

Aspectos comparativos da Influência da Temperatura Dinâmica da Interação Antígeno-anticorpo em Vertebrados

Juliana Aparecida Corrêa

Pesquisadora

Prof^a. Dra. Iara Lúcia Laporta Ferreira

Orientadora

Resumo

A temperatura afeta muitos, se não todos, sistemas fisiológicos dos organismos. Entretanto, endotermos-homeotermos mantêm a temperatura de seus corpos em uma faixa restrita, lidando, assim, somente com a manutenção do calor interno. Por outro lado, animais ectotermos-heterotermos necessitam lidar com uma variação da temperatura corpórea ao longo do dia. Dessa forma, seus sistemas evoluíram para mantê-los funcionais, de uma maneira orquestrada, durante as mudanças de temperatura. Neste estudo, nós testamos a hipótese de que a imunidade natural de ectotermos é termo-insensível, permitindo uma resposta adequada sob um amplo regime de temperaturas corpóreas. Nós comparamos a dinâmica da lise de hemácias heterólogas por hemolisinas naturais encontradas no soro de rãs, coelhos e seres humanos, sob diferentes temperaturas (de 20 °C a 39 °C). Fomos, assim, capazes de mostrar que as hemolisinas naturais das rãs são, de fato, termo-insensíveis, enquanto que as dos endotermos testados apresentam efeitos de temperatura, tendo sua taxa de reação diminuída conforme a temperatura cai. Isso reflete uma importante adaptação do sistema imunitário dos animais ectotérmicos.

Palavras-chave: Temperatura. Resposta Imunitária. Ectotermos. Endotermos.

Abstract

Temperature affects many (if not all) physiological systems of living organisms. However, endotherms-homeotherms maintain their body temperature within a narrow range, thus having to deal only with the maintenance of the internal heat. On the other hand, ectothermic-heterothermic animals have to deal with a varying body temperature along the day. Thus, their systems evolved towards keeping them functional in an orchestrated manner while temperature changes. We tested the hypothesis that the natural immune system of ectotherms is thermal insensitive in order to allow an adequate response under a broad range of body temperatures. We compared the dynamics of the lyses of heterologous red blood cells by natural hemolysins found in sera ectotherms (frogs), and endotherms (rabbits and humans) under different temperatures (from 20°C to 39°C). We were able to show that the former is thermal insensitive indeed, while the latter suffer temperature effects, having slower reactions as temperature falls. This reflects the thermal adaptation of the immune system of the ectothermic group.

Key words: Temperature. Immune Response. Ectothermics. Endotherms.

Introdução

Dentre as várias funções realizadas por um organismo para a manutenção de sua integridade, encontram-se aquelas relacionadas à defesa contra agentes infecciosos e/ou infestantes. Em face à constante ameaça de patógenos, os hospedeiros terminaram por elaborar uma série de medidas controladoras e preventivas a fim de reduzir os danos causados pela invasão desses organismos estranhos ao hospedeiro (SHELDON; VERHUSLT, 1996).

Sabe-se que os vertebrados apresentam uma resposta mais específica e especializada, a imunidade adquirida. As características desta especificidade capacitam a distinção de moléculas, levando, assim, a uma resposta particular a vários determinantes antigênicos. A imunidade adquirida reflete a presença de um sistema imunitário funcional, o qual possui quatro importantes características: especificidade, diversidade, memória e reconhecimento do próprio/não-próprio (KUBY, 1998).

Uma resposta imunitária envolve dois eventos: a fase cognitiva (reconhecimento) e a fase efetora (eliminação do agente). As principais células a fazerem parte dessa resposta são os fagócitos (as células polimorfonucleares neutrófilos, eosinófilos, basófilos), as células apresentadoras de antígeno, linfócitos – e linfócitos B (KUBY, 1998).

Numa resposta celular, uma célula T citotóxica reconhece um fragmento peptídico na superfície de uma célula infectada ou alterada. A célula T citotóxica se replica e se diferencia em células de memória e efetoras, chamadas de linfócitos T citotóxicos. Esses linfócitos ativados encarregam-se de matar a célula reconhecida, seja ela uma célula neo-plásica ou uma célula infectada por algum agente estranho (ABBAS et al., 1994; KUBY, 1997).

Numa resposta humoral, linfócitos B ativados se replicam, diferenciando-se em células de memória e efetoras (plasmócitos). Os plasmócitos produzem, então, anticorpos (imunoglobulinas). Quando de um primeiro contato com o antígeno, as imunoglobulinas produzidas não são muito específicas aos determinantes antigênicos do agente. Essa resposta

é chamada de resposta primária. Em um novo contato com o antígeno, são os linfócitos B de maior afinidade que serão ativados. Nesse caso, a resposta é mais rápida e de maior amplitude que a resposta primária, provavelmente devido à mudança de classes de imunoglobulinas, com aumento de especificidade, ocorrida após o contato primário. Isso caracteriza a resposta secundária.

As várias facetas da imunidade adquirida, como especificidade, memória, discriminação de próprio e não-próprio e diversidade estão presentes, aparentemente, em todos os vertebrados (ABBAS et al., 1994; TURNER, 1994). Entretanto, há diferenças entre os grupos de vertebrados quanto à especificidade da resposta.

Um mecanismo de extrema importância, que faz parte da chamada imunidade natural, e o qual se imbrica com a imunidade adquirida, é a ativação do sistema complemento. Este termo é utilizado para designar um grupo de proteínas do plasma e da membrana celular que desempenham um papel fundamental nos processos de defesa do hospedeiro. Este sistema auto-catalítico, uma vez ativado, levar ao rompimento de membranas celulares por meio de uma cascata enzimática (ABBAS, 1994).

Três são as vias conhecidas de ativação do sistema complemento, cujo resultado final é comum: formação do complexo de ataque à membrana, o qual cria inúmeros poros na célula-alvo, causando, assim, a lise dessa. A via clássica é iniciada pela ligação de anticorpos a antígenos de membrana. A via alternativa depende da ligação C3 a componentes da membrana celular. A via da lecitina depende da ligação de um ligante lecitina a manoses. Ambas as vias (clássica e alternativa) procedem por meio de uma atividade seqüencial e reunião de uma série de proteínas, levando à formação de um complexo enzimático. (ABBAS, 1994; SUNYER; LAMBRIS, 1998). Além da lise de membranas, o sistema complemento exerce um papel de extrema importância no processamento de complexos imunes, na indução das repostas imunitárias específicas e, inclusive, na patogênese de algumas doenças.

A importância do sistema complemento varia

amplamente entre as espécies (SUNYER; LAMBRIS, 1998). Vertebrados que não sofreram pressão seletiva forte no sentido do desenvolvimento de respostas estritamente específicas, como peixes, anfíbios e répteis, apresentam uma diversidade maior dos componentes ligados à resposta natural. Ao mesmo tempo, não se pode esquecer que os animais que apresentam maior diversidade dos componentes do complemento são, em essência, aqueles mais sujeitos a variações de sua temperatura corpórea.

Segundo Marchalonis (apud WIDAL; SICARD, 1997), mostrou que a produção de anticorpo é dependente da temperatura na qual os animais ectotérmicos foram mantidos. Tem-se por estabelecido, atualmente, que é possível separar uma resposta imune em eventos discretos em relação à sua dependência térmica. Dados de uma variedade de sistemas sugerem que a iniciação da imunidade é independente da temperatura, mas que as fases efectoras de resposta imunitária requerem uma temperatura mínima para ocorrência (MARCHALONIS, 1977).

Estudos realizados em peixes revelaram que baixas temperaturas corpóreas podem ter um efeito imunossupressivo. Esta conclusão foi obtida por estudos da termosensibilidade da resposta imunitária específica. Efeitos da temperatura na resposta imunitária específica foram estudados por Morvan (apud AVTALION, 1969).

Em experimentos realizados em peixes imunizados com soro de albumina bovina mostrou-se que baixas temperaturas suprimem a resposta. Em contraste, a resposta poderá ser observada mesmo em baixas temperaturas se a memória imunológica houver sido estabelecida em altas temperaturas. Novamente, isso sugere que a temperatura influencia eventos discretos durante a resposta imunitária (MORVAN et al., 1997).

A temperatura é a medida da agitação molecular e influencia a taxa de reações químicas (PROSSER; HEATH, 1991). Para expressar essas alterações ocasionadas pela temperatura do ponto de vista termodinâmico, utiliza-se o coeficiente de sensibilidade térmica Q_{10} . O Q_{10} é o fator pelo qual a velocidade de uma reação é alterada pelo aumento

de 10 °C na temperatura.

$$Q_{10} = \left(\frac{M_2}{M_1} \right)^{\frac{10}{T_2 - T_1}}$$

ou

$$M_2 = M_1 Q_{10}^{\frac{T_2 - T_1}{10}}$$

Onde M_1 e M_2 são as velocidades de uma reação medidas às temperaturas T_1 e T_2 , respectivamente. Se a velocidade duplicar, Q_{10} será 2, se triplicar, será 3, e etc. O Q_{10} não permanece constante para todas as variações de temperatura que um animal pode tolerar, sendo, então, necessário especificar as condições sob as quais as observações foram feitas (PRECHT et al., 1973; PROSSER; HEATH, 1991; WITHERS, 1992; SCHMIDT-NIELSEN, 1996).

Há inúmeras diferenças entre os vertebrados, desde o tamanho corpóreo até a forma de procriação. Entre tais diferenças, destacam-se aquelas relacionadas ao controle da temperatura corpórea e à geração de calor. De uma forma geral, classificam-se os animais em homeotermos/heterotermos, no que tange à estabilidade da temperatura corpórea (T_b), e em endotermos/ectotermos, no que tange à fonte de calor preferencial ou necessariamente utilizada para aquecimento corpóreo. Assim, homeotermos mantêm sua T_b relativamente estável durante longos períodos. O mesmo não ocorre com heterotermos (SCHMIDT-NIELSEN, 1996).

Endotermos têm, como fonte de calor, a energia liberada pelas reações bioquímicas do seu próprio organismo. Já ectotermos necessitam de fontes externas de calor (que terminarão por ser, em última instância, o sol). Geralmente, os vertebrados homeotermos são, também, endotermos (e.g., aves e mamíferos), e os ectotermos, heterotermos (e.g., anfíbios). Entretanto, nada impede que um endotermo seja heterotermo (como no caso de mamíferos hibernantes) ou que um ectotermo possa manter-se em homeotermia (e.g., atuns) (SCHMIDT-NIELSEN, 1996).

Animais ectotermos apresentam, geralmente, um aumento da taxa metabólica com o incremento da

temperatura ambiente que leva a um aumento na temperatura corpórea. Muitos ectotermos quando precisam alterar a temperatura corporal comportam-se de modo a facilitar a absorção de calor do ambiente ou a ajudar ele mesmo a perder calor para o ambiente. Já em animais endotermos, a taxa metabólica decresce com o aumento da temperatura ambiente até chegar a uma faixa de temperatura em que a variação não mais ocorre. Os animais endotermos conseguem regular a temperatura através de calor gerado endogenamente. Portanto, para manter uma temperatura corpórea constante, gasta-se mais energia quanto menor for a temperatura ambiente (RANDALL et al.,2000).

Como dito acima, a mudança na temperatura pode acelerar processos bioquímicos, devido à própria energia cinética aumentada das moléculas. Entretanto, a maioria das reações nos organismos são catalisadas por enzimas, as quais têm "temperaturas ótimas" de atividade (WITHERS, 1992; STRYER, 1995). Portanto, ao mudar-se a temperatura de um organismo, pode-se terminar por comprometer as taxas de reações necessárias a sua sobrevivência. Heterotermos desenvolveram, nesse sentido, enzimas de mesmo substrato, porém levemente diferentes em sua estrutura primária. Com isso, tais enzimas apresentam "ótimas" de temperatura ligeiramente diferentes, o que permite uma manutenção adequada de taxas às diferentes temperaturas que esses animais ficam sujeitos (HOCHACHKA; SOMERO, 1984). Essas enzimas são chamadas de isozimas.

Visto que a resposta humoral em ectotermos tende a ser menos específica que a de endotermos, um ponto importante a ser respondido é se tal diferença se relaciona, de alguma maneira, ao regime térmico marcadamente diferente entre tais animais. Dessa forma, a falta de especificidade poderia refletir uma adaptação a diferentes temperaturas corpóreas que os ectotermos tendem a estar sujeitos. Ou seja, de nada adiantaria a produção de um anticorpo extremamente específico e que, possivelmente, tenha seu ponto de "ótima ligação" com o determinante antigênico a uma dada temperatura, se, no decorrer do dia, o animal estará variando sua temperatura corpórea.

Logo, surge a pergunta de como a variação da temperatura na qual esteja ocorrendo a reação (e.g., ligação de componentes do sistema natural de lise a componentes de estrutura de membrana) afeta a taxa de tal reação. Em outras palavras, estaria tal diversidade nos componentes do sistema complemento ligada, de alguma maneira, ao problema da variação de temperatura corpórea a que ficam expostos aqueles vertebrados?

O presente estudo teve, por objetivos: a) a caracterização da sensibilidade térmica da lise de membranas pelo sistema complemento de ectotermos e endotermos; b) a análise da velocidade da reação de hemólise de hemácias heterólogas, em diversas temperaturas, utilizando-se o soro de rãs, de coelhos e de humanos.

1 Materiais e Métodos

1.1 Animais

Animais experimentais. Foram utilizados anuros (*Rana catesbeiana*), lagomorfos (*Lepus cuniculus*) e humanos.

Os anfíbios foram adquiridos de fornecedor local. Esses animais eram machos, com massa corpórea entre 230 e 380 gramas, sendo mantidos em cativeiro no Biotério de Animais Silvestres do Departamento de Fisiologia IB/USP, em um tanque (210x68x60 cm) todo azulejado, com água corrente 24 horas por dia, e temperatura ambiente controlada. A alimentação foi feita com grilos e baratas vivos, 3 a 4 vezes por semana. Os animais mantiveram a massa corpórea ao longo do período.

Os coelhos foram adquiridos de fornecedor local, 3 machos e 1 fêmea, com massa corpórea média de 3 kg, sendo mantidos em gaiolas individuais (70x70x60 cm³), com água *ad libitum* e alimentados com ração própria, cenouras e vegetais esporadicamente. Ao término dos experimentos, esses animais foram doados a interessados. A massa corpórea foi mantida ao longo do período.

Os humanos doaram sangue conscientemente. A coleta de sangue humano foi realizada após a

assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Foram todas pessoas saudáveis, sem afecções crônicas ou fazendo uso de medicamentos.

1.2 Coletas

Os animais foram submetidos a coletas de sangue, sem uso de anestésico (com exceção de um coelho), através de punção venosa com agulha 13x4 mm (tipo insulina), após prévia assepsia local. A veia punccionada foi a braquial nos seres humanos, a femural superficial nos lagomorfos e a torácica lateral nos anfíbios. A quantidade de sangue obtido variou entre 3 a 5 mL (seres humanos), 2 a 4 mL (lagomorfos), 0,3 a 1,2 mL (anuros).

Após a coleta da amostra, o material foi colocado em tubos para centrífuga (Eppendorff® 1,5 mL) e submetido à 2000rpm durante 3 minutos. O sobrenadante (soro), livre de células vermelhas e de material coagulado, foi transferido para outro tubo (0,6mL) para armazenagem a -20°C , para uso nas próximas 24 horas, ou então mantido ao redor de 3°C para uso imediato.

1.3 Protocolo Piloto

Utilizaram-se placas de poliestireno de 96 poços de fundo chato. A primeira linha da placa era utilizada para controle de lise máxima. Para isso, os poços recebiam triton x-100 (detergente) 75 μL . A segunda linha da placa era utilizada para controle de ausência de hemólise, recebendo 75 μL de tampão fosfato (PBS). As três seguintes linhas eram os testes, recebendo PBS/água destilada nas seguintes quantidades: 50/25 μL ; 25/50 μL ; 0/75 μL . Em todos os poços foram, então, adicionados, 75 μL de hemácias de carneiro, previamente lavadas e preparadas em uma concentração de 5%, completando-se, assim, 150 μL em todos os poços.

1.4 Cinética da Hemólise em Relação à Temperatura

A evolução temporal da hemólise foi obtida a partir da mudança de absorvância de luz na faixa de 540nm

nos poços. Assim, foi utilizado um espectrofotômetro (SpectraMax 250, Molecular Devices Corporation) capaz de fazer leituras a intervalos regulares, mantendo a placa em agitação (para evitar alterações de absorvância devido à decantação das hemácias) e em temperatura controlada previamente designada. O protocolo do espectrofotômetro foi controlado por programa de computador dedicado (SoftMax Pro for Windows, Molecular Devices Corporation), e os dados armazenados digitalmente. A queda na absorvância tem uma relação linear com a quantidade de hemoglobina empacotada em células vermelhas.

1.5 Experimentos

Utilizaram-se placas de poliestireno de 96 poços de fundo chato. As duas primeiras linhas da placa foram utilizadas para controle de lise máxima. Para isso, os poços recebiam triton x-100 (detergente) 25 μL em 75 μL PBS-BSA 10% (albumina bovina sérica). As duas seguintes linhas foram utilizadas para controle de ausência de hemólise, recebendo 100 μL de PBS-BSA 10%. Nos demais poços eram colocados 70 μL de PBS-BSA 10% e 30 μL do soro a ser testado. No minuto precedente ao início do experimento, 25 μL de hemácias de carneiro eram adicionados aos poços, e, então, a placa era colocada no espectrofotômetro para as leituras de cinética. O período total de leitura foi ao redor de duas horas para o soro de anfíbios e uma hora e meia para os endotermos. As temperaturas fixadas para as cinéticas foram 21, 22, 28, 35, 37 e 39°C , e o soro de cada animal foi submetido, ao menos, a 3 temperaturas diferentes, com um intervalo de, ao menos, 7°C entre elas.

2 Resultados

Curvas características da absorvância da cinética hemólise de cada espécie são mostradas nas Figuras 1-3 (1: lagomorfos; 2: humanos; 3: anuros). As dinâmicas de absorvância foram, então, escaladas entre 0 e 1 (início do experimento, correspondendo a ausência de hemólise, e nadir das curvas, indicando o máximo de hemólise obtido).

Análise dos dados: Foi realizado um cálculo de Q_{10} , utilizando-se o valor do tempo para 50% de hemólise nas diferentes temperaturas experimentais.

A partir da média desses tempos, calculou-se a sensibilidade térmica média das reações (Tabelas 1, 2 e 3).

3 Gráficos e Tabelas

Figura 1 – Dinâmica da lise de hemáceas heterólogas em lagomorfos: absorvância em função do tempo. (A) temperatura de teste: 22 °C. (B) temperatura de teste: 37 °C.

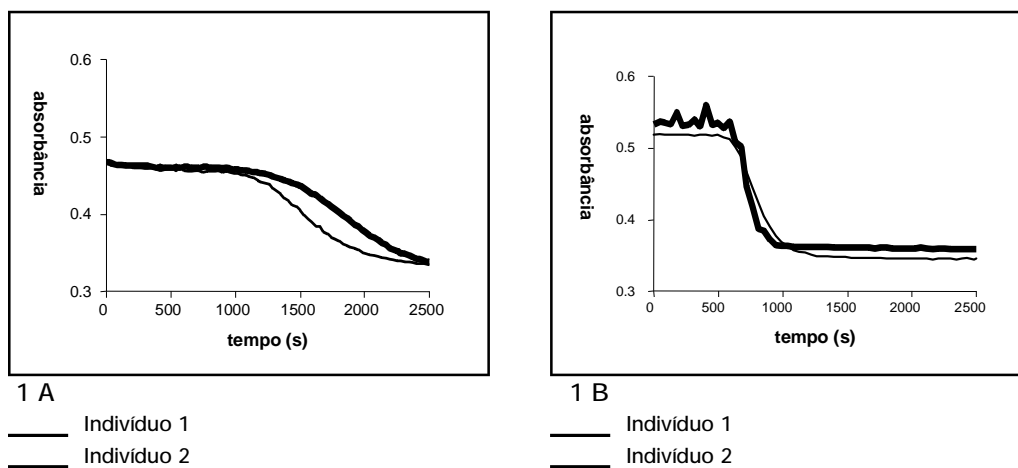


Figura 2 – Dinâmica da lise de hemáceas heterólogas em humanos: absorvância em função do tempo. (A) temperatura de teste: 22 °C. (B) temperatura de teste: 37 °C.

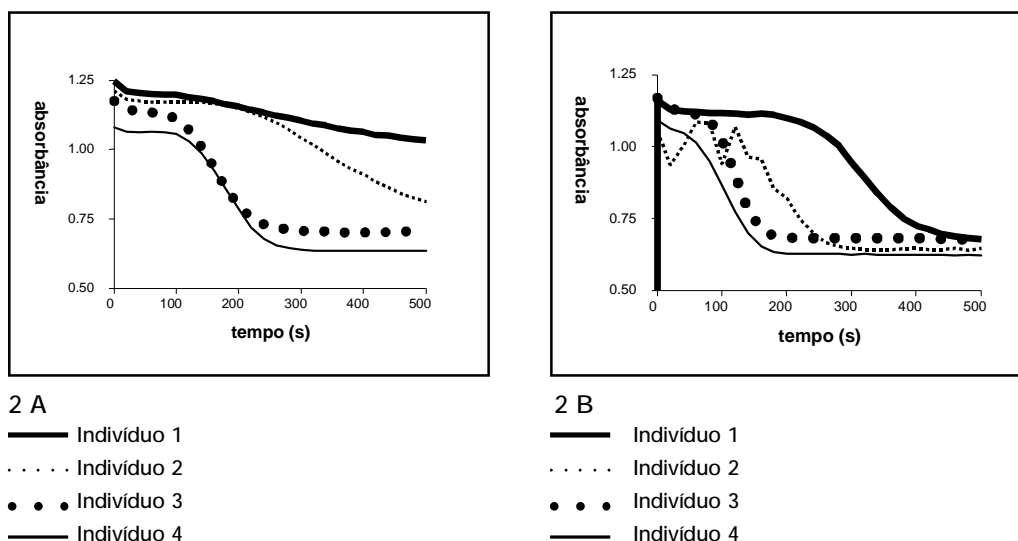
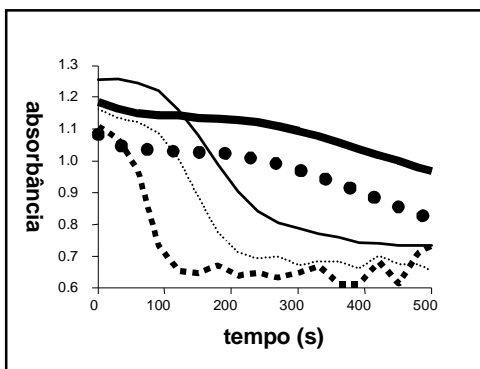
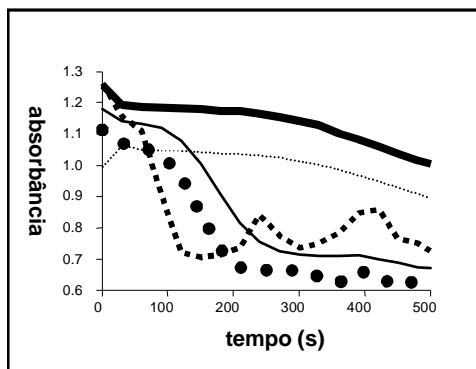


Figura 3 – Dinâmica da lise de hemáceas heterólogas em anuros: absorbância em função do tempo. Note que há um animal não-responder (indivíduo 1) em todas as temperaturas, e um outro (indivíduo 2) que tem o complemento inativado a 35 °C. (A) temperatura de teste: 21 °C. (B) temperatura de teste: 28 °C. (C) temperatura de teste: 35 °C.



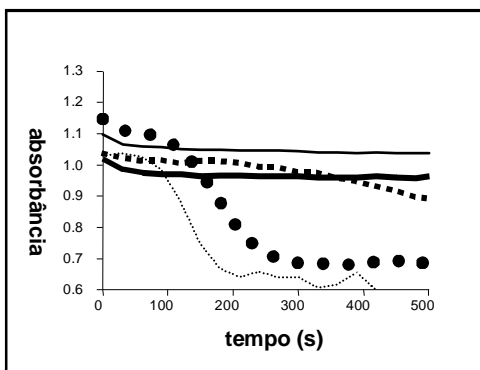
3 A

- Individuo 1
- Individuo 2
- Individuo 3
- · — · Individuo 4
- · · · Individuo 5



3 B

- Individuo 1
- Individuo 2
- Individuo 3
- · — · Individuo 4
- · · · Individuo 5



3 A

- Individuo 1
- Individuo 2
- Individuo 3
- · · · Individuo 4
- · — · Individuo 5

Tabela 1 – Sensibilidade térmica do $t_{50\%}$ em lagomorfos

t50	C22	C37
	1530	790
	1850	720
Q10	1.71	

Tabela 2 – Sensibilidade térmica do $t_{50\%}$ em humanos

t50	H22	H37
	176	105
	160	120
	360	180
	550	320
	310	180
média	311	181
Q10	1.44	

Tabela 3 – Sensibilidade térmica do $t_{50\%}$ em anuros

t50	R21	R28	R35
	75	76	xxx
	467	580	620
145	145	145	
575	550	xxx	
180	175	180	
média	288	305	315
Q10	0.96		

Tempo para 50% de hemólise para cada soro em diferentes temperaturas e a sensibilidade térmica (Q_{10}) média calculada. H = humanos, C=lagomorfos, R=anuros. O valor ao lado das letras H, C e R indicam a temperatura experimental na qual os valores apresentados foram obtidos.

4 Discussão

As variações de temperatura exercem efeitos consideráveis em vários processos fisiológicos. Geralmente, no nível bioquímico, uma elevação de temperatura acelera a maioria dos processos fisiológicos responsáveis pela homeostasia. Entretanto, no nível do organismo, o resultado fisiológico final pode ser amplamente variável, desde uma aceleração da taxa de reação de hemólise medida até, eventualmente, uma diminuição da velocidade do processo fisiológico dos diversos sistemas do organismo (HOCHACHKA, 1991; CHAUI-BERLINCK et al., 2002).

Poucos fatores ambientais têm maior influência sobre a atividade animal do que a temperatura. Os animais cujas temperaturas oscilam com a do ambiente estão expostos a alterações correspondentes na taxa metabólica induzidas pela temperatura, enquanto que aqueles que podem manter a temperatura corporal constante em temperaturas ambientais oscilantes têm de gastar energia metabólica para fazê-lo (RANDALL, 2000). Assim, os animais diferem quanto às faixas de temperatura que podem suportar. Alguns apresentam um intervalo de variação bem restrito, outros, mais amplos (SCHMIDT-NIELSEN, 2002). Os ectotermos

ocupam uma grande variedade de ambientes, tanto frios quanto quentes. Um estudo revelou que anuros anfíbios podem resistir ao congelamento (RANDALL, 2000).

Para esses animais, a sobrevivência requer a manutenção de metabolismo adequado em nível muito baixos de atividade enzimática, características das baixas temperaturas. Já endotermos usam uma variedade de mecanismos fisiológicos e comportamentais para manter a temperatura corpórea dentro de uma faixa estreita, entre os limites de 20°C a 36°C (RANDALL, 2000).

Vários grupos de ectotermos-heterotermos possuem as chamadas isoenzimas (e.g., ver Withers, 1992). As isoenzimas são isoformas de uma determinada enzima que catalisam a mesma reação, mas são codificadas por genes diferentes e possuem diferentes propriedades cinéticas ou regulatórias, cada qual com ligeiras modificações em sua estrutura primária em relação às demais. Dessa maneira, cada uma das isoformas apresenta uma temperatura ótima de ação, permitindo, assim, que o animal transite entre várias temperaturas sem que se comprometam as taxas de suas reações metabólicas. Pela análise feita, percebe-se que há uma insensibilidade térmica dos anfíbios, em relação às duas espécies de endotermos testadas. Assim, esses animais tendem a manter a taxa da reação de hemólise frente a variações de temperatura, ou seja, a temperatura não representa um fator limitante na velocidade da reação. Por outro lado, nos endotermos-homeotermos testados, a taxa da reação sofre influência da temperatura, tornando-se mais lenta quanto mais baixa a temperatura na qual a reação esteja ocorrendo. Desta maneira podemos considerar que a baixa diversidade de resposta em ectotermos resulta funcionalmente, da necessidade de se manter a ação de uma ampla faixa de temperatura. Os resultados aqui obtidos sugerem, fortemente, que exista uma adaptação à variação de temperatura nos anfíbios estudados. Esses animais apresentam uma baixa sensibilidade térmica do sistema natural de lise (Q_{10} médio ao redor de 0,96), resultado esse francamente contrastante com os obtidos para as duas espécies

de endotermos-homeotermos estudadas (Q_{10} médio entre 1,44 e 1,71). Isso significa que os endotermos apresentam, em média, uma diminuição da taxa de hemólise entre 3,7% e 5,5% por cada grau Celsius de mudança na temperatura, enquanto que esse fator é de 0,4% para os ectotermos do estudo.

Os resultados obtidos para os anfíbios são semelhantes a resultados recentemente descritos para peixes (bacalhau, MAGNADITTIR, 2000). Entretanto, em tal estudo, somente o tempo total de hemólise foi apreciado, ao invés da dinâmica como um todo.

A diversidade de componentes do complemento encontrada em ectotermos (ver Introdução) poderia ter, portanto, um papel semelhante ao das isoenzimas, cada qual apresentando uma temperatura ótima de ação. Dessa maneira, preserva-se a capacidade de lise em um amplo gradiente térmico. Além disso, o caráter comparativo com endotermos não teve lugar. Importante relatar, que em todas as temperaturas por nós estudadas, há anfíbios não respondedores. Isso sugere que a via que esteja sendo ativada seja a via clássica, com a participação de anticorpos na ativação do complemento (o que, aliás, é sugerido como regra para esse tipo de experimento). Chega-se a essa conclusão posto que, tanto a via alternativa quanto a da lecitina, estando obrigatoriamente presentes em todos os espécimens, provocariam a lise das hemácias heterólogas de forma indivíduo-independente, o que não ocorreu.

Assim, o Q_{10} observado no organismo é o resultado de uma orquestração para que os diversos componentes do sistema operem de acordo; de nada adianta uma parte do sistema ser fortemente acelerada enquanto outra nada sofre (HOCHACHKA, 1991).

Conclusão

Conclui-se que a baixa diversidade de resposta imune em ectotermos resulta da necessidade de se manter em uma ampla faixa de temperatura. Assim os resultados revelaram que a temperatura, para coelhos e humanos (vertebrados endotermos/

homeotermos), é um fator limitante na velocidade da reação de hemólise, isto é, em temperaturas mais baixas a velocidade da resposta imunitária caracterizada pela hemólise é mais lenta. Já em anfíbios

(vertebrados ectotermos/heterotermos) a temperatura não representa um fator limitante, uma vez que a velocidade de hemólise mostrou-se independente da temperatura.

Notas

O Prof. Dr. José Guilherme Chauí Berlinck colaborou nesta pesquisa na condição de co-orientador.

Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. Cellular and molecular immunology. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994.
- CHAUÍ-BERLINCK, J. G.; MONTEIRO, L. H. A.; NAVAS, C. A.; BICUDO, J. E. P. W. Temperature effects on energy metabolism: a dynamical system analysis. Proceedings Royal Society of London Ser. B *in press*, 2002.
- HOCHACHKA, P.; SOMERO, G. Biochemical Adaptation. Princeton: Princeton University Press, 1984.
- HOCHACHKA, P. W. Temperature: the ectothermy option. In P. W. Hochachka, and T. P. Mommsen (eds.). Biochemistry and molecular ecology of fishes. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1:313-322, 1991.
- KUBY, J. Immunology. 3. ed. New York: WH Freeman and Company, 1998.
- MAGNADOTTIR, B. The spontaneous hemolytic activity of cod serum: heat insensitivity and other characteristics. Fish e Shelf. Immunol,10:731-735, 2000.
- MARCHALONIS, J. J. Immunity in evolution, Londres: Edward Arnold, cap. 14, 1977.
- MORVAN, C. L.; TROUTAUD, D.; DESCHAUX, P. Differential effects of temperature on specific and nonspecific immune defences in fish. The Journal of Experimental Biology, 201:165-168, 1998.
- PRECHT, H.; CHRISTOPHENSEN, J.; HENSEL, H.; LARCHER, W. Temperature and life. Springer-Verlag. Hidelberg. New York, 1973.
- PROSSER, C. L.; HEATH, J.E. Temperature *in* Environmental and Metabolic Animal Physiology – Comparative Animal Physiology. 4. ed. Wiley-Liss: C. L. Editor,1991.
- RANDALL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. Fisiologia animal. Mecanismos e adaptações. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. Fisiologia animal. Adaptação ao meio ambiente. 5. ed. São Paulo: Livraria Santos, 2002.
- SHELDON, B. C.; VERHULST, S. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. Trends in Ecology & Evolution. 11(8): 317-321, 1996.
- STRYER, L. Biochemistry. New York: WH Freeman, 1995.
- SUNYER, J. O.; LAMBRIS, J. D. Evolution and diversity of the complement system of poikilothermic vertebrates. Immunol. Rev. 166:39-57, 1998.
- TURNER, R. J. Immunology: A Comparative Approach. Chinchester: John Wiley e sons, 1994.
- WITHERS, P. C. Comparative Animal Physiology. Orlando: Saunders College Publishing, 1992.

