

## OBTENÇÃO E ANÁLISE DE SORO HETERÓLOGO ANTI-RECEPTOR DE LINFÓCITOS T HUMANO PARA ERITRÓCITOS DE CARNEIRO<sup>a</sup>

EIKO N. ITANO<sup>b</sup>  
LUCY VANA KOGAC<sup>c</sup>  
MÁRIO A. ONO<sup>b</sup>  
JAIR TONON<sup>b</sup>  
CLAUDETE S.A. FERREIRA<sup>d</sup>  
MÁRI SUMIGAWA<sup>e</sup>  
HELENA KAMINAMI<sup>c</sup>

ITANO, E.N. et al. Obtenção e análise de soro heterológico anti-receptor de linfócitos T humano para eritrócitos de carneiro. *Semina*, 12(2): 70-75, jun. 1991.

### RESUMO

Neste trabalho foi obtido soro anti-receptor de linfócitos T humano para eritrócitos de carneiro (E) por imunização de carneiro com eritrócitos autólogos sensibilizados com receptores solubilizados de membranas de linfócitos humanos. A análise desse soro anti-receptor solúvel (anti-Rs) demonstrou a capacidade de inibir a formação da rosácea, de identificar linfócitos T por imunofluorescência indireta, de aglutinar complexo E sensibilizado com receptor solúvel, confirmando os dados da literatura. Considerando que esse soro anti-Rs interage com moléculas de peso molecular aproximado de 58 Kd (Rs1) e acima de 150 Kd (Rs2), foi analisado o efeito bloqueador desse soro anti-Rs na interação de Rs1 e Rs2 a E. Adicionalmente IgG anti-Rs foi purificada através de cromatografia de afinidade utilizando coluna de Sepharose Protelna A e analisada em cultura de linfócitos. Essa IgG anti-Rs purificada, nas concentrações de 60 e 120 µg induziu resposta proliferativa de linfócitos humanos normais "in vitro".

**PALAVRAS-CHAVE:** Linfócitos T, Receptor para E, CD2

### 1 - INTRODUÇÃO

Os linfócitos T humanos foram originalmente diferenciados dos linfócitos B e de outras células hematopoiéticas

pela sua propriedade de interagir espontaneamente com eritrócitos de carneiro (E), por intermédio de receptor de membrana (Revisto por Mendes)<sup>(11)</sup>. Com a produção de anticorpos monoclonais, o receptor de membrana de linfócitos T pa-

a - Apoio financeiro CPG/Universidade Estadual de Londrina e CNPq

b - Departamento de Patologia Geral - CCB/Universidade Estadual de Londrina

c - Estagiário do Departamento de Patologia Geral - CCB/Universidade Estadual de Londrina

d - Ex-Docente do Departamento de Patologia Geral - CCB/Universidade Estadual de Londrina

e - Química e Técnica do Departamento de Patologia Geral - CCB/Universidade Estadual de Londrina.

ra E, designado de CD2, foi caracterizado bioquimicamente como um peptídeo de 40 a 58 Kd(1, 13, 20), sendo que a heterogeneidade no peso molecular de CD2 se deve à variação nos ramos laterais de carboidratos(1).

Os receptores para E estão presentes na membrana de linfócitos T humanos e também na forma solúvel, em soros humanos(10, 15), nos solubilizados de membrana de linfócitos por aquecimento de linfócitos à 45°C durante 1 hora(10), no sobrenadante de linfócitos incubados a 37°C por 45 minutos(17) e por tratamento de linfócitos com KCl 3M(16).

Por imunização de carneiros com E autólogos sensibilizados com os receptores solúveis (Rs) presentes em sobrenadante de aquecimento de linfócitos (SAL), foram obtidos anticorpos policlonais específicos para os receptores para E(12). Foi demonstrado que tal soro é capaz de inibir a formação de rosáceas, de ser citotóxico para linfócitos T, de identificar linfócitos T por imunofluorescência indireta e estimular blastogênese de linfócitos em cultura(12) e capaz de interagir com moléculas de P.M. aproximado de 58 Kd (Rs1), portanto similar a CD2 e adicionalmente moléculas de P.M. superior a 150 Kd (Rs2) presente em nível elevado em soros de pacientes com câncer e uremia(6).

O objetivo deste trabalho foi obter soro anti-Rs de acordo com Mendes<sup>12</sup>, com algumas modificações no esquema de imunização, seguida de análise de especificidade desse soro para linfócitos T, verificar efeito inibitório de soro anti-Rs na interação de Rs1 e Rs2 a E, purificar IgG anti-Rs e analisar o efeito dessa IgG em cultura de linfócitos.

## 2 - MATERIAL E MÉTODOS

### 1 - Sobrenadante de aquecimento de linfócitos periféricos (SALp) e de linfócitos de baço (SALb).

O sangue periférico humano normal foi colhido em heparina, inçubado com ferro em pó a 37°C, durante 30 minutos e seguida de centrifugação a 200g, durante 15 minutos. As células de interfase foram centrifugadas em solução de Ficoll-Hypaque (d = 1,076). A nuvem de linfócitos foi colhida e lavada em solução de Hanks e após ajuste para  $1 \times 10^7$  linfócitos/ml, foi aquecida em banho maria a 45°C durante 1 hora, e a seguir centrifugada.

Para obtenção de SALb, os baços obtidos de doadores-cadáver para transplante de rins, foram desprovidos de cápsulas, fragmentados, filtrados e os linfócitos foram obtidos pelo mesmo procedimento acima, seguida de aquecimento.

### 2 - Soro de carneiro anti-receptor solúvel (anti-Rs)

Eritrócitos autólogos de carneiro, 0,5% foram incubados, volume a volume (1,0 ml), com sobrenadante de aquecimento de linfócitos durante 18 horas a 4°C. Após 3 lavagens em solução de Hanks gelada, em centrífuga refrigerada, foram ressuspensos em 0,5 ml de solução de Hanks. Eritrócitos autólogos sensibilizados, juntamente com o adjuvante completo de Freund (V/V), foram inoculados em carneiro, por via subcutânea em vários pontos. A segunda e a terceira inoculação foram realizadas com adjuvante incompleto de Freund, por via subcutânea, com intervalo de 30 dias, e a

sangria de prova realizada 15 dias após a terceira inoculação.

### 3 - Teste de identidade entre anti-Rs obtido na UEL com anti-Rs obtido na EPM.

O teste de identidade foi feito por imunodifusão radial dupla segundo Ouchterlony (Lima, 1970, p. 74), em gel de ágar a 1%.

### 4 - Teste de inibição de formação de rosácea.

O teste de formação de rosácea foi realizado de acordo com Mendes(11). A inibição de rosácea foi realizada com a mistura de diluições em série de soro anti-Rs com  $3 \times 10^6$  linfócitos/ml (V/V). Os linfócitos foram lavados e misturados com suspensão de E, seguindo teste de rosácea, tendo como controle linfócitos incubados com Hanks.

### 5 - Separação de linfócitos B e T

Os linfócitos B foram obtidos por aderência em coluna de nylon e os linfócitos T após a passagem em coluna de nylon foram separados pela técnica de rosácea seguida de centrifugação em Ficoll-Hypaque (d = 1,076) e lise de E com cloreto de amônio. A concentração das suspensões de linfócitos T e B foi ajustada para  $1 \times 10^6$  céls/ml.

### 6 - Reação de Imunofluorescência indireta.

Foram incubados linfócitos ( $1 \times 10^5$  células) com soro anti-Rs nas diluições de 1/10, 1/50, 1/100 e 1/200 e com PBS (controle), a 4°C durante 30 minutos. Após lavagens com PBS gelado foi adicionado conjugado IgG de coelho anti-IgG de carneiro marcado com fluoresceína, (1/20), produzido no laboratório. Após lavagens em PBS gelado, as células foram tratadas com formol a 4% em PBS e analisadas em microscopia para imunofluorescência (Nikon).

### 7 - Aglutinação de complexo hemácia de carneiro formolado-receptor solúvel.

Suspensão de hemácias formoladas (0,3%) foi tratada com diluições de sobrenadante de aquecimento de linfócitos. O complexo E formolado-receptor solúvel (EF-Rs) foi lavado em hanks e ressuspensos em solução de hanks contendo 1% de soro normal de carneiro. A esse complexo EF-Rs a 0,3% foram adicionadas diluições em série de soro anti-Rs (1/8 a 1/128) durante 6 horas à temperatura ambiente, em microplacas e a seguir observado em microscópio. Como controles EF e EF sensibilizadas foram tratados com PBS.

### 8 - Cromatografia em coluna de Sephadex G-200.

As amostras de 3 ml, foram aplicadas em coluna de Sephadex G-200 (60 x 20 cm) equilibrado com tampão tris-NaCl 0,15 M, pH 8,0. As frações obtidas foram analisadas por gel precipitação (Ouchterlony) com soro anti-Rs.

### 9 - Inibição de interação de E com receptores solúveis pelo soro anti-Rs.

Inicialmente E foi fixado em microplacas de fundo chato de acordo com Cobbold & Waldmann(4), com algumas modificações. Após tratamento de E com PBS, contendo 2% de

amostra marcada com  $^{131}$ , pelo método de cloramina T<sup>(3)</sup>, mais 20  $\mu$ l de solução de hanks ou 20  $\mu$ l de amostra marcada mais 20  $\mu$ l de soro anti-Rs. Após incubação a 4°C durante 4 horas, cada orifício foi lavado duas vezes com solução PBS contendo 0,2% de SHN absorvido com E. Após retirada de PBS, foram pipetados 100  $\mu$ l de tritom X100 e o eluato contendo receptor macado foi lido em cintilador gama (Logic).

#### 10 - Purificação de IgG anti-Rs.

O soro anti-Rs foi passado em coluna de Sepharose protefina A (5,0 x 1,5 cm), seguida de várias lavagens com PBS. A fração IgG foi eluída com tampão glicina pH 2,8 e o seu pH corrigido imediatamente com tampão tris HCl, 1M, pH 8,5. Após diálise contra 1000 ml de PBS, a 4°C, overnight, foi realizada a dosagem de protefina pelo método de Folin.

#### 11 - Cultura de linfócitos.

A cem microlitros de linfócitos ( $1 \times 10^5$  cêlts) foi adicionado IgG anti-Rs (0,15  $\mu$ g; 0,75  $\mu$ g; 15  $\mu$ g; 30  $\mu$ g; 60  $\mu$ g e 120  $\mu$ g) e controles com RPMI ou PHA (4  $\mu$ l de PHA Cultilab diluído 1:250) foram incubados em meio RPMI (contendo penicilina, estreptomicina, hepes, soro bovino fetal) a 37°C, durante 72 horas, com 5% de tensão de CO<sub>2</sub>, em placas escavadas. Oito horas antes de esgotar o tempo de incubação foi adicionado timidina tritiada. Após a cultura, as células foram coletadas semi-automaticamente em papel de filtro, e após adição de líquido de cintilação, analisadas em Cintilador Beckman LS 6,800 USA.

### 3 - RESULTADOS

#### 1 - Teste de identidade entre soro anti-Rs obtido nesse trabalho com soro anti-Rs obtido na Escola Paulista de Medicina (EPM).

O soro de carneiro anti-Rs obtido de acordo com Mendes<sup>(12)</sup>, com algumas modificações, quando analisado com sobrenadante de aquecimento de linfócitos, por imunodifusão (Ouchterlony), demonstrou identidade total com o soro anti-Rs de referência, da EPM (Fig. 1).

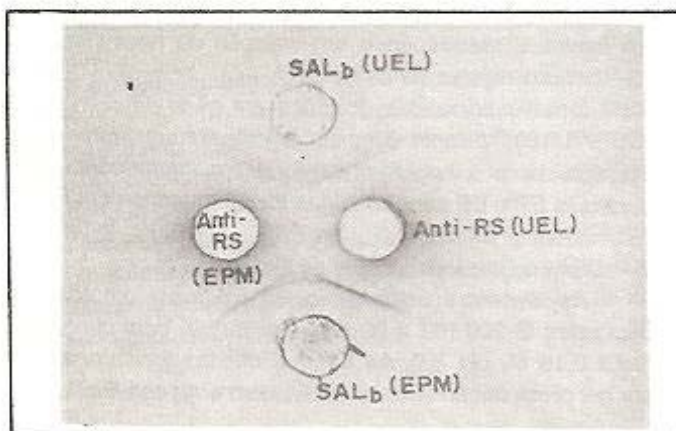


Fig. 1 - Teste de identidade por imunodifusão (Ouchterlony) entre soro de carneiro anti-receptor solúvel para E, obtido na Escola Paulista de Medicina (EPM), e soro de carneiro anti-receptor solúvel para E, obtido nesse trabalho (UEL), utilizando, como antígeno, sobrenadante de aquecimento de linfócitos de baço, obtidos na EPM e UEL. Anti-Rs = Soro de carneiro anti-receptor solúvel para E.

#### 2 - Teste de inibição de rosácea

Os resultados de inibição de rosácea com diluições em série de soro anti-Rs, demonstraram a aglutinação de linfócitos nas diluições de 1/2 até 1/8, impossibilitando a contagem de rosáceas. Nas diluições de 1/16, 1/32 e 1/64 foram observadas 59,9%, 55% e 32,8% de inibição de rosácea, respectivamente.

#### 3 - Aglutinação de complexo E sensibilizado com receptor solúvel.

Foi observada aglutinação de hemácias formoladas sensibilizadas com Rs pelo soro anti-Rs até a diluição de 1/64.

Os controles de EF tratados com PBS foram negativos e EF não sensibilizados demonstraram aglutinação inespecífica com soro anti-Rs até a diluição de 1/8.

#### 4 - Teste de imunofluorescência.

O soro anti-Rs reagiu positivamente por imunofluorescência até a diluição de 1/100 com os linfócitos T e até 1/10 com os linfócitos B.

#### 5 - Cromatografia de SAL e soros de pacientes com câncer em coluna de Sephadex G-200.

Foram obtidas duas frações que interagem com o soro anti-Rs: Rs2 de PM acima de 150 Kd e Rs1 na fração de albumina (= 58 Kd determinado por SDS-PAGE)<sup>6</sup>, em amostras de SAL e soros de pacientes com câncer. Em saliva humana foi detectada apenas a fração de Rs1, (Fig. 2).

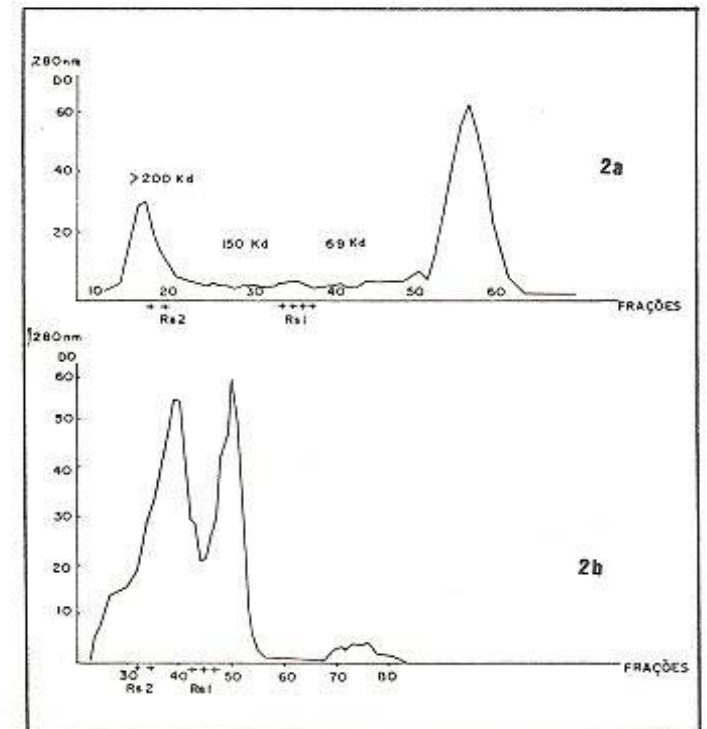


Fig. 2 - Perfil espectrofotométrico a 280 nm das frações obtidas por cromatografia em Sephadex G-200 de: sobrenadante de aquecimento de linfócitos de baço humano 10x concentrado (2a) e "pool" de soros de pacientes com câncer (2b). As frações de 2,5 ml coletadas foram analisadas por precipitação em gel de ágar (Ouchterlony) utilizando soro de carneiro anti-receptor solúvel de linfócito T para E e as frações positivas estão assinaladas com Rs1 e Rs2 (2a, 2b).

#### 6 - Inibição de interação de E com Rs.

Os resultados obtidos em cpm (quadruplicatas) de eluatos de E sensibilizados com fração Rs1 de SAL e soro humano e com Rs2 de SAL e soro, juntamente com os controles incubados com soro anti-Rs, estão demonstrados na Figura 2.

#### 7 - Efeito de IgG anti-Rs na resposta linfoproliferativa.

Os resultados obtidos em cpm de culturas de linfócitos humanos normais incubados com diferentes concentrações de IgG anti-Rs foram:  $5.914,5 \pm 934,5$  ( $120 \mu\text{g}$ ),  $2.117 \pm 654,3$  ( $60 \mu\text{g}$ ),  $1.238 \pm 39,4$  ( $30 \mu\text{g}$ ),  $713,5 \pm 74,5$  ( $15 \mu\text{g}$ ),  $520 \pm 40,4$  ( $7,5 \mu\text{g}$ ),  $440 \pm 62,2$  ( $0,15 \mu\text{g}$ ),  $583 \pm 87,5$  (controle com RPMI) e  $4.101 \pm 1.146$  (controle com PHA).

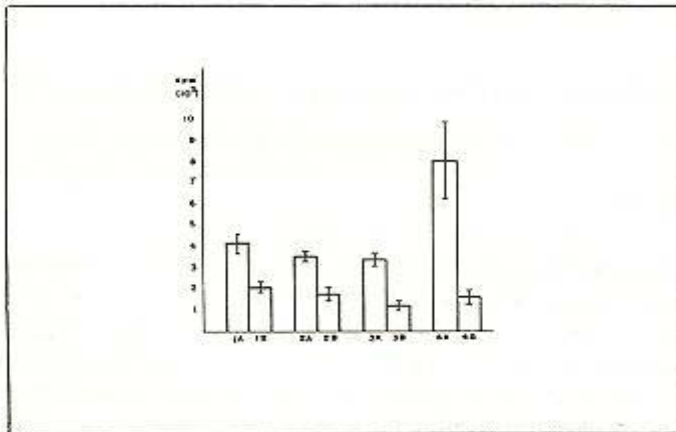


Fig. 3 - Resultado em cpm de amostras de frações, obtidas pela cromatografia em coluna de Sephadex G-200, marcadas com  $^{131}\text{I}$ , ligadas a E (A) e o bloqueio das ligações com soro anti-Rs (B), das seguintes amostras em quadruplicata.

- 1 - Rs2 de soro de pacientes com câncer (SPC)
- 2 - Rs1 de SPC
- 3 - Rs1 de sobrenadante de aquecimento de linfócitos do baço (SALb)
- 4 - Rs2 de SALb

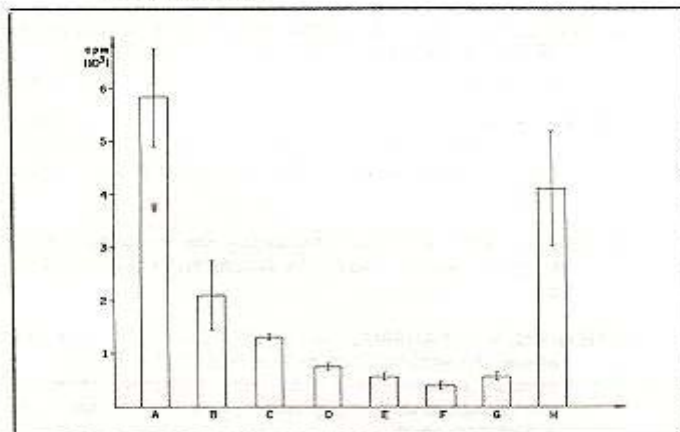


Fig. 4 - Efeito de IgG anti-Rs na resposta linfoproliferativa. Os resultados obtidos em cpm de cultura de linfócitos humanos normais incubados com diferentes concentrações de IgG anti-Rs foram:

- A -  $120 \mu\text{g}$  de IgG anti-Rs ( $5.914,5$ )
- B -  $60 \mu\text{g}$  de IgG anti-Rs ( $2.117$ )
- C -  $30 \mu\text{g}$  de IgG anti-Rs ( $1.238$ )
- D -  $15 \mu\text{g}$  de IgG anti-Rs ( $713,5$ )
- E -  $7,5 \mu\text{g}$  de IgG anti-Rs ( $520$ )
- F -  $0,15 \mu\text{g}$  de IgG anti-Rs ( $440$ )
- G - Controle com RPMI ( $583$ )
- H - Controle com PHA ( $4.101$ )

## 4 - DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi obtido soro heterólogo anti-receptor solúvel para E (anti-Rs), por imunização de carneiro com E autólogo sensibilizado com receptor solúvel (Rs). Esse soro anti-Rs demonstrou identidade total por imunodifusão (Ouchterlony) com soro anti-Rs obtido por Mendes<sup>(12)</sup>, quando analisado com sobrenadante de aquecimento de linfócitos, demonstrando reconhecimento dos mesmos determinantes antigênicos reconhecidos por soro anti-Rs de Mendes<sup>(12)</sup>. A análise desse soro, demonstrou capacidade de inibir a formação de rosáceas-E, de identificar linfócitos T por imunofluorescência indireta e aglutinar complexo de hemácia de carneiro formolada-receptor solúvel, confirmando os dados de Mendes<sup>(12)</sup>. Outro dado que reforça a especificidade desses anticorpos policlonais para receptores solúveis é a sua ação inibitória na interação de receptores solúveis a eritrócitos de carneiro.

O nosso anti-Rs demonstrou imunofluorescência de população enriquecida de linfócitos B, porém essa imunofluorescência foi observada somente até a diluição 1/10. Esse resultado não pode ser explicado pela contaminação por linfócitos T, pois foi verificada fluorescência em mais de 10% dos linfócitos. Possivelmente os nossos anticorpos policlonais, em concentrações mais altas, reagem cruzadamente com linfócitos B.

A estrutura CD2 de superfície de linfócito T humano, de peso molecular aproximada de  $58 \text{ Kd}$ <sup>(1)</sup>, detectada por diversos anticorpos monoclonais, foi, inicialmente, considerada como sendo receptor para E ou antígeno estreitamente relacionado ao receptor, pelo fato desses anticorpos serem capazes de bloquear a formação de rosáceas e de reagir com linfócitos T. Além disso, Kamoun et al<sup>(8)</sup> demonstraram movimento simultâneo de antígeno CD2 e receptor para E, quando o linfócito era tratado com anticorpo monoclonal anti-CD2 (anti-9.6). Com purificação do CD2, foi obtido cDNA para CD2 e através de transferência desses cDNA para células COS, verificou-se que as mesmas, expressando cDNA, apresentavam a capacidade de se ligarem a E<sup>(18)</sup>. Da mesma forma a demonstração da ligação CD2 purificada ao E<sup>(19)</sup>, comprova que o antígeno CD2 é a estrutura de ligação de linfócito T a E.

Provavelmente os nossos anticorpos policlonais reconhecem a mesma estrutura de CD2, pois verificamos que os mesmos reconhecem moléculas de peso molecular aproximado de  $58 \text{ Kd}$  (Rs1) portanto de PM similar ao CD2<sup>(15)</sup> com a capacidade de interagir com E<sup>(7)</sup>. Além disso, tem sido descrito um aumento no nível de Rs<sup>(14)</sup>, bem como de CD2<sup>(15)</sup> em soros de pacientes com câncer.

Além de moléculas de  $58 \text{ Kd}$ , esses anticorpos policlonais (anti-Rs) reconhecem moléculas de peso molecular superior a  $150 \text{ Kd}$  (Rs2) em preparações ou soros humanos previamente concentrados<sup>(6)</sup>. A não detecção dessa molécula de alto peso molecular por outros autores pode ser explicado por sua baixa concentração em preparações ou soros normais e também, possivelmente se deve ao reconhecimento restrito de anticorpo monoclonal a um dado epitopo, enquanto o sistema de reconhecimento policlonal é mais amplo.

Foi demonstrado por Mendes<sup>(12)</sup> que soro de carneiro anti-Rs é capaz de induzir a proliferação de linfócitos em cultura, o mesmo não ocorrendo com soro normal de carneiro. Da mesma forma foi observado que as associações de anticorpos monoclonais a CD2, dirigidos aos epitopos T11-2 e T11.3<sup>(13)</sup>, D66 e 9.6/T11.1<sup>(2)</sup> ou GT2 e 9.6/T11.1<sup>(5)</sup> ativam linfócitos em cultura.

Para eliminar a participação de fatores presentes no soro de carneiro na estimulação de linfócitos e para determinar a dose ideal de anticorpo policlonal na estimulação de linfócitos, foi inicialmente realizada purificação de IgG anti-Rs por cromatografia de afinidade, utilizando coluna de Sepharose-proteína A. A IgG anti-Rs purificada em diferentes con-

centrações foram introduzidas em cultura de linfócitos, e os resultados obtidos demonstraram intensa proliferação nas concentrações de 60 e 120 µg. Esses resultados são importantes para futuros estudos de ação de IgG anti-Rs, envolvendo também os receptores solúveis de pesos moleculares distintos na proliferação de linfócitos humanos normais e em doenças associadas com a depressão da resposta imune celular.

#### AGRADECIMENTOS

Ao Hospital Veterinário da UEL pelos cuidados com os carneiros imunizados e ao Dr. Rubens Pontello à responsabilidade pelos materiais radioativos.

ITANO, E.N. et al. Obtention and analysis of heterologous anti-human T lymphocyte receptors for sheep erythrocytes serum. *Semina*, 12(2): 70-75, jun. 1991.

#### ABSTRACT

*Anti-human T lymphocyte serum specific to the receptor for sheep erythrocytes (E) was produced by immunizing sheep with autologous erythrocytes sensitized with solubilized receptors from human lymphocytes. The anti-soluble receptors serum (anti-Rs) inhibited E-Rosette formation, identified T lymphocytes by indirect immunofluorescence, agglutinated the formalized E-soluble receptors complexes, and inhibited the E-soluble receptors interaction. This anti-Rs serum was also submitted to the affinity chromatography by protein A sepharose, and the amounts of 0,15 to 120 µg of purified anti-Rs IgG were added to the lymphocyte culture. The result obtained showed an induction of proliferative response of the normal human lymphocytes in the presence of 60 and 120 µg of anti-Rs IgG.*

**KEY-WORDS:** T lymphocyte; SRBC receptor; CD2

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BROWN, M.H.; KRISAN SEN, G.W.; TOTTY, N.F. et al Purification and N-terminal amino acid sequence of the human T lymphocyte CD2 (TII) surface antigen. *Eur. J. Immunol.*, v. 17, p. 15-20, 1987.
- BROTTIER, P.; BOUMSELL, L.; GÉLIN, C. et al T cell activation via CD2 (T, gp 50) molecules: accessory cells are required to trigger t cell activation via CD2-D66 plus CD2-9.6/TII<sub>1</sub> epitopes. *J. Immunol.*, v. 135, n. 3, p. 1624-1631, 1985.
- CAMARGO, E.P.; BARBIERI, C.L.; JANKEVICIUS, J.V. Possible artifacts in the radiolodination of surface proteins of trypanosomatids. *J. Immunol. Methods.*, v. 52, p. 245-253, 1982.
- COBBOLD, S.P. & WALDMANN, H. A rapid solid-phase enzyme-linked binding assay for screening monoclonal antibodies to cell surface antigens. *J. Immunol. Methods.*, v. 44, p. 125-133, 1981.
- HUET, S.; WAKASUGI, H.; STERKERS, G. et al T cell activation via CD2 (T, gp 50): the role of accessory cells in activating resting T cells via CD2. *J. Immunol.*, v. 137, n. 5, p. 1420-1428, 1986.
- ITANO, E.N.; ONO, M.A.; SUMIGAWA, M. et al Molecular forms of soluble human T lymphocyte receptors for sheep erythrocytes in serum and saliva. *J. Clin. Lab. Anal.*, v. 5, n. 2, p. 114-120, 1981.
- ITANO, E.N.; ONO, M.A.; SUMIGAWA, M. et al Purification of soluble human T lymphocyte receptors for sheep erythrocytes. *J. Clin. Lab. Anal.*, v. 5, n. 2, p. 162-167, 1991.
- KAMOUN, M.; MARTINS, P.J.; HANSEN, J.A. et al Identification of a human T lymphocyte surface protein associated with the E-rosette receptor. *J. Exp. Med.*, v. 153, p. 207-212, 1981.
- LIMA, A.; SILVA, W.D. da. *Imunologia, Imunopatologia, Alergia: Métodos Oliveira*. São Paulo: Guanabara Koogan, 1970. p. 74.
- MENDES, N.F.; SARAIVA, P.J.; SANTOS, O.B.O. Restorative effect of normal human serum, transfer factor and thymosin on the ability of heated human lymphocytes to form rosettes with sheep erythrocytes. *Cell. Immunol.*, v. 17, p. 560-566, 1975.
- MENDES, N.F. Immunological identification of human lymphoid cell populations. *Lymphology*, v. 10, p. 85-93, 1975.
- MENDES, N.F.; BERND, L.A.G.; CINTRA, H.H.A. et al Human T lymphocyte receptor for sheep erythrocytes: characterization of a specific antiserum and its application the detection and quantitation of the receptor in a soluble form. *Cell. Immunol.* v. 72, p. 143-150, 1982.

13. MEUER, S.C.; HUSSEY, R.E.; FABBI, M.; FOX, D. et al. An alternative pathway of T cell activation: a functional role for the 50 Kd T11 sheep erythrocyte receptor protein. *Cell*, v. 36, p. 897-906, 1984.
14. MOURA, N.C.; LONGO, I.M.; BERND, L.A.G. et al. Quantitation of the soluble receptor of human T lymphocytes for sheep erythrocytes by electroimmunodiffusion in the serum of patients with cancer, uremia and leprosy. *Experientia*, v. 39, n. 3, p. 306-308, 1983.
15. OH, S.K.; LAPENSON, D.; MORGAN Jr., A.C. Quantification of soluble E-receptor in the serum of patients with various diseases and its accompanying in vitro immunosuppression in neoplasia. *Scand. J. Immunol.*, v. 22, p. 51-60, 1985.
16. PYKE, K.W.; RAWLINGS, G.A.; GELFAND, E.W. Isolation and characterization of the sheep erythrocyte receptor in man. *J. Immunol.*, v. 115, n. 1, p. 211-215, 1975.
17. SÁRMAY, G.; ISTVAN, L.; GERGELY, J. Shedding and reappearance of Fc, C3 and SRBC receptors on peripheral lymphocytes from normal donors and chronic lymphatic leukaemia (CLL) patients. *Immunology*, v. 34, p. 315-321, 1978.
18. SAYRE, H.; CHANG, H.C.; HUSSEY, R.E. et al. Molecular cloning and expression of T11 cDBAs reveal a receptor-like structure on human T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 84, n. 9, p. 2941-2945, 1987.
19. SELVARAJ, P.; DUSTIN, M.L.; MITNACHT, R. et al. Rosetting of human T lymphocytes with sheep and human erythrocytes. *J. Immunol.*, v. 138, n. 8, p. 2690-2695, 1987.
20. VERBI, W.; GREAVES, M.F.; SCHNEIDER, C. et al. Monoclonal antibodies OKT11 and OKT11A have pan-T reactivity and block sheep erythrocyte "receptors". *Eur. J. Immunol.*, v. 12, p. 81-86, 1982.

Recebido para publicação em 19/4/91