

# Titulação de anticorpos anti-gangliosídeos no soro de pacientes com lesão medular crônica e precedendo tratamento com gangliosídeo GM1

*Titration of serum anti-ganglioside antibodies in patients with chronic medular injury previous to treatment with GM1 ganglioside*

TARCÍSIO ELOY PESSOA BARROS FILHO<sup>1</sup>, CIRO DA SILVA FILHO<sup>2</sup>

## RESUMO

Soro de 150 pacientes com lesão medular completa com 6 a 12 meses de duração foi analisado para titulação de anticorpos anti-gangliosídeos pelo método ELISA (IgG monosialo GM1, IgM monosialo GM1, IgG asialo GM1, IgM asialo GM1, IgG disialo GD1b e IgM disialo GD1b). Somente 4 pacientes apresentaram títulos elevados de anticorpos contra asialo GM1 (IgM). Os demais apresentaram níveis de anticorpos abaixo dos valores de referência e foram todos tratados com GM1 na dose de 100 mg por dia *i.m.* Todos os pacientes foram acompanhados clinicamente durante e após o tratamento com GM1. Não foram observados efeitos adversos importantes com a medicação. O tratamento de pacientes lesados medulares crônicos com o gangliosídeo GM1 mostrou-se seguro, nos pontos sem positividade sorológica para anticorpos anti-GM1.

**Descritores:** Gangliosídeos; Anticorpos; Traumatismos da medula espinhal.

## INTRODUÇÃO

Resultados positivos foram relatados com a utilização do gangliosídeo GM1 no tratamento de pacientes com lesão medular aguda e crônica<sup>(1,3,4,13)</sup>. Em nenhum desses estudos, no entanto, foi descrito o perfil de anticorpos anti-gangliosídeos no soro dos pacientes avaliados. O objetivo do presente trabalho foi determinar o perfil de anticorpos anti-gangliosídeos em pacientes com lesão raquimedular crônica precedendo o tratamento com GM1, observando a ocorrência de possíveis efeitos colaterais importantes durante e após a terapia com GM1.

## SUMMARY

*Anti-ganglioside serum titers were evaluated by ELISA in 150 patients with complete spinal cord lesion for 6 to 12 months (IgG monosialo GM1, IgM monosialo GM1, IgG asialo GM1, IgM asialo GM1, IgG disialo GD1b e IgM disialo GD1b) prior to treatment with GM1 100 mg/day i.m. Only 4 patients showed positive titers for anti-asialo-GM1 (IgM) antibodies. All patients were clinically examined during and after treatment. No important side effects were observed with GM1 therapy. These results suggest that GM1-ganglioside administration in patients with chronic spinal cord injury is safe.*

**Key words:** Gangliosides; Antibodies; Spinal cord injuries

## INTRODUCTION

*Positive results were reported with the use of GM1 ganglioside in the treatment of patients with both acute and chronic medullary injury<sup>(1,3,4,13)</sup>. However, none of these studies described the anti-ganglioside antibody profile in the serums of the patients evaluated. The purpose of this study is to determine the anti-ganglioside antibody profile in patients with chronic rachimedullary injury previous to treatment with GM1, and observe the occurrence of possible important side effects during and after the therapy with GM1.*

Trabalho realizado no Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - São Paulo - SP

1- Professor Associado  
2- Professor Titular, Departamento de Histologia e Embriologia, Instituto de Ciências Biomédicas da USP - ICBUSP

Endereço para correspondência: Rua Dr. Ovidio Pires de Campos, 333 - 3º andar Cerqueira Cesar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP

Work performed at the Departamento de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - São Paulo - SP

1- Associate Professor  
2- Full Professor, Department of Histology and Embryology - Institute of Biomedical Science - USP - ICBUSP

Address: Rua Dr. Ovidio Pires de Campos, 333 - 3º andar Cerqueira Cesar - CEP 05403-010 - São Paulo - SP

## MATERIAL E MÉTODOS

Cento e cinquenta pacientes (120 homens e 30 mulheres), com idade entre 18 e 50 anos, foram incluídos no estudo. Todos foram diagnosticados com lesão medular completa com 6 a 12 meses de duração. Antes do início do tratamento com gangliosídeo GM1 (100mg/dia, *i.m.*) por 30 dias, foi colhida amostra de sangue e enviada à Clínica Mayo (EUA) para a dosagem dos títulos de anticorpos anti-gangliosídeos pelo método ELISA.

Os valores de referência adotados foram:

- IgG monosialo GM1: inferior a 1/500
- IgM monosialo GM1: inferior a 1/1000
- IgG asialo GM1: inferior a 1/4000
- IgM asialo GM1: inferior a 1/4000
- IgG disialo GD1b: inferior a 1/1000
- IgM disialo GD1b: inferior a 1/1000

Os pacientes com sorologia negativa completaram a terapia com GM1 e foram acompanhados com avaliações clínicas periódicas durante e após o tratamento com segmento mínimo de 1 ano.

## RESULTADOS

Dos 150 pacientes avaliados, somente 4 (3 homens e 1 mulher) apresentaram títulos de anticorpos anti-gangliosídeos superiores aos valores de referência, com positividade para IgM asialo GM1 (título superior a 1/4000).

Nenhum dos 146 pacientes que receberam a medicação apresentou reação adversa importante durante ou após o ciclo de tratamento com GM1.

## DISCUSSÃO

Apenas 2,7% dos pacientes analisados neste estudo apresentaram sorologia positiva para anticorpos anti-gangliosídeos (asialo-GM1) precedendo o tratamento com GM1. Nenhum dos pacientes apresentou efeitos colaterais importantes durante e após a terapia com GM1.

Anticorpos anti-gangliosídeos foram relatados em indivíduos normais, sem doença neurológica prévia ou tratamento com gangliosídeos<sup>(2,6,7,10,12)</sup>. Anticorpos anti-gangliosídeos encontrados no soro de indivíduos sadios são geralmente do tipo IgM<sup>(8,9)</sup>. Titulação de anticorpos anti-GM1 (IgM) em 24 pacientes com lesão medular crônica e não tratados com GM1 mostrou média de valores significativamente maior em relação a grupo controle com 26 indivíduos sadios<sup>(5)</sup>.

Indivíduos sadios receberam injeções *i.m.* de gangliosídeos, na dose de 100 mg/dia, durante 15 dias<sup>(2)</sup>. Dos 12 indivíduos injetados, 7 não apresentaram, precedendo ou durante o tratamento, anticorpos reativos a gangliosídeos. Nos 5 indivíduos restantes, anticorpos contra gangliosídeos estavam presentes antes e persistiram no decorrer do tratamento. Em um deles, um ligeiro aumento no título de anticorpos foi observado durante o tratamento.

## MATERIAL AND METHODS

One hundred and fifty patients (120 men and 30 women) aged between 18 and 50 years were included in the study. All were diagnosed with complete medullar injury for 6 to 12 months. Prior to the 30-day treatment with GM1 ganglioside (100 mg/day *i.m.*) a blood sample was collected and submitted to the Mayo Clinic (USA) for titration of anti-ganglioside antibodies using the ELISA method.

The following reference values were adopted:

- Monosialo-GM1 IgG: less than 1/500
- Monosialo-GM1 IgM: less than 1/1000
- Asialo-GM1 IgG: less than 1/4000
- Asialo-GM1 IgM: less than 1/4000
- Disialo-GD1b IgG: less than 1/1000
- Disialo-GD1b IgM: less than 1/1000

During the therapy with GM1, patients with positive serology were monitored by periodical clinical evaluations, with a minimum one-year follow-up period.

## RESULTS

Of the 150 patients evaluated, only 4 (3 men and 1 woman) presented anti-ganglioside antibody titers greater than the reference values, with positive serology for asialo-GM1 IgM (titer greater than 1/4000).

None of the 146 patients who received the medication presented any relevant side effect during or after the treatment cycle with GM1.

## DISCUSSION

2.7% only of the patients who were analyzed in this study presented positive serology for anti-ganglioside antibodies (asialo-GM1) previous to treatment with GM1. None of the patients presented relevant side effects during or after the therapy with GM1.

Anti-ganglioside antibodies were reported in normal subjects without previous neurological condition or previous ganglioside treatment<sup>(2,6,7,10,12)</sup>. Anti-ganglioside antibodies found in the serum of healthy subjects are generally of the IgM type<sup>(8,9)</sup>. The titration of anti-GM1 (IgM) antibodies in 24 patients with chronic medullar injury who were not treated with GM1 showed significantly higher mean values as compared to the control group of 26 healthy subjects<sup>(5)</sup>.

The healthy subjects received *i.m.* injections of 100 mg/day gangliosides for 15 days<sup>(2)</sup>. Of the 12 subjects injected, 7 presented no ganglioside-responsive antibodies, before and during the treatment. In the remaining 5 subjects, anti-ganglioside antibodies were present before the treatment and persisted during its course. A slight increase in the antibody titer was observed in

Neste mesmo estudo, várias citocinas, incluindo IL1-alfa, TNF-alfa, INF-gama, IL-2 e sIL2R, foram dosadas no soro dos indivíduos tratados. Não foi observado qualquer aumento no nível dessas citocinas. Esses resultados indicam que, além dos padrões de anticorpos específicos, outros importantes mediadores do sistema imunológico não foram afetados pelo tratamento com gangliosídeos.

Níveis de anticorpos contra gangliosídeos foram monitorados em 12 pacientes com doença de Alzheimer tratados durante 90 dias com 100 mg de gangliosídeos por dia<sup>(12)</sup>. Dez pacientes apresentaram anticorpos anti-gangliosídeos antes do início do tratamento. O gangliosídeo mais freqüentemente detectado foi o LM1. Esses títulos flutuaram durante o período de administração dos gangliosídeos; no final do estudo, no entanto, os títulos dos anticorpos estavam diminuídos. Em outro estudo, anticorpos contra GM1 foram dosados em 418 amostras de pessoas recebendo gangliosídeos parenterais<sup>(14)</sup>. Não foi relatada qualquer associação do tratamento com os níveis de anticorpos.

Níveis de anticorpos anti-GM1 foram monitorados em 60 pacientes chagásicos antes e durante tratamento com gangliosídeos durante período de 12 meses<sup>(6)</sup>. Nenhum dos pacientes apresentou títulos positivos de anticorpos anti-GM1 em condições basais e não foi observada alteração significativa nesses títulos após o tratamento com gangliosídeos.

Anticorpos anti-GM1 foram avaliados em 10 pacientes com doença de Parkinson antes e após tratamento por 18 semanas com gangliosídeo GM1 na dose de ataque de 1000 mg *i.v.* seguida por 200 mg por dia *s.c.* Nenhum dos pacientes apresentou elevação dos títulos de anticorpos anti-GM1 ao final do tratamento<sup>(11)</sup>.

Em conclusão, o tratamento de pacientes lesados medulares crônicos com o gangliosídeo GM1 mostrou-se seguro, no paciente sem positividade sorológica para anticorpos anti-GM1 precedendo a terapia.

*one patient during the treatment. In the same study, several cytokines, including IL1 alpha, TNF-alpha, INF-gamma, IL-2 and sIL2R cytokines, were evaluated in the serum of the treated patients. No increase was observed in the level of these cytokines. These results indicate that, other than the specific antibody patterns, other important mediators of the immune system were not affected by the treatment with gangliosides.*

*Anti-ganglioside antibody levels were monitored in 12 patients with Alzheimer's disease who received daily doses of 100 mg gangliosides during a 90-day period<sup>(12)</sup>. Ten patients presented anti-ganglioside antibodies before the beginning of the treatment. The most frequently detected ganglioside was LM1. These antibody titers oscillated during the ganglioside administration period, although they were reduced at the end of the study. In another study, anti-GM1 antibodies were evaluated in 418 samples of individuals receiving parenteral gangliosides<sup>(14)</sup>. No association between the treatment and antibody levels was reported.*

*Anti-GM1 antibody levels were monitored in 60 patients with Chaga's disease, both before and during the treatment with gangliosides for a 12-month period<sup>(6)</sup>. None of the patients presented positive titers for anti-GM1 antibodies in the baseline, and no significant change was observed in those titers following the treatment with gangliosides.*

*Anti-GM1 antibodies were evaluated in 10 patients with Parkinson's disease before and after an 18-week treatment with one *i.v.* bolus dose of 1000 mg GM1 ganglioside followed by daily doses of 200 mg *s.c.* None of the patients presented higher anti-GM1 antibody titers at the end of the treatment<sup>(11)</sup>.*

*In conclusion, the treatment of patients with chronic medullar injuries with GM1 ganglioside showed to be safe in patients without positive serology for anti-GM1 antibodies previous to the therapy.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barros Filho TEP, Silva CF, Oliveira RP, Rodrigues NR, Galvão PE. Effect of ganglioside (GM1) administration in acute spinal cord injury, ISN/ASN – *Sphingolipid Satellite Meeting*, v.27, 2001.
2. Gallo P, Piccino MG, Tavolato B et al. Effect of parenteral administration of GM1 on cytokines and anti-ganglioside patterns. Preliminary report on normal human individuals. *J Neuroimmunol* 36:81-86, 1992.
3. Geisler FH, Dorsey FC, Coleman WP. Recovery of motor function after spinal cord injury: a randomized, placebo-controlled trial with GM-1 ganglioside. *N Engl J Med* 324:1829-1838, 1991.
4. Geisler FH, Coleman WP, Grieco G, Ponian D. The Sygenâ multicenter spinal cord injury study. *Spine* 26(Suppl.):87-98, 2001.
5. Hayes KC, Hull TC, Delaney GA, Potter PJ, Sequeira KA, Campbell K, Popovich PG. Elevated serum titers of proinflammatory cytokines and CNS autoantibodies in patients with chronic spinal cord injury. *J Neurotrauma* 19:753-761, 2002.
6. Mitelman J, Gimenez L, Aparicio NJ, Cortelezzi M. Long-term treatment of chronic chagasic cardiomyopathy with a mixture of gangliosides: effect on evolution of circulating antiGM1 antibodies. *J Cardiol* 34:189-197, 1999.
7. Mizutamari RK, Wiegandt H, Nores GA. Characterization of anti-ganglioside antibodies present in normal human plasma. *J Neuroimmunol* 50:215-220, 1994.
8. Mouthon L, Nobrega A, Nicolas S, et al. Invariance and restriction toward a limited set of self-antigens characterize neonatal IgM antibody repertoires and prevail in autoreactive repertoires of healthy adults. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:3839-3843, 1995.
9. Ravindranath MH, Gonzales AM, Nishimoto K, Tam WY, Soh D, Morton DL. Immunology of gangliosides. *Indian J Exp Biol* 38:301-312, 2000.
10. Sadiq SA, Thomas FP, Kilidireas K et al. The spectrum of neurologic disease associated with anti-GM1 antibodies. *Neurology* 40:1067-1072, 1990.
11. Schneider JS, Roeltgen DP, Rothblat DS, Chapas-Crilly J, Seraydarian L, Rao J. GM1 ganglioside treatment of Parkinson's disease: an open pilot study of safety. *Neurology* 45:1149-1154, 1995.
12. Svennerholm L, Fredman P. Antibody detection in Guillain-Barre Syndrome. *Ann Neurol* 27(Suppl.):36-40, 1990.
13. Walker JB, Harris M. GM-1 ganglioside administration combined with physical therapy restores ambulation in humans with chronic spinal cord injury. *Neurosci Lett* 61:174-178, 1993.
14. Yu RK, Saito M, Zhang Y, Fiorentini R, Khin-Maung-Gyi F, Friday GH. Analysis of serum anti-GM1 antibody in patients receiving GM1 therapy. *Soc Neurosci Absts* 18: 620.4, 1992.