

Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina de 2011 – Muito além de perguntas para as respostas imunológicas

José Artur Bogo Chies¹

É comum definir o “Sistema Imunológico” como sendo o conjunto de células e mecanismos responsáveis pela diferenciação entre componentes próprios vs. Não próprios e pela defesa de nosso organismo contra patógenos. Apesar desta visão ser geralmente aceita, ela nos conta apenas uma parte da história. Composto o organismo de um único ser humano encontramos em torno de 10^{13} células humanas às quais somam-se aproximadamente 10^{14} células de bactérias, fungos e protozoários de milhares de espécies distintas. Essa situação leva ao estranho paradoxo que determina nosso organismo como contendo dez vezes mais células não humanas do que o total de células humanas. Assim, pode-se considerar um ser humano como um complexo ecossistema, onde interações entre os diferentes componentes são essenciais para o bom funcionamento do mesmo e onde o limite entre próprio/não próprio é bastante tênue. Além disso, nossas células não são idênticas, cada tipo celular humano caracteriza-se não apenas por morfologia e função específicas, mas também pela presença de antígenos distintos em sua superfície. Como pode então nosso organismo decidir entre tolerância e resposta imunológica?

Essa questão tem norteado os estudos da área da imunologia e cada nova descoberta acrescenta uma nova peça ao complexo quebra-cabeça do sistema imunológico. O Prêmio Nobel de Medicina de 2011 destacou o trabalho de três cientistas dedicados à compreensão do funcionamento do sistema imunológico: Jules Hoffmann, Bruce Beutler e Ralph Steinman. Jules Hoffmann chefiou um laboratório de pesquisa, a partir de 1978, em Estrasburgo, na França, onde inicialmente havia realizado seus estudos de doutoramento. Bruce Beutler é professor de genética e imunologia no Instituto de Pesquisa Scripps, em La Jolla, na Califórnia, e Ralph Steinman trabalhava na Universidade Rockefeller, em Nova Iorque, tendo falecido poucos dias antes do anúncio do prêmio.

O trabalho de Jules Hoffmann envolveu a análise da defesa antimicrobiana na mosca-das-frutas, *Drosophila melanogaster*, e culminou com a descrição do papel imunológico dos genes *Toll*. Um trabalho extremamente importante, em que o grupo de Hoffmann caracteriza o papel crítico da via de sinalização Toll na resposta imunológica, foi publicado em 1996 na revista *Cell* (1). Neste trabalho os autores salientam as similaridades funcionais e estruturais existentes entre a cascata de ativação de NF-kappaB induzida por citocinas em mamíferos e a ativação do desenvolvimento da polaridade dorsoventral embrionária em *Drosophila*, demonstrando que os paralelos estabelecidos entre as moléculas componentes destas duas cascatas (ou seja, Toll/IL-1, Cactus/I-kappaB e dorsal/NF-kappaB) se aplicavam também à resposta imune de drosófila. Especificamente, este trabalho mostrou que mutações na via de sinalização Toll levam a uma redução dramática na capacidade de sobrevivência desses mutantes deficientes em Toll em resposta a infecções fúngicas.

O trabalho de Bruce Beutler apresenta enfoque semelhante, ou seja, a caracterização de moléculas que reconhecem microrganismos invasores e ativam o sistema de defesa. Especificamente, o trabalho publicado pelo grupo de Beutler em 1998 na revista *Science* (2) e tinha como objetivo compreender a capacidade de diferentes linhagens de camundongos em montar respostas imunológicas contra o lipopolissacarídeo (LPS), componente principal e extremamente imunogênico da parede celular de bactérias Gram-negativas. Neste trabalho os autores mostraram que camundongos de duas linhagens deficientes na sinalização por LPS (as linhagens C3H/HeJ e C57BL/10ScCr) apresentavam mutações no gene *Tlr4*. O gene *Tlr4* pertence à classe dos *Toll-like receptors* (TLRs), assim denominada devido à similaridade com o gene *Toll*, identificado em drosófilas, em 1985, por

Revista HCPA. 2011;31(4):399-401

¹Laboratório Imunogenética, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Contato:
José Chies
jabchies@terra.com.br
Porto Alegre, RS, Brasil

Christiane Nüsslein-Volhard (3,4). Assim, o trabalho do grupo de Beutler não apenas identificava a proteína Tlr4 de mamíferos como responsável pelo reconhecimento do LPS (as linhagens com mutações neste gene apresentavam predisposição ao desenvolvimento de sepse por bactérias Gram-negativas) como, de certa forma, corroborava os achados do grupo de Hoffmann, desta vez em mamíferos.

Estudos posteriores mostraram que os genes TLRs são conservados, desde *Caenorhabditis elegans* até mamíferos, como proteínas transmembrana. TLRs são receptores glicoproteicos integrais de membrana, do tipo I, caracterizados por domínios extracelulares contendo motivos repetidos ricos em leucina (LRR) e um domínio de sinalização citoplasmática homólogo ao do receptor de interleucina do tipo I (IL-1R), denominado domínio de homologia Toll/IL-1R (TIR). O motivo LRR é composto por 19-25 LRR em *tandem*, cada um com 24-29 aminoácidos de comprimento. Cada LRR consiste de uma folha beta pregueada e uma alfa hélice conectadas por alças. De acordo com suas sequências primárias, os TLRs podem ser divididos em várias subfamílias, as quais reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) relacionados: a subfamília composta por TLR1, TLR2 e TLR6 reconhece lipídios, enquanto que TLR3, TLR7, TLR8 e TLR9 reconhecem ácidos nucleicos. Entretanto, alguns TLRs podem reconhecer várias estruturas não relacionadas, apresentando uma grande variedade de ligantes (ver referências 5 e 6 para revisões recentes sobre os TLRs).

A expressão de TLRs não é estática, e sim modulada rapidamente em resposta a patógenos, citocinas e estresses ambientais. Além do mais, TLRs são expressos em diferentes compartimentos celulares, enquanto certos TLRs (TLR1, 2, 4, 5 e 6) são expressos na superfície das células, outros (TLR3, 7, 8 e 9) são encontrados quase que exclusivamente em compartimentos intracelulares, tais como endossomos, e seus ligantes, principalmente ácidos nucleicos, requerem internalização no endossomo antes que ocorra sinalização.

Como salientado anteriormente, TLRs ativam as mesmas moléculas de sinalização que são usadas para a sinalização do IL-1R. A estimulação de células com ligantes de TLRs recruta proteínas adaptadoras, tal como MyD88, à porção citoplasmática dos TLRs através de interações homofílicas dos seus domínios TIR. Isso resulta em uma cascata de sinalização e produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas. As células que expressam TLRs são, prioritariamente, células apresentadoras de antígeno (APCs) tais como células dendríticas e macrófagos, que fagocitam patógenos.

Cabe, neste momento, apresentar o trabalho de Ralph Steinman, que descreveu as células dendríticas. No artigo original, publicado em 1973, encontra-se a seguinte descrição para aquela que é denominada uma nova classe de células nos órgãos linfoides periféricos de camundongos:

“A novel cell type has been identified in adherent cell populations prepared from mouse peripheral lymphoid organs (spleen, lymph node, Peyer’s patch). Though present in small numbers (0.1-1.6% of the total nucleated cells) the cells have distinct morphological features. The nucleus is large, retractile, contorted in shape, and contains small nucleoli (usually two). The abundant cytoplasm is arranged in processes of varying length and width and contains many large spherical mitochondria. In the living state, the cells undergo characteristic movements, and unlike macrophages, do not appear to engage in active endocytosis. The term, dendritic cell, is proposed for this novel cell type.”(7)

Inicialmente esta descrição parece trivial, mas as consequências da compreensão da função deste novo tipo de célula revolucionaram a imunologia. As células dendríticas dos linfonodos podem ser consideradas como células especializadas na iniciação de respostas imunes adaptativas através do reconhecimento e processamento de antígenos e sua apresentação para os linfócitos T. Desta forma, as células dendríticas sinalizam e induzem a ativação dos linfócitos T, os quais identificam e destroem células infectadas por vírus ou células tumorais. Originalmente estas células foram identificadas por Steinman como estimuladoras potentes de células T virgens, e estudos posteriores demonstraram que elas são responsáveis por modular a resposta mediada por células T por meio da identificação e integração de sinais a partir de um amplo repertório de moléculas, como lipídeos, peptídeos, ácidos nucleicos e outras PAMPs (8,9). Assim, fazendo a conexão com os trabalhos de Jules Hoffmann e Bruce Beutler, entre as moléculas presentes na superfície das células dendríticas, destacam-se os receptores *toll-like*.

A importância das células dendríticas e dos receptores *toll-like*, pode ser vista em estudos sobre câncer, doenças infecciosas, doenças autoimunes, transplantes, no controle entre tolerância ou resposta imunológica, no desenvolvimento de vacinas. Em resumo, as células dendríticas são essenciais para um adequado funcionamento e controle do sistema imunológico em seus mais diversos aspectos.

Esta não é a primeira vez na história do Prêmio Nobel de Medicina que esta distinção é outorgada a cientistas que trabalham na área da imunologia. Além dos diferentes cientistas que se destacaram por estudos com agentes infecciosos, podemos salientar o cientista russo Elie Metchnikoff e o biólogo alemão Paul Ehrlich que dividiram o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1908 por descobertas e avanços em imunologia, especialmente pela teoria celular da imunidade. Elie Metchnikoff descreveu os fagócitos e Paul Ehrlich focou a ação dos anticorpos. Em 1960, foi a vez de Macfarlane Burnet e Peter

Medawar serem agraciados, respectivamente por seus estudos sobre seleção clonal e tolerância imunológica. A década de 1980 foi pródiga para os imunologistas: Baruj Benacerraf, George Snell e Jean Dausset receberam o Prêmio Nobel em 1980 por seus “estudos de estruturas geneticamente determinadas na superfície celular que regulam as reações imunológicas”; em 1984, foi a vez de Niels Jerne, Georges Köhler e César Milstein, que trabalharam sobre a especificidade do controle do sistema imune e anticorpos monoclonais e, em 1987, Susumu Tonegawa foi agraciado por desvendar o princípio genético da geração da diversidade dos anticorpos. O ano de 1996 viu o reconhecimento dos trabalhos de Peter C. Doherty e Rolf Zinkernagel, focados na especificidade de defesa imune mediada por células. Ao observarmos esta sequência de premiações, o que vemos é o sistema imunológico sendo

desvendado. O trabalho de Elie Metchnikoff com os fagócitos, por exemplo, precede por mais de cem anos o trabalho dos atuais ganhadores desta distinção, mas já apresenta o princípio básico para a compreensão dos mecanismos de captação de antígenos para apresentação às células do sistema imune. E o que podemos esperar da aplicação de todos estes conhecimentos básicos de imunologia para a clínica médica? Uma coisa é certa, ainda teremos muitas respostas para as respostas imunológicas.

(Sugestão de leitura: O endereço <http://www.nobelprize.org/> hospeda o sítio oficial do Prêmio Nobel, e nele podem ser encontradas todas as informações sobre os ganhadores desta distinção nas diferentes categorias e inclusive os vídeos, os discursos e os slides das apresentações dos laureados na cerimônia de entrega dos prêmios.)

Referências

1. Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996;86(6):973-83.
2. Poltorak A, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science*. 1998;282(5396):2085-8.
3. Anderson KV, Jürgens G, Nüsslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: genetic studies on the role of the *Toll* gene product. *Cell*. 1985;42(3):779-89.
4. Anderson KV, Bokla L, Nüsslein-Volhard C. Establishment of dorsal-ventral polarity in the *Drosophila* embryo: the induction of polarity by the *Toll* gene product. *Cell*. 1985;42(3):791-8.
5. Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity*. 2011;34(5):637-50.
6. Kumar H, Kawai T, Akira S. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int Rev Immunol*. 2011;30(1):16-34.
7. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. *J Exp Med*. 1973;137(5):1142-62.
8. Liu YJ, Kanzler H, Soumelis V, Gilliet M. Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation. *Nature Immunol*. 2001;2(7):585-9.
9. Iwasaki A, Medzhitov R. Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science*. 2010;327(5963):291-5.