complex. Science; 234: 173 ,
1986.
188. KOFFMAN, M.K.; GILBERT, K.M.; HIRST, J.A.; SCHEID, M. - An
essential role for IL-1, and a dual function for IL-2
in immune response of murine B lymphocytes to sheep
erythrocytes. J.Mol.Cell Immunol.; 3: 29, 1987.
189. KOHASE, M.; HENRIKSEN de STEFANO, D.; MAY, L.; VILEEK, J.;
SEHGAL, P.B. - Induction of beta-2 interferon by TNF: a
homeostatic mechanism in the control of cell proliferation.
Cell; 45: 659, 1986.

190. KOLB, H. & KOLB-BACHOFEN, V. - A lectin-like receptor on mammalian macrophages. Biochem.Biophys.Res.Comm. ; 85: 678, 1978.
191. KOLB-BACHOFEN, V.; SCHLEPPER-SCHAFER, J.; ROOS, P.; HULSMANN, D.; KOLB, H. - Gal NAc/gal-specific rat liver lectins: their role in cellular recognition. Biol.Cell. 51: 219, 1984.
192. KOMANO, H.; MIZUNO, D.; NATORI, S. - Purification of lectin induced in hemolymph of *Sarcophaga peregrina* larvae on injury. J.Biol.Chem.; 255: 2919, 1980.
193. KONDOH, H.; KOBAYASHI, K.; HAGIWARA, K. and KAJII, T. - Jacalin, a jack fruit lectin, precipitates IgA 1 but not IgA 2 subclass on gel diffusion reaction. J. Immunol.Methods; 88: 171, 1986.
194. KORN, J.H.; HALUSCHKA, P.V.; Le ROY, E.C. - Mononuclear cell modulation of connective tissue function. J.Clin. Invest.; 65: 543, 1980.
195. KOVAC, Z. & SCHWARTZ, R.H. - The molecular basis requirement for antigen processing of pigeon cytochrome C prior T cell activation. J.Immunol.; 134: 3233, 1985.
196. KRIEGLER, M.; PEREZ, C.; De FAY, K.; ALBERT, I.; LU, S.D.- A novel form of TNF cachectin is a cell surface cytolytic transmembrane protein: ramifications for the complex. Physiology of TNF. Cell; 53: 45, 1988.
197. KRISTENSEN, T.; D'EUSTACHIO, P.; OGATA, R.T.; CHUNG, L.P.; REID, K.B.M. and TACK, B.F. - The super family of C3b / C4b binding proteins. Federation Proc.; 46: 2463, 1987.

198. KRUISBEEK, A.M.; FELTZ, M.J.; SHARROW, S.O.; SINGER, A. ;
MOND, J.J. - Early development of the T cell repertoire
in vivo treatment of neonatal mice with anti - Ia
antibodies interferes with differentiation of Ia
restricted T cells but not K/D restricted T cells.
J.Exp.Med.; 157: 1932, 1983.
199. KUMAGAI, K. & ARAI, K. - Inhibition of macrophage migration
by concanavalin-A. J.Reticuloendotel.Soc.; 13: 507 ,
1973.
200. KUMAGAI, Y.; OKUMURA and TADA, T.- Photoaffinity - labeled
hapten binding T cell receptor on a suppressor T cell
hybridoma. Mol.Immunol.; 21: 545, 1984.
201. KURLAND, J.I. & BOCKMAN, R. - Prostaglandin E production
by human blood monocytes and mouse peritoneal
macrophages. J.Exp.Med.; 147: 952, 1978.
202. KURT-JONES, E.A.; BELLER, D.I.; MIZEL, S.B. and UNANUE, E.
R. - Identification of a membrane - associated
interleukin 1 in macrophages. Proc.Natl.Acad.Sci.USA ;
82: 1204, 1986.
203. LAMBRE, C.R.; GREFFARD, A.; GATTEGNO, L.; SAFFAR, L. -
Modifications of sialidase activity during the monocyte -
macrophage differentiation in vitro. Immunol.Lett.; 23:
179, 1990.
204. LEHMEYER, J.E.; SNYDERMAN, R.; TOHNSTON, R.B. - Simulation
of neutrophil oxidative metabolism by chemotactic
peptides: influence of calcium ion concentration and
cytochalasin B and comparison with stimulation by phorbol
myristate acetate. Blood; 54: 35, 1979.

205. LI, C.Y.; LAM, K.W.; YAM, L.T. - Esterases in human leucocytes. J.Histochem.Cytochem.; 21: 1973.
206. LIEBERMAN, R.; PAUL, W.E.; HUMPHREY, W.; STIMPLIFING, J.H. H-2 linked immune response (Ir) genes - independent loci for Ir - IgG and Ir - IgA. J.Exp.Med.; 136: 1231, 1972.
207. LIMA-MARTINS, M.V.C.; SANCHEZ, G.A.; KRETTLI, A.U.; BRENER, Z. - Antibody - dependent cell cytotoxicity against Trypanosoma cruzi is only mediated by protective antibodies. Parasite Immunol.; 7: 367, 1985.
208. LITTLE, C.C. & TYZZER, E.E. - Further studies on inheritance of susceptibility to a transplantable tumour of Japanese waltzing mice. J.Med.Res.; 33: 393, 1916.
209. LOMEDICO, P.T.; GUBLER, U.; MIZEL, S.B. - cloning and expression of murine, human and rabbit IL 1. Lymphokines; 13: 139, 1987.
210. LOUBE, S.R. & DORRINGTON, K.J. - Isolation of biosynthetically labeled Fc - binding proteins from detergent lysates and spent culture fluid of macrophage-like cell line (P388D1). J.Immunol.; 125: 970, 1980.
211. LUETTIG, B.; STEINMULLER, C.; GIFFORD, G.E.; WAGNER, H.; LOHMANN-MATTHES, M.L. - Macrophage activation by the polysaccharide arabinogalactan isolated from plant cell cultures of Echinacea purpurea. J.Natl.Cancer Inst.; 81: 669, 1989.
212. LUTTON, J.D. - The effect of phagocytosis and spreading on macrophage surface receptor for concanavalin-A. J.Cell Biol.; 56: 611, 1973.

213. MACKANESS, G.B. - Delayed hypersensibility and the mechanisms of cellular resistance to infection. In: AMOS, B. ed. - Progress in Immunology. New York, Academic Press, 1971. p. 413.
214. MADEIRA, E.D.; ANDRADE, A.F.B.; BUNN-MORENO, M.M.; BAR - CINSK, M. - Antibody - dependent cellular cytotoxicity of T.cruzi: characterization of the effector cell from normal blood. Infect.Immun.; 25: 34, 1979.
215. MALKOVSKY, M.; LOVELAND, B.; NORTH, M.; OSKERSON, G.L. ; GOO, L.; WARD, P.; FIERIS, W. - Recombinant interleukon 2 directly augments the cytotoxicity of human monocytes. Nature; 325: 262, 1987.
216. MANGAN, D.F. & SNYDER, I.S. - Mannose - sensitive interaction of *Escherichia coli* with human peripheral leukocytes "in vitro". Infect.Immun.; 26: 520, 1979.
217. MANNEL, D.N.; MOORE, R.N.; MERGENHAGEY, S.E. - Macrophages as a source of tumoricidal activity (TNF). Infect.Immun.; 839: 523, 1980.
218. MANTOVANI, B. - Phagocytosis of immune complexes mediated by IgM and C3 receptors by macrophages from mice treated with glycogen. J.Immunol.; 126: 127, 1981.
219. MARCHALONIS, J.J. & SCHLUTER, S.F. - Immunoproteins in evolution. Dev.Comp.Immunol.; 13: 285, 1990.
220. MATTHEWS, N. - Tumour necrosis factor from the rabbit II . Production by monocytes. Br.J.Cancer; 38: 418, 1978.
221. MEDAWAR, P.B. - The immunology of transplantation: the harvey lectures 1956-57. New York, Academic Press, 1958.

222. MENGUELE, J.O. & CAMPOS-NETO, A. - A B-cell stimulatory factor (BSF-3) produced by jacalin - activated macrophages (submitted), 1991.
223. MERCURIO, A.M.; SCHWARTING, G.A.; ROBBINS, P.W.- Glycolipids of the mouse peritoneal macrophage - alterations in amount and surface exposure of specific glycolipid species occur in response to inflammation and tumoricidal activation. J.Exp.Med.; 60: 1114, 1984.
224. METZGER, Z.; HOFFELD, J.T. & OPPENHEIN, J.J. - Macrophage - mediated supression (I) evidence for participation of both hydrogen peroxide and prostaglandins in supression of murine lymphocyte proliferation. J.Immunol. ; 124: 983, 1990.
225. MILON, G.; LEBASTARD, M.; MARCHAL, G. - Role of T lymphocytes in macrophage populations. Mol.Biol. and Infec.Dis.; 59: 291, 1988.
226. MIRANDA-SANTOS, I.K.F.; MENGUELE Jr.; J.O.; BUNN-Moreno , M.M.; CAMPOS-NETO, A. - Activation of T and B cells by grude extract of Artocarpus intergrifolia is mediated by a lectin distinct from jacalin. J.Immunol.Meth.; in press, 1991.
227. MIRANDA-SANTOS, I.K.F.; DELGADO, M.; BONINI, P.V.; BUNN - MORENO, M.M.; CAMPOS-NETO, A. - A crude extract of Artocarpus intergrifolia contains two lectins with distinct biological activities. (Submmited), 1991.
228. MIRELMAN, D. - Microbial lectins and agglutinins: properties and biological activity. New York, Wiley , 1987. p. 183.

229. MIZEL, S.B. - Interleukin 1 - Biology and molecular biology. In: POSTE, G. & CROOKS, S.T. eds. - Cellular and Molecular Aspects of Inflammation. New York, Plenum, 1988. p. 75.
230. MIZEL, S.B. - The interleukins. *FASEB J.*; 3: 2379, 1989.
231. MOREIRA, R.Z. & AINOUEZ, I.L. - Isolectins from jack fruit Artocarpus intergrifolia seeds. Plant Physiol.; 61 : 650 A, 1978.
232. MOREIRA, R.Z. & AINOUEZ, I.L. - Lectins from seeds of jack fruit Artocarpus intergrifolia: isolation and purification of two isolectins from the albumin factor. Biologia Plantarum (Praha); 23: 186, 1981.
233. MORGAN, E.L.; THOMAN, M.L. and WEIGLE, W.O. - Fc fragments activation of T lymphocytes I - Fc fragments trigger $\text{Lyt } 1^+ 2,3^-$ T lymphocytes to release a helper T cell replacing factor. J.Immunol.; 128: 632, 1981.
234. MORRISEY, P.J.; BRESSLER, L.; CHARRIER, K. and ALFERT, A.- Response of resident murine peritoneal macrophages to "in vivo" administration of granulocyte - macrophage colony - stimulating factor. J.Immunol.; 140: 1910 , 1988.
235. MOSSER, D.M. & EDELSON, P.J. - The mouse macrophage receptor for C3bi (CR3) is a major mechanism in phagocytosis of *Leishmania* promastigotes. J.Immunol . 135: 2785, 1985.
236. MULLER, V.; JONGENEEL, C.V.; NUDOSPASOV, S.A.; FISHER-LIN-DAHL, K.; STEINMETZ, M. - Tumour necrosis factor and lymphotoxin genes map close to H-2 D in the mouse major histocompatibility. Complex. Nature; 325: 265, 1987.

237. MURPHY, D.B. - I-J puzzle. Annun.Rev.Immunol.; 5: 405 ; 1987.
238. MURPHY, D.B.; HERZENBERG, L.A.; OKUMURA, K. and Mc DEVITT, H.O. - A new I subregion (I-J) marked by a locus (Ia-4) controlling surface determinants on supressor T lymphocytes. J.Exp.Med.; 144: 669, 1976.
239. MURRAY, H.W.; BYRNE, G.I.; ROTHERMAL, C.D.; CARTELLI, D.M. Lymphokine enhances oxygen - independent activity against intracellular pathogens. J.Exp.Med.; 158: 235, 1983.
240. NAGAOKA, I.; KANEKO, H.; YAMASHITA, T. - Inhibition of the accumulation of macrophages and the generation of macrophage chemotactic activity by dexamethasone in concanavalin-A induced peritonitis in mice. Agent Actions; 25: 156, 1988.
241. NATHAN, C.F. - Secretory products of macrophages. J.Clin. Invest.; 79: 319, 1987.
242. NATHAN, C.F. & COHN, Z. - Role of oxygen - dependent mechanisms in antibody - induced lysis of tumour cells by activated macrophages. J.Exp.Med.; 152: 198, 1980.
243. NATHAN, C.F.; MURRY, H.W.; WIEBE, M.E. and RUBIN, B.Y. - Identification of interferon gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. J.Exp.Med.; 158: 670 , 1983.
244. NATHAN, C.F.; PRENDERGAST, T.J.; WIEBE, M.E.; STANLY, E. R.; PLATZER, U.E.; REMOLD, H.G.; RUBIN, B.Y. and MURRY, H.W. - Activation of human macrophages comparison of other cytokines with interferon - gamma. J.Exp.Med. ; 160: 600, 1984.

245. NATHAN, C.F. & ROOT, R.R. - Hydrogen peroxide release from peritoneal macrophage dependence on sequential activation and triggering. J.Exp.Med.; 146: 1648, 1977.
246. NATHAN, C.F.; SILVERSTEIN, S.C.; BRUNKNER, L.R.; COHN, Z. A. - Extra cellular cytotoxicity by activated macrophages and granulocytes. II - Hydrogen peroxide as a mediator of cytotoxicity. J.Exp.Med.; 149: 100, 1979.
247. NIBBERING, P.H.; LEIJH, P.C.J.; VAN FURTH, R.-Quantitative immunocytochemical characterization of mononuclear phagocytes. I - Monoblasts, promonocytes, monocytes, peritoneal and alveolar macrophages. Cell Immunol. ; 105: 374, 1987 a.
248. NIBBERING, P.H.; LEIJH, P.C.; VAN FURTH, R. - Quantitative immunocytochemical characterization of mononuclear phagocytes. II - Monocytes and tissue macrophages. Immunology; 62: 171, 1987 b.
249. NICHOLSON, G.L. - Cell surface molecules and tumour metastasis. Exp.Cell Res.; 150: 3, 1984.
250. NICOLA, N.A. - Why do hemopoietic growth factor receptor interact with each other ? Immunol.Today; 8: 134, 1987.
251. NICOLA, N.A. & METCALF, D. - Specificity of action of colony - stimulating factors in the differentiation of granulocytes and macrophages. In: Biochemistry of Macrophages - CIBA Foundation Symposium; 118, London, Pitman, 1986. p. 7.
252. NOGUEIRA, N. & COHN, Z.A. - Trypanosoma cruzi: in vitro induction of macrophage microbial activity. J.Exp.Med. 148: 288, 1978.

253. ODA, S.; SATO, M.; TOYOSHIMA, S.; OSAWA, T. - Binding of activated macrophages to tumour cells through a macrophage lectin and its role in macrophage tumoricidal activity. J.Biochem.; 105: 1040, 1989.
254. ODA, S.; SATO, M.; TOYOSHIMA, S.; OSAWA, T. - Purification and characterization of a lectin - like molecule specific for galactose/N-acethyl - galactosamine from tumoricidal macrophage. J.Biochem.; 104: 600, 1988.
255. OFEK, I. & SHARON, N. - Lectinophagocytosis: a molecular mechanism of recognition between surface sugars and lectins in phagocytosis of bacteria. Infec.Immun.; 56: 539, 1988.
256. OFEK, I.; MIRELMAN, D.; SHARON, N. - Adherence of Escherichia coli to human mucosal mediated by mannose receptors. Nature; 265: 623, 1977.
257. OHUCHI, K.; WATANABE, M.; TAKAHASHI, E.; TSURUFUJI, S. ; IMANISHI, K.; SUZUKI, I.; LEVINE, L. - Lectins modulate PGE2 production by peritoneal macrophages. Agent Actions; 15: 419, 1984.
258. OLD, L.J. - Tumour necrosis factor (TNF). Science; 30 : 630, 1985.
259. OLIVEIRA, D.B.G. & MITCHISON, N.A. - Immune-supression genes. Clin.Exp.Immunol.; 75: 167, 1989.
260. PABST, M.J. & JOHNSTON Jr., R.B. - Increased production of superoxide anion by macrophage expose in vitro muramyl dipeptide or lipopolissacharide. J.Exp.Med. ; 151 : 101, 1980.

261. PACE, J.L.; RUSSEL, S.W.; Le BLANC, P.A.; MURASKO, D.M. - Comparative effects of various classes of mouse interferons on macrophage activation for tumour cell killing. J.Immunol.; 134: 979, 1985.
262. PARMENTIER, S.; KAPLAN, C.; CATIMEL, B. and MCGREGOR, J. L. - New families of adhesion molecules play a vital role in platelet functions. Immunol.Today; 11: 225 : 1990.
263. PARRINELLO, N. & ARIZZA, V. - D-galactose binding lectin from the tunicate Ascidia malaca: subunit characterization and hemocyte distribution. Dev.Immunol.; 12: 495, 1988.
264. PASSWELL, J.H.; DAYER, J.M.; GASS, K. and EDELSON, P.J. - Regulation by Fe fragments of the secretion of collagenase, PGE₂ and lysozyme by mouse peritoneal macrophage. J.Immunol.; 125: 910, 1980.
265. PAULSON, J.C. - Interaction of animals virus with cell surface receptors. In: CONN, P.M. ed. - The Receptors. New York, Academic Press, 1985. Vol.II. p. 131.
266. PAYNE, N.R.; BELLINGER-KAWARA, C.G.; NORWITZ, M.A. - Phagocytosis of Mycobacterium tuberculosis, by human monocytes is mediated by receptors for the third component of complement. Clin.Res.; 35: 617 A, 1987.
267. PAYNE, N.R. & HORWITZ, M.A. - Phagocytosis of Legionella pneumophila is mediated by human monocyte complement receptors. J.Exp.Med.; 166: 1377, 1987.
268. PENNICA, D.; NUDWIN, G.E.; HAYFUCK, J.S.; SEEBUNG, P.H. ; DERYNCK, R.; PALLADINO, A.; KOHR, W.J.; AGGARWAL, B.B.; GOEDDEL, D.V. - Human tumour necrosis factor: precursor structure expression and homology to lymphotoxin. Nature; 312: 724, 1984.

269. PENDLAND, J.C. & BOUCIAS, D.G. - Characteristics of a galactose - binding hemagglutinin (lectin) from hemolymph of Spodoptera exigua larvae. Dev. Comp. Immunol.; 10: 477, 1986.
270. PEREIRA, M.E.A.; LOURES, M.A.; VILLACTA, F.; ANDRADE, A. B. - Lectin receptors as markers for Trypanosoma cruzi. J.Exp.Med.; 152: 1375, 1980.
271. PERRY, A.; KUISARA, Y.; OFEK, I. - Liver cell and macrophage surface lectins as determinants of recognition in blood clearance and cellular attachment of bacteria. Fems. Microbiol.Lett.; 27: 345, 1985.
272. PERRY, A. & OFEK, I. - Inhibition of blood clearance and hepatic tissue binding of *Escherichia coli* by liver lectin - specific sugar and glycoproteins. Infect. and Immun.; 843: 257, 1984.
273. PETRI Jr., W.A. - Subunit structure of the galactose and N-acethyl-D-galactosamina inhibitable adherence lectin of Entamoeba histolytica. J.Biol.; 264: 3007, 1989.
274. PHILLIPS, N.E. & PARKER, D.C. - Fc dependent inhibition of mouse B cell activation anti- μ antibodies. J.Immunol.; 130: 602, 1983.
275. PHILLIPS, N.E. & PARKER, D.C. - Subclass specificity of Fc gamma receptors mediated inhibition of mouse B cell activation. J.Immunol. ; 134: 2835, 1985.
276. PHILLIP, R. & EPSTEIN, L.B. - Tumour necrosis factor as immunomodulation and mediator of monocyte cytotoxicity induced by itself, gamma - interferon and interleukin 1. Nature; 323: 86, 1986.

277. PICK, E. & KEISARI, Y. - Superoxide anion and hydrogen peroxide production by chemically elicited peritoneal macrophages - induction by multiple non - phagocytic stimuli. Cell Immunol.; 59: 301, 1981.
278. PICK, E. & KEISARI, Y. - A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. J.Immunol.Methods; 38: 161, 1980.
279. FIGUET, P.F.; GRAU, G.E.; ALLAT, B.; VASSALI, P. - Tumour necrosis factor/cachectin is an effect on skin and gut lesions of the acute phases of graft-vs-host disease. J.Exp.Med.; 166: 1288, 1987.
280. PIZZO, S.V.; LEHRMAN, M.A.; IMBER, M.J.; GUTHROW, E.C. - The clearance of glycoprotein in diabetic mice. Biochem. Biophys.Res.Comm.; 101: 704, 1981.
281. PONZIN, D.; VECCNIM, P.; TOFFANO, G.; GIONDANO, C.; BRUNI, A. - Characterization of macrophage elicited by intra - peritoneal injection of hyaluronate. Agent Actions ; 18: 154, 1986.
282. PRPIC, V.; YU, S.F.; FIGUEIREDO, F.; HOLLENBACH, P.W., GAWDI, G.; HERMAN, B.; UNING, R.J.; ADAMS, D.O. - Role of Na^+/H^+ exchange by interferon- γ in enhanced expression of Je and Ia_B genes. Science; 244: 469, 1989.
283. PRPIC, V.; VHING, R.J.; WEIEL, J.E.; JAKOI, L.; GAWDI, G.; HERMAN, B.; ADAMS, D.O. - Biochemical and functional responses by platelet activating factor in murine peritoneal macrophages. J.Cell Biol.; 107: 363, 1988.

284. PRPIC, V.; WEIEL, J.E.; SOMERS, S.D.; HERMAN, B.; GONIAS, S.; PIZZO, S.V.; HAMILTON, T.A.; ADAMS, D.O. - Effects of bacterial lipopolysaccharide on the hydrolysis of phosphatidyl inositol - 4,5-biphosphate in murine peritoneal macrophages. J.Immunol.; 139: 526, 1987.
285. PRYDZ, N. & ALLISON, A.C. - Tissue thromboplastin activity of isolated human monocytes. Thrombos.Haemostas.; 39 : 582, 1978.
286. PUJOL-BORELL, R.; TODD, I.; DOSHI, M.; BOTAZZO, G.F. ; SUTTON, R.; GRAY, D.; AROLE, G.R.; FELDMAN, M. - HLA class II induction in human islet cells by interferon - gamma plus tumour necrosis factor on lymphotoxin. Nature; 326: 304, 1987.
287. RA, C.; JOUVIN, M.E.; BLANK, U.; KINET, J.P. -A macrophage Fc γ R and the mast cell receptor for IgE share an identical subunit. Nature; 341: 752, 1989.
288. RABINOVITCH, M. - The role of antibodies in the ingestion of aldehyde - treated erythrocytes attached to macrophages. J.Immunol.; 99: 232, 1967.
289. RALPH, P. & NAKOINZ, I. - Stimulation of macrophage tumoricidal activity by the growth and differentiation factor CSF-1. Cell Immunol.; 195: 270, 1987.
290. RALPH, P.; NAKOINZ, I.; RENNICK, D. - Role of IL-2, IL-4 and IFN- α , - β and - γ in stimulating macrophage antibody - dependent tumoricidal activity. J.Exp.Med.; 167: 712, 1988.
291. RATCLIFFE, N.A. - The biological significance of immunity. Dev.Comp.Immunol.; 13: 273, 1989.

292. RATCLIFFE, N.A.; ROWLEY, A.F.; FITZGERALD, S.W. and RHODES, C.P. - Invertebrate immunity: basic concepts and recent advances. Int.Rev.Cytol.; 97: 183, 1985.
293. RAVETCH, J.U.; LUSTER, A.D.; WEINSHANK, R.; KOCHAN, J. ; PAVLOVES, A.; PORTNOY, D.A.; HULMES, J.; PAN, Y.C.E. ; UNKELESS, J.C. - Structural heterogeneity and functional domains of murine immunoglobulin G FcR. Science; 234 : 718, 1986.
294. RAZ, A.; SHAHAR, A.; GOLDMAN, R. - Characterization of an "in vivo" induced peritoneal macrophages population following intraperitoneal injection of concanavalin A. J.Reticulo Endot.Soc.; 22: 445, 1977.
295. RENNICK, D.; YANG, G.; MULLER-SIEBERG, C.; SMITH, C.; ARAI, N.; TAKABE, Y.; GEMMEL, L. - IL-4 can enhance or antagonize the factor - dependent growth of hemopoietic progenitor cells. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 84: 6889 , 1987.
296. REPINE, J.E.; WHITE, J.G.; CLAWSON, C.C.; HOLMES, B.M. - Effects of phorbol myristate acetate on the metabolism and ultrastructure of neutrophils in chronic granulomatous disease. J.Clin.Invest.; 54: 83, 1974.
297. REYNOLDS, H.Y. - Pulmonary host defences in the interaction of bacteria, antibodies, macrophages and lymphocytes. J.Infec.Dis.; 1305: 134, 1974.
298. ROBERTSON, M. - Immunity, evolution and self-recognition. New Scientist; 21, july, p. 198, 1983.
299. ROOT, R.K. & METCALF, J.A. - H₂O₂ release from human granulocytes during phagocytosis relation. J. Clin. Inv.; 60: 1266, 1977.

300. ROQUE-BARREIRA, M.C.; PRAZ, F.; HALBWATCHS-MECARELLI, L. ;
GREENE, L.J. and CAMPOS-NETO, A. - IgA - affinity
purification and characterization of lectin jacalin.
Braz.J.Med.Biol.Res.; 19: 149, 1986.
301. ROQUE-BARREIRA, M.C. & CAMPOS-NETO, A. - Jacalin: an IgA -
binding lectin. J.Immunol.; 134: 1740, 1985.
302. ROQUE-BARREIRA, M.C. & CAMPOS-NETO, A. - A method for the
determination of secretory IgA using the lectin. Braz.
J.Med.Biol.Res.; 17: 384, 1984.
303. ROSEN, S.D. & YEDNOCK, T.A. - Lymphocyte attachment to
high endothelial venules during recirculation: a
possible role for carbohydrates as recognition
determinants. Mol.Cell Biochem.; 72: 153, 1986.
304. ROSENTHAL, A.S.; BARCINSKI, M.A.; BLAKE, J.T. - Determinant
selection is a macrophage dependent immune response gene
function. Nature; 267: 156, 1977.
305. ROSENTHAL, A.S. & SCHEVACH, E.M. - Function of macrophage
in antigen recognition by guinea pig T lymphocytes.
I- requirement for histocompatible macrophages and
lymphocytes. J.Exp.Med.; 138: 1194, 1973.
306. ROSS, C.D. & MEDOF, M.E. - Membrane complement receptor
specific for band fragments of C3. Adv.Immunol.; 37 :
217, 1985.
307. ROSSMAN, M.G. - The canyon hypothesis. J.Biol.Chem.; 264:
14587, 1986.
308. ROUZER, C. & CERAMI, A. - Hypertriglyceridemia associated
with Trypanosoma brucei infection in rabbits: role of
defectives triglyceride removal. Mol.Biochem.Parasitol.;
2: 31, 1980.

309. RUSSEL, D.G. & WRIGHT, S.D. - Complement receptor type 3 (CR3) binds to an Arg - Gly - Asp - containing region of major surface glycoprotein, gp 63 of *Leishmania* promastigotes. J.Exp.Med.; 168: 279, 1988.
310. RUSSO, M.; STAROBINAS, N.; RIBEIRO DOS SANTOS, R.; MINO-PRIO, P.; EISEN, H.; HONTEBEYRIE-JOSKOWITZ, M. - Suceptible mice present higher macrophage activation than resistant mice during infections with myotropic strains of *T.cruzi*. Parasite Immunol.; 11: 385, 1988.
311. RUSSO, M.; TEIXEIRA, H.C.; MARCONDES, M.C.G.; BARBUTO, J. A.M. - Superoxide independent hydrogen peroxide release by activated macrophages. Braz.J.Med.Biol.Res.; 22 : 1271, 1989.
312. SAKAGUCHI, O. & SAKAGUCHI, S. - Activation in lipid metabolism in mice injected with endotoxin. Microbiol. Immunol.; 23: 71, 1979.
313. SANDERSON, C.J.; LOPES, A.F.; BUNN-MORENO, M.M. - Eosinophils and not K cells kill *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. Nature; 26: 340, 1977.
314. SAXON, A.; TSUI, F.; MARTINEZ-MAZA, O. - Jacalin, an IgA - binding lectin, inhibits differentiation of human B cells by both a direct effect and activating T-suppressor cells. Cell Immunol.; 104: 134, 1987.
315. SCALLON, B.J.; SCIGLIANO, E.; FREEDMAN, V.H.; MIEDEL, M.C. PAN, Y.C.E.; UNKELLESE, J.C.; KOCHAN, J.P. - A human immunoglobulin G receptor exists in both polypeptide - anchored and phosphatidyl - inositol - glycan - anchored forms. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 86: 5079, 1989.

316. SCHEURICH, P.; THOMA, B.; UCER, U.; PFIZENMAIER, K. -
Immunoregulatory activity of recombinant human tumour
necrosis factor (TNF- α): induction of TNF receptors on
human T cells and TNF- α mediated enhancement of T cell
responses. J.Immunol.; 138: 1786, 1987.
317. SCHEVACH, E.M. - Accessory molecules. In: PAUL, W.E. ed.-
Fundamental Immunology. New York, Raven Press, 1989 ,
Chapter 15. p. 413.
318. SCHLESINGER, L. & HORWITZ, M.A. - Phagocytosis of leprosy
bacilli by human monocytes is mediated by complement
receptors CR1 and CR3. Clin.Res.; 36: 582 A, 1988.
319. SCHMALSTIEG, F.C.; RUDLOFF, H.E. and ANDERSON, D.C. -
Binding of the adhesive protein complex (LFA-1 / Mac-1/
p. 150, 95) to concanavalin-A. J.Leukoc.Biol.; 39 :
193, 1986.
320. SCHREIBER, R.D.; PACE, J.L.; RUSSEL, S.W.; ALTMAN, A. ;
KATZ, D.H. - Macrophage activating factor produced by
a T cell hybridoma: physicochemical and biosynthetic
resemblance to gamma interferon. J.Immunol.; 131: 283,
1983.
321. SCHWARTZ, A.C. & RUP, D. - Biosynthesis of the human
asialoglycoprotein receptor. J.Biol.Chem.; 258: 11249,
1983.
322. SCUDERI, P.; LAM, K.S.; RYAN, K.J.; PETERSEN, E.; STERLING ,
K.E.; FINLEY, P.R.; RAY, G.C.; SLYMEN, D.J.; SALMON, S.
E. - Raised serum levels of tumour necrosis factor in
parasitic infections. Lancet; 211: 1364, 1986.

323. SEAMAN, W.E.; GINDHART, T.D.; BLACKMAN, M.A.; DALAL, B. ;
TALAL, N.; WURB, Z. - Supression of natural killing
in vitro by monocytes and polymorphonuclear leukocytes.
J.Clin.Invest.; 69: 876, 1982.
324. SHAPIRO, L.H.; DUNGAN, E.S. and NEIDERHÜBER, J.E. -
Monoclonal antibody characterization of a unique
immune response control locus between H-2 S and D.
J.Exp.Med.; 162: 1477, 1985.
325. SHAPPELL, S.B.; FOMAN, C.; ANDERSON, D.C.; TAYLOR, A.A. ;
ENTMAN, M.L.; SMITH, C.W. - Mac-1 (CD11b/CD18) mediates
adherence - dependent hydrogen peroxide production by
human and canine neutrophils. J.Immunol.; 144: 2702 ,
1990.
326. SHARMA, S.D. & RUMINGTON, J.S. - Macrophage activation
and resistance to intracellular infection. Lymphokines;
3: 181, 1981.
327. SHARON, N. & LIS, H. - Lectins as cell recognition mole-
cules. Science; 246: 227, 1989.
328. SHERRY, B. & CERAMI, A. - Cachectin/tumour necrosis factor
exerts endocrine, paracrine and autocrine control of
inflammatory responses. J.Cell Biol.; 107: 1269, 1988.
329. SHIRAKAWA, F.; TANAKAY, Y.; ETO, S.; SUZUKI, H.; YODOI, J.
YAMASHITA, U. - Effect of IL-1 on the expression of
IL-2 receptor (the antigen) on human natural killer
cell and natural killer - like cell line (YT) cells.
J.Immunol.; 137: 551, 1986.
330. SIEFF, C.A. - Hematopoietic growth factors. J.Clin.Invest.
79: 1549, 1987.

331. SILBERSTEIN, D.S. & DAVID, J.R. - Tumour necrosis factor enhances eosinophil toxicity to *Schistosoma mansoni* larvae. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 83: 1055, 1986.
332. SILVERSTEIN, A.M. - A History of Immunology. San Diego , Academic Press, 1989.
333. SILVERSTEIN, S.C.; GREENBERG, S.; DE VIRGILHO, F.; STEIN - BERG, T.H. - Phagocytosis. In: PAUL, W.E. ed. - Fundamental Immunology. New York, Raven Press, 1989, Chapter 25.
334. SIMPSON, P.J.; FANTONE, J.C.; LUCCHESI, B.R. - Myocardial ischemia and reperfusion injury: oxygen radicals and the role of the neutrophil. In: HALLIWELL, B. ed. - Oxygen radicals and tissue injury: proceedings of an Upjohn Symposium. Bethesda, 1988. p. 63.
335. SMETS, L.A. & VAN BEEK, W.P. - Carbohydrates of the tumour cell surface. Biochem.Biophys.Acta.; 738: 237, 1984.
336. SMITH, C.W. & GOLDMAN, A.A. - Macrophages from human colostrum. Exp.Cell Res.; 66: 317, 1971.
337. SNELL, G.D. & STIMPFLING, J.H. - Genetics of tissue transplantation. In: GREEN, E. ed. - Biology of the Laboratory Mouse. New York, Mac Graw-Hill, 1966. p.457.
338. SNYDER, D.S. & UNANUE, E. - Corticosteroids inhibit macrophage Ia expression and interleukin 1 production. J.Immunol.; 129: 1803, 1982.
339. SNYDER, D.S.; BELLER, D.I.; UNANUE, E.R. - Prostaglandins modulate macrophage Ia expression. Nature; 299: 163 , 1982.

340. SNYDERMANN, R.; PIKE, M.C.; BLAYLOCK, B.L. and WEINSTEIN, P. - Effects of neoplasms on inflammation - depression of macrophage accumulation after implantation. J. Immunol.; 116: 585, 1976.
341. SOKOL, S.; WONG, G.G.; MELTON, D.A. - A mouse macrophage factor induces head structures and organize a body axis in xenopus. Science; 249: 561, 1990.
342. SOLBACH, W.; MOLL, H.; ROLLINGHOFF, M. - Lymphocytes play the music but the macrophages cells the tune. Immunol. Today; 12: 4, 1991.
343. SPIEGELBURG, H.L.; BOLTZ-NITULESCU, G.; PLUMMER, J.M. ; MELEWICZ, F.M. - Characterization of The IgE Fc receptors on monocytes and macrophages. Federation Proc.; 42 : 124, 1983.
344. SPRINGER, T.A.; DAVIGNON, D.; HO, M.K.; KURZINGER, K. ; MARTZ, E.; SANCHEZ-MADRID, F. - LFA-1 and lyt-2,3 molecules associated with T lymphocyte - mediated killing; and Mac-1, an LFA-1 homologue associated with complement receptor function. Immunol.Rev.; 68: 171, 1982.
345. SPRINGER, T.A.; GALFRE, G.; SECHER, D.; MILSTEIN, C. - Mac-1: a macrophage differentiation antigen defined by monoclonal antibody. Eur.J. of Immunol.; 9: 301, 1979.
346. SRIMAL, S. & NATHAN, C. - Purification of macrophage deactivation factor. J.Exp.Med.; 171: 1347, 1990.
347. STANTON, T.H. & BOYSE, E.A. - A new serelologically defined locus Qa-1 in Tla - region of mouse. Immunogenetics; 3: 525, 1976.

348. STEEG, P.S.; JOHNSON, H.M.; OPPENHEIM, J.J. - Regulation of murine macrophage Ia - antigen expression by an immune interferon - like lymphokine: inhibitory effect of endotoxins. J.Immunol.; 129: 2402, 1982.
349. STTEG, P.S.; MOORE, R.N.; OPPENHEIM, J.J. - Regulation of murine macrophage Ia - antigen expression by products of activated spleen cells. J.Exp.Med.; 152: 1734, 1980.
350. STEEG, P.S.; MOORE, R.N.; JOHNSON, H.M.; OPPENHEIM, J.J. - Regulation of murine macrophage Ia - antigen expression by lymphokine with immune interferon activity. J.Exp . Med.; 156: 1780, 1982.
351. STEINMAN, R.M.; NOGUEIRA, N.; WITNER, M.D.; TYDING, J.D. ; MELLAMAN, I.S. - Lymphokine enhances the expression and synthesis of Ia - antigens on cultured mouse peritoneal macrophages. J.Exp.Med.; 152: 1248, 1980.
352. STEINMETZ, M.; STEPHAN, D. and LINDAHI, L.F. - Gene organization and recombinational hot spots in murine major histocompatibility complex. Cell; 44: 895, 1986.
353. STRUNK, R.C.; COLE, F.S.; PERMUTTER, D.H.; COLTEN, H.R. - γ interferon increases expression of class III complement genes C2 and factor B in human monocytes and murine fibroblasts transfected with human C2 and factor B genes. J.Biol.Chem.; 260: 15280, 1986.
354. TARLENTON, R.L. - Tumour necrosis factor (cachectin) production during experimental chagas disease. Clin. Exp.Immunol.; 73: 186, 1988.
355. TOH, K.; SATO, N.; KIKUCHI, K. - Effect of concanavalin-A on the cytotoxicity of rat peritoneal macrophages. J. Ret.End.Soc.; 25: 17, 1979.

356. TOWNES, P. & HOLTFRETER, J. - Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells. J.Exp. Zool.; 128: 53, 1955.
357. TOWNSEND, A.R.M.; ROTHBARD, J.; GOTCH, F.M.; BAHADUR, G.; WRAITH, D.; McMICHAEL, A.J. - The epitopes of influenza nucleoprotein recognized by cytotoxic T lymphocytes peptides. Cell; 44: 959, 1986.
358. TSUNAWAK, S.; SPORN, M.; GING, A.; NATHAN, C.F. - Deactivation of macrophages by transforming growth factor- β . Nature; 334: 260, 1988.
359. UHLENBRUCK, G.; KARDUCK, D.; HAUPT, H.; SCHWICK, H.G. - C-reactive protein (CRP), 9,55 α_1 - glycoprotein and Clq: serum protein with lectin properties. Immunitaetsforsch; 155: 262, 1979.
360. UMEKITA, L.F.; TAKEHARA, N.A.; MOTA, I. - Role of the antibody Fc in immuno clearance of Trypanossoma cruzi. Immunology; 17: 85, 1985.
361. UNANUE, E.R. - Macrophages antigen - presenting cells, and the phenomena of antigen handling and presentation. In: PAUL, W.E. ed. - Fundamental Immunology. New York, Raven Press, 1989, Chapter 5. p. 95.
362. UNANUE, E.R. & ALLEN, P.M. - The basis for the Immunomodulatory Role of macrophages and other accessory cells. Science; 236: 551, 1987.
363. UNANUE, E.R. - Antigen - presenting function of macrophage. Ann.Rev.Immunol.; 3: 973, 1984.
364. UNKELESS, J.C.; SCIGLICNO, E.; FREEDMAN, V.H. - Structure and function of human and murine receptor for IgG. Annu.Rev.Immunol.; 6: 251, 1988.

365. UNKELESS, J.C. - Characterization of a monoclonal directed against mouse macrophage and lymphocyte Fc receptors. J.Exp.Med.; 150: 580, 1979.
366. UNKELESS, J.C. - The presence of two Fc receptors on mouse macrophages: evidence from a variant cell line and differential trypsin sensitivity. J.Exp.Med.; 145 : 931, 1977.
367. UNKELESS, J.C. & EISEN, H.N. - Binding of monomeric immunoglobulin to Fc receptors of mouse macrophages. J.Exp.Med.; 142: 1520, 1975.
368. UNKELESS, J.C.; GORDON, S.; REICH, E. - Secretion of plasminogen activator by stimulated macrophages. J.Exp. Med.; 139: 834, 1974.
369. VALEMBOIS, P.; ROCH, P.; LASSEGUES, M. - Antibacterial molecules in annelids. In: BRETELIN, M. ed.- Immunity in Invertebrates. Berlin, Spanger Verlag, 1986. p. 14.
370. Van FURTH, R. - Current view on the mononuclear phagocyte system. Immunobiology; 161: 178, 1982.
371. Van FURTH, R. - Origin and turnover of monocytes and macrophages. Curr.Top.Pathol.; 79: 125, 1988.
372. VIJAYAKUMAR, R.K.; PALANIVEL, V.; MUTHUKKARUPPAN - Influence of carrageenan in peritoneal macrophages. Immunol.Lett.; 23: 55, 1989.
373. VILLEK, J.; PALOMBELLA, V.J.; HENRIKSEN-de-STEFANO, SWENSON, C.; FEINMAN, R.; HIRAI, M.; TSUJIMOTO, M. - Fibroblast growth enhancing activity of tumour necrosis factor and its relation ship to other polypeptide growth factors. J.Exp.Med.; 163: 632, 1986.

374. VIRGIN, H.W.; WITTNBURG, G.F.; UNANUE, E.R. - Immuno - complexes on murine macrophages. I. - Immuno complexes suppress interferon - γ induction of Ia expression. J. Immunol.; 135: 3735, 1985.
375. VOGEL, S.N.; HAVELL, E.A.; SPITALNY, G.L. - Monoclonal antibody - mediated inhibition of interferon gamma induced macrophage antiviral resistance and surface antigen expression. J.Immunol.; 136: 2917, 1986.
376. WAAGE, A.; HALSTENSEN, A. and ESPEVIK, T. - Association between TNF in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. Lancet, (Li): 355, 1987.
377. WAHL, S.M.; MCCARTNEY, F.; HUNT, D.A.; SMITH, P.D.; WAHL, L.M.; KATONA, I.M. - Monocytes IL-2 receptor gene expression and IL-2 augmentation microbicidal activity. J.Immunol.; 139: 1342, 1987.
378. WAHL, S.M. & WAHL, L.M. - Regulation of macrophage collagenase, prostaglandins and fibroblast activating factor production by anti-inflammatory agents: different regulatory mechanisms for tissue injury and repair. Cell Immunol.; 92: 302, 1985.
379. WANG, A.L. & BASCH, R.S. - Concanavalin-A is mitogenic for resident peritoneal macrophages. J.Cell Physiol.; 101: 157, 1979.
380. WARD, P.A.; JOHSON, K.J.; WARREN, J.S. and KUNKEL, R.G. - Immune complexes, oxygen radicals and lung injury. In: HALLIWELL, B. ed. - Oxygen Radicals and Tissue Injury : Proceedings of Brook Lodge Symposium. Bethesda, The Upjohn Company, 1988. p. 107.

381. WARR, G.A. - A macrophage receptor (mannose/glucosamine) : glycoproteins of potential importance in phagocytic activity. Biochem.Biophys.Res.Comm.; 93: 737, 1980.
382. WARREN, M.K. & VOGEL, S.N. - Oppositing effects of glycocorticoids on IFN- γ induced murine macrophages FcR and Ia antigen expression. J.Immunol.; 134: 2462 , 1985.
383. WASSON, D.L.; KRICO, C.J. and DAVID, C.S. - I-E expression and susceptibility to parasite infection. Immunol. Today; 8: 39, 1987.
384. WATSON, B.D. & GINSBERG, M.D. - Mechanisms of lipid peroxidation potentiated by a ischemia. In: HALLIWELL, B. ed. - Oxygen Radicals and Tissue Injury: Proceeding of Brook Lodge Symposium. Bethesda, 1988. p. 81.
385. WEAVER, C.T.; HAWRYLOWICZ, C.M.; UNANUE, E.R. - T helper cell subjects require the expression of distinct cells. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 85: 8181, 1988.
386. WEBB, D.S.A.; SHIMIZU, Y.; VAN SEVENTER, C.A.; SHAW, S. ; GERRARD, T.L. - LFA-3, CD 44 and CD 45 physiologic triggers of human monocyte TNF and IL-1 release. Science 249: 1295, 1990.
387. WEIEL, J.E.; ADAMS, D.O.; HAMILTON, T.A. - Biochemical models of IFN- γ action: altered expression of transferrin receptors on murine peritoneal macrophages after treatment "in vitro" with PMA and AZ3187. J. Immunol.; 314: 293, 1987.

388. WERB, Z. - How the macrophage regulates its extracellular environment. Am.J.Anat.; 166. 237, 1983.
389. WERB, Z.; BANDA, M.J.; TAKEMURA, R.; GORDON, S. - Secreted proteins of resting and activated macrophages. In:WEIR, A. ed. - Handbook of Experimental Immunology. Oxford , Blackwell Sci.Publ., 1986 a. Vol.2, Chapter 47.
390. WERB, Z. & CHIN, J.R. - Apolipoprotein E is synthesized and secreted by resident and thioglycollate - elicited macrophages but not by pyran copolymer or BCG activated macrophage. J.Exp.Med.; 158: 1273, 1983.
391. WERB, Z.; CHIN, J.R.; TAKEMURA, R.; OROPEZA, L.; AINTON , D.F.; TENBERG, P.; TAYLOR, J.M.; REAEDON, C. - The cell and molecular biology of apolipoprotein E synthesis by macrophages. Biochemistry of Macrophage: CIBA Foundation Symposium; 118: 155, 1986 b.
392. WILLEMAN, T.E.; LENNARZ, M.R.; STAHL, P.D. -Identification of the macrophage mannose receptor as a 175 kd membrane protein. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 83: 2501, 1986.
393. WILLEMS, J.; JONIAU, M.; CINQUE, S.; VAN DAMME, J. - Human granulocyte chemotactic peptide (IL-8) as a specific neutrophil degranulation: comparison with other monokines. Immunology; 67: 570, 1989.
394. WIRT, J.I. & KIERSZENBAUM, F. - Recombinant tumour necrosis factor enhances macrophage destruction of Trypanossoma cruzi in the presence of bacterial endotoxin. J.Immunol.; 141: 286, 1988.
395. WONG, W.W. & FEARON, D.T. - Human receptor for C3b/C4b : complement receptor type 1. Methods Enzimol.; 150: 579, 1987.

396. WONG, G.H.W. & GOEDDEL, D.V. - Tumour necrosis factor alpha and beta inhibit virus replication and synergize with interferon. Nature; 323: 819, 1986.
397. WOO, H.J.; SHAW, L.M.; MESSIER, J.M.; MERCURIO, A.M. - the major non - interferon laminin binding protein of macrophages is identical to carbohydrate binding protein 35 (Mac-2). J.Biol.Chem.; 265: 7097, 1990.
398. WRIGHT, S.D.; RAO, P.E.; VAN VOORNIS, W.C.; GRAIGMYLE, L. S.; IIDA, K.; TALLE, M.A.; WUSTBURG, E.F.; GOLDSTEIN, G.; SILVERSTEIN, S.C. - Identification of the C3bi receptor of human monocytes and macrophages by using monoclonal antibodies. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 80 : 5699, 1983.
399. WRIGHT, S.D.; RUDDY, P.A.; JONG, M.T.; ENCUSAR, B.W. -C3bi receptor (CR3) recognizes a region of complement protein C3 containing the sequencis Arg - Gly - Asp. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 84: 1965, 1987.
400. WRIGHT, S.D. & SILVERSTEIN, S.C. - Receptor for C3b and C3bi promote phagocytosis but not the release of toxic oxygen from human monocytes. J.Exp.Med.; 158: 2016 , 1983.
401. WRIGHT, S.D. & SILVERSTEIN, S.C. - Overview: the function of receptor in phagocytosis. In: WEIR, D.M. ed. - Handbook of Exp. Immunology. Oxford, Blackwell Sci.Publ. 1986. Vol.2, Chapter 4.
402. WRIGHT, S.D.; WEITZ, J.I.; HUANG, A.J.; LEVIN, S.M.; SILVERSTEIN, S.C.; LOIKE, J.D. - Complement receptor type three (CR3, CD116/CD18) of human polymorfonuclear leukocytes recognizes fibrinogen. Proc.Natl.Acad.Sci. USA; 85: 7734, 1988.

403. YAMAMOTO, K. & JOHNSTON Jr., R.B. - Dissociation of phagocytosis from stimulation of the oxidative metabolic burst in macrophages. J.Exp.Med.; 159: 405, 1984.
404. YEATON, R.W. - Invertebrate lectins: II. Diversity of specificity, biological synthesis and function in recognition. Dev.Comp.Immunol.; 5: 535, 1981.
405. YOKOTA, S.; GEPPERT, T.D. and LIPSKY, P.E. - Enhancement of antigen and mitogen - induced human T lymphocyte proliferation by tumour necrosis - alpha. J.Immunol. ; 140: 531, 1988.
406. ZACHARCHUK, C.M.; DRYSDALE, B.E.; MAYER, M.M. and SHIN, H. S. - Macrophage - mediated cytotoxicity: role of a soluble macrophage factor similar to lymphotoxin and tumour necrosis factor. Proc.Natl.Acad.Sci.USA; 80 : 6341, 1983.
407. ZALIK, S.J. & MILOS, N.C. - Endogenous lectins and cell adhesion in embrionic cells. In: BROWDER, L.W. ed. - Development Biology: A Compreensive Synthesis. New York Plenum Press, 1986, Chapter 5. p. 145.
408. ZIEGLER, K. & UNANUE, E.R. - Identification of macrophage antigen - processing event required for I region - restricted antigen presentation to T lymphocytes. J.Immunol.; 127: 1860, 1981.
409. ZINKERNAGEL, R.M. & DOHERTY, P.G. - Restriction of invitro T cells mediated cytotoxicity in lymphocytic chorio-meningitis within a singeneic or semi allogeneic system. Nature; 248: 701, 1974.