

# VI SEMANA DO CONHECIMENTO

**UNIVERSIDADE EM TRANSFORMAÇÃO:  
INTEGRALIZANDO SABERES E EXPERIÊNCIAS**

**2 A 6 DE SETEMBRO/2019**



**Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:**

**Resumo**       **Relato de Experiência**       **Relato de Caso**

## **AVALIAÇÃO DA VIA ALTERNATIVA DO SISTEMA DO COMPLEMENTO DE DIFERENTES ESPÉCIES ANIMAIS**

**AUTOR PRINCIPAL:** Rovian Miotto

**CO-AUTORES:** Luana Marina Scheer Erpen, Taline Scalco Piceti, Lucas Soveral, Rafael Frandoloso

**ORIENTADOR:** Luiz Carlos Kreutz

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo- UPF

### **INTRODUÇÃO**

O sistema complemento (SC) é constituído por um conjunto de proteínas inativas que podem estar solúveis no plasma sanguíneo ou presentes na membrana celular. A ativação pela via clássica requer a presença de complexos imunes, porém a via alternativa de ativação ocorre pela deposição espontânea do SC sobre a superfície de um corpo estranho (ORSI et al., 2009). O SC é um dos mecanismos efetores mais importantes da resposta imune inata e responsável pela destruição imediata de inúmeras bactérias, vírus e fungos. Durante a ativação do SC ocorre a liberação de moléculas pró-inflamatórias que atuam sobre vasos sanguíneos e células imunes (FRANK, 1989). Dessa forma, a avaliação da via alternativa do SC se constitui em um bom parâmetro para avaliar a eficácia do sistema imune inato. Nesse estudo, o objetivo foi avaliar a eficácia da via alternativa do SC de diferentes espécies animais em lisar hemácias de coelho e avaliar se há diferença significativa no requerimento de íons divalentes de Mg.

### **DESENVOLVIMENTO:**

O soro sanguíneo de coelho, cobaio, galinha, bovino, ovino, equino, suíno e cabra foram utilizados nesse experimento. O sangue foi coletado em tubos estéreis e após a retração do coágulo o soro foi removido e congelado em aliquotas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso. O sangue de coelho foi coletado em solução de Alsever's e armazenado a  $4^{\circ}\text{C}$  por duas semanas para então usar as hemácias. Para ativação do SC pela via alternativa utilizou-se o tampão APB (alternativa pathway buffer pH 7,4)



# VI SEMANA DO CONHECIMENTO

**UNIVERSIDADE EM TRANSFORMAÇÃO:  
INTEGRALIZANDO SABERES E EXPERIÊNCIAS**

**2 A 6 DE SETEMBRO/2019**



contendo EGTA (5 mM) e MgCl<sub>2</sub> (1 ou 3 mM) para verificar a dependência de MgCl<sub>2</sub> na reação. As hemácias de coelho foram lavadas primeiramente com solução salina contendo 5 mM de EDTA para remover componentes autólogos do SC da superfície das hemácias. Após, as hemácias foram lavadas 3 vezes nos respectivos tampões APB e diluídas até que a densidade optica (DO) de 1.0 a 420 nm (100 ul de hemácias + 900 ul de H<sub>2</sub>O). Após, os soros foram diluídos em microplacas de 96 cavidades, fundo em “U”, nos respectivos tampões (fator 1:2) na diluição de 1:5 até 1:320. Após, à cada diluição do soro, adicionou-se igual volume de hemácias de coelho. Os controles positivos (100% hemólise) foram feitos incubando-se hemácias com água destilada e os controles negativos (0% hemólise) continham hemácias e o respectivo tampão. A placa foi incubada a 37°C durante uma hora, e agitada a cada 10 minutos para evitar que as hemácias se acumulassem no fundo do poço. Após a incubação, as placas foram centrifugadas a 1900 rpm durante 10 min a 4°C, o sobrenadante dos poços foi transferido para uma placa de 96 cavidades, fundo chato, para a realização da leitura por espectrofotometria a 412nm. Após a leitura observou-se que não houve ativação do SC no soro do cavalo e do coelho; e, no soro suíno observou-se ativação somente na diluição de 1:5; no soro da galinha e do ovino, observou-se ativação do SC até a diluição de 1:20, e no soro de cobaio, bovino e cabra ocorreu ativação do SC até a diluição de 1:40. A concentração de MgCl<sub>2</sub> (1 ou 3 mM) não afetou a ativação do SC.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS:**

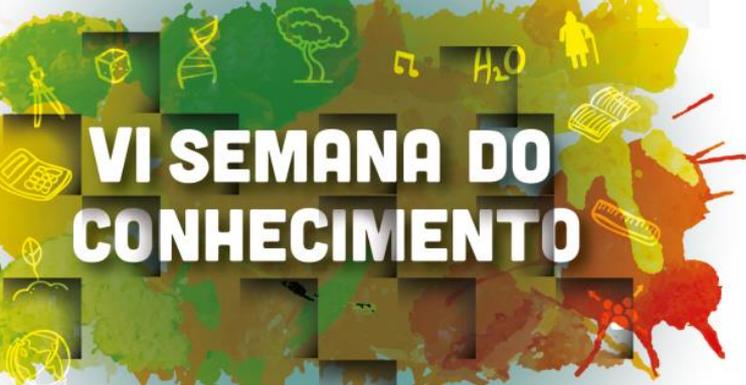
O estudo demonstrou que há diferenças significativas na ativação da via alternativa do SC nas espécies avaliadas e que a ativação não sofreu influência da concentração de íons de MgCl<sub>2</sub>. Os dados indicam ser necessário avaliar outros tampões para verificar a ativação do SC no soro de coelhos e equinos.

## **REFERÊNCIAS**

FRANK M.M. Complement: a brief review. J Allergy Clin Immunol 1989; 84:411-20.  
ORSI, B. S. et al. Sistema complemento – revisão de literatura. Rev Cient Eletr Med Vet, v. 12, p. 1–7, 2009.

**NÚMERO DA APROVAÇÃO CEP OU CEUA (para trabalhos de pesquisa):** CEUA 009/2018.

## **ANEXOS**



# UNIVERSIDADE EM TRANSFORMAÇÃO: INTEGRALIZANDO SABERES E EXPERIÊNCIAS

2 A 6 DE SETEMBRO/2019

